

Από το acyclovir στο remdesivir και το raxlovid: η συσσωρευμένη γνώση από την ανάπτυξη προηγούμενων αντι-ϊικών φαρμάκων συνέβαλλε στην επείγουσα ανάπτυξη θεραπειών έναντι της λοίμωξης από τον SARS-CoV2.

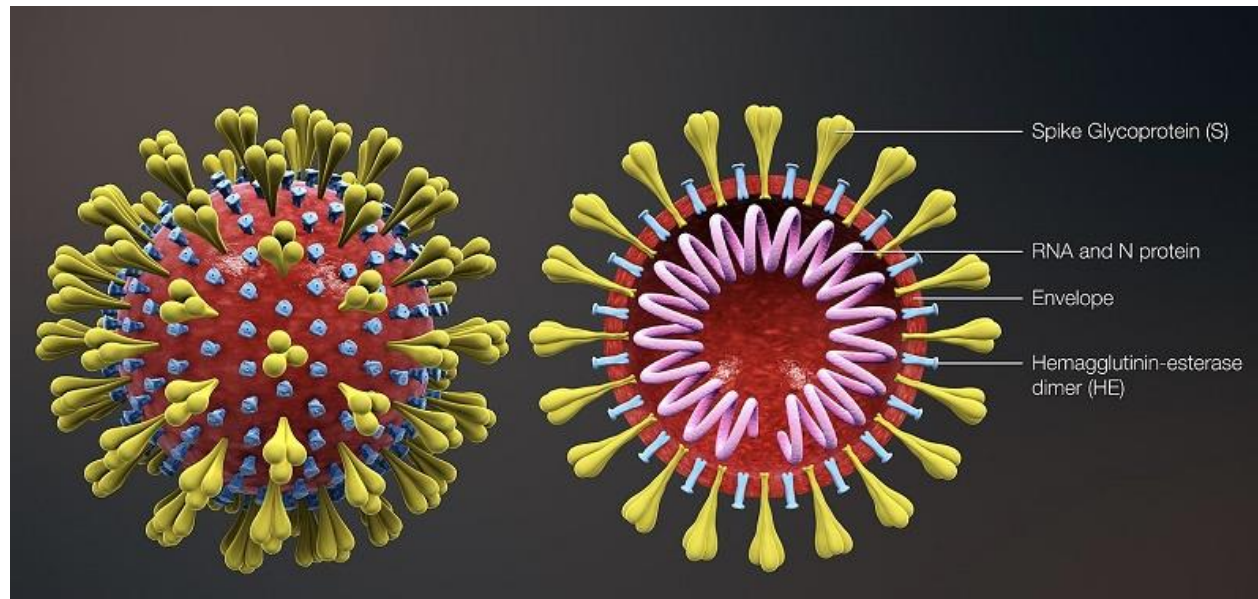
Η πρόσφατη πανδημία λόγω μόλυνσης από κορωνοϊό παρουσίασε σημαντική θνησιμότητα λόγω ανάπτυξης του συνδρόμου **Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 (SARS-CoV2)**. Ο παθογόνος ιός απομονώθηκε για πρώτη φορά στη Wuhan, (China 12/2019) και μεταδίδεται εύκολα από το αναπνευστικό.

Η ασθένεια χαρακτηρίστηκε ως η σοβαρότερη απειλή κατά της υγείας του ανθρώπου, τον τελευταίο αιώνα. Οι συνολικές σοσιοοικονομικές και γεωπολιτικές επιπτώσεις της πανδημίας δεν έχουν ακόμη εκτιμηθεί πλήρως.

Στην οικογένεια **Coronaviridae** ανήκουν τρεις ζωνοτικοί ιοί, που προσβάλουν τον άνθρωπο: ο **SARS-CoV**, ο **MERS CoV** (που προκαλεί το αναπνευστικό σύνδρομο **Middle East Respiratory Syndrome**). Και ο **SARS-CoV2**.

Αντίθετα με τους προηγούμενους δύο κορωνοϊούς που προκαλούν περιορισμένες λοιμώξεις και επανεμφανίζονται σποραδικά, ο SARS-CoV-2 είχε από την αρχή απειλητικά χαρακτηριστικά, **η πανδημία φάνηκε ότι θα διαρκέσει επί μακρόν**, ενώ ο ιός θα ενταχθεί στα συνήθη παθογόνα και θα παρασιτεί στον άνθρωπο πάντοτε (ενδημικός). Είναι επίσης πολύ πιθανή η μελλοντική εμφάνιση επόμενου παθογόνου ιού **της ίδιας οικογένειας που θα προκύψει από τις δεξαμενές των άγριων ζώων.**





Η ανάπτυξη εμβολίων και φαρμάκων θεωρήθηκε εξ αρχής πολύ σημαντική. Υπήρχε προηγούμενη εμπειρία με άλλους ιούς και δόθηκε προτεραιότητα αρχικά στη κατανόηση της μορφολογίας και του κύκλου ζωής του ιού, ώστε να εντοπισθούν οι βιολογικοί στόχοι. Scientists Η παγκόσμια επιστημονική κοινότητα εργάσθηκε εντατικά προς αυτή τη κατεύθυνση.

Οι κορωνοιοι διαθέτουν **φάκελο και είναι (+)RNA ιοί**. Ο SARS-CoV-2 είναι **beta coronavirus**, με μεγάλο γενετικό υλικό της τάξης των **30,000 νουκλεοτιδίων**, που κωδικοποιούν **29 ικές πρωτεΐνες** που κατατάσσονται σε 3 κατηγορίες:

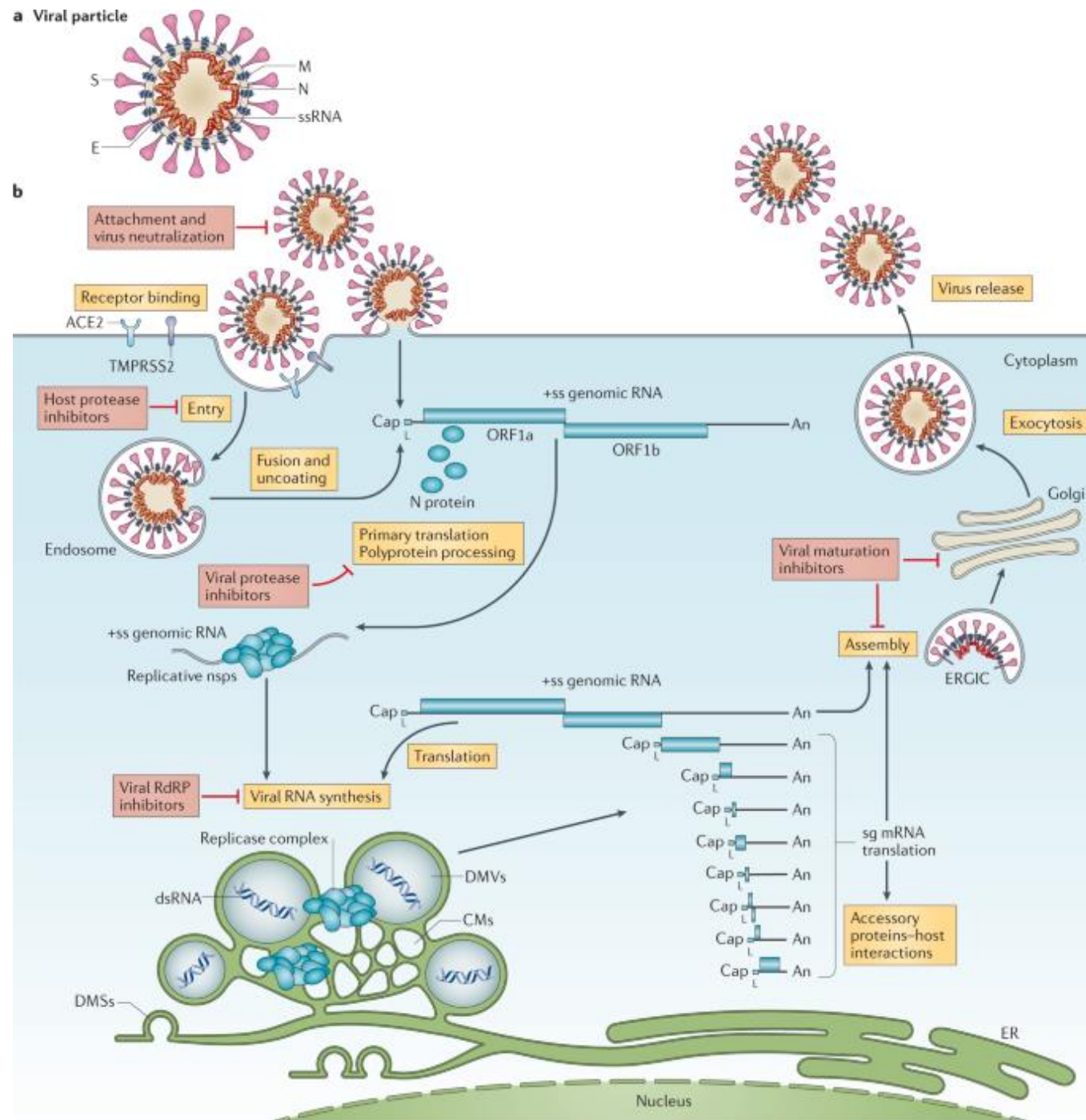
- **δομικές πρωτεΐνες** συστατικά της κάψας
- **μη-δομικές πρωτεΐνες (non structural proteins, NSPs)**, που σχετίζονται με την ιική αναπαραγωγή
- **βοηθητικές πρωτεΐνες**, που παίζουν ρόλο για την διαφυγή από, ή για την αντιμετώπιση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή.

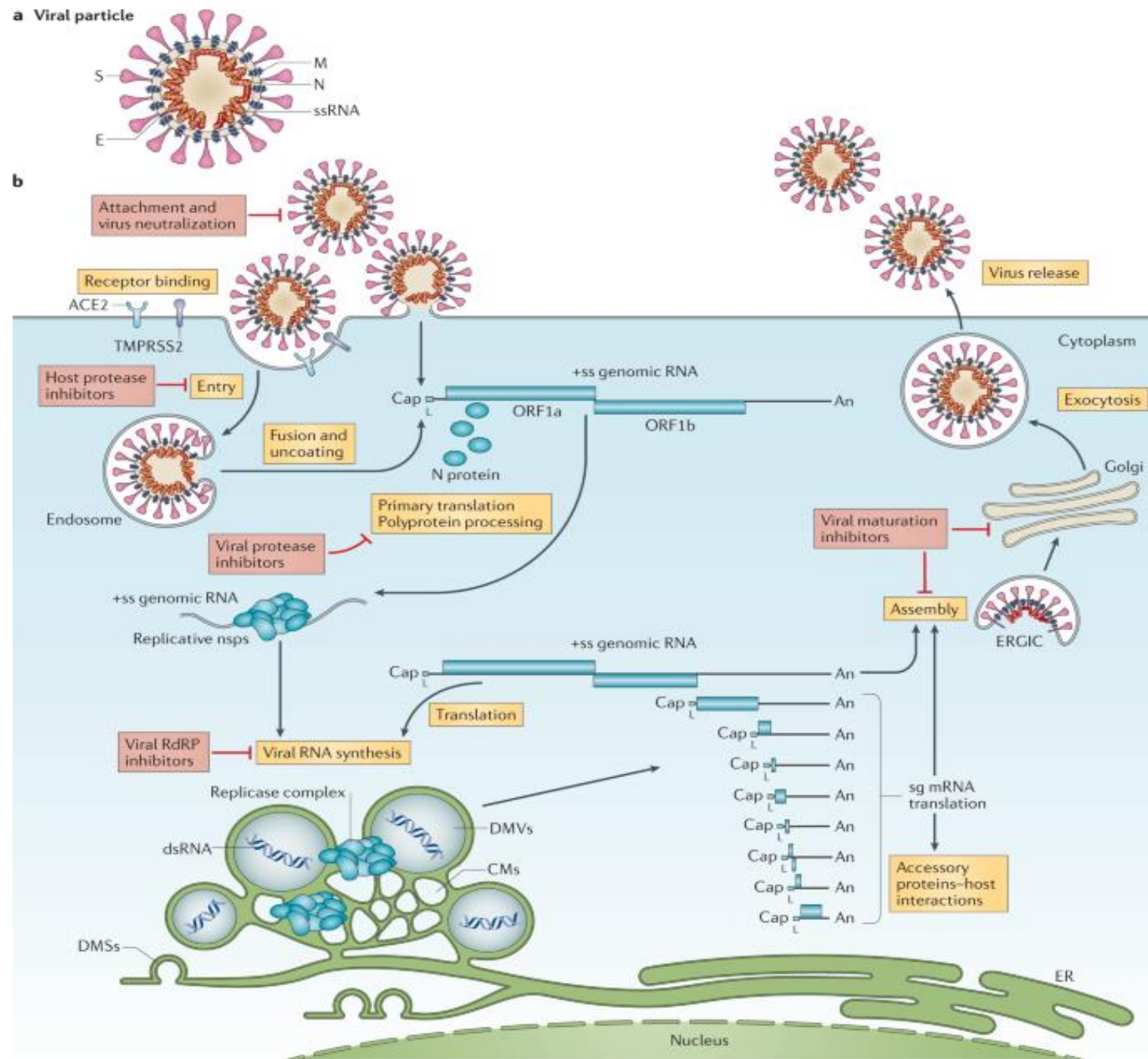
Κύκλος ζωής του ιού

Η προσβολή του κυττάρου ξεκινά με την **είσοδο του ιού SARS-CoV-2** που ενεργοποιείται από την αλληλεπίδραση της **γλυκοπρωτεΐνης spike (S)** με τον **υποδοχέα ACE2** του ξενιστή, ακολουθούμενη από πρωτεόλυση της S πρωτεΐνης από την **TMPRSS2** (transmembrane serine protease 2) πρωτεΐνη του ξενιστή.

Απέκδυση (Uncoating): Το ενδόσωμα που περιέχει το ιικό σωματίο συντήκεται με λυσόσωμα. Το όξινο pH επάγει τη σύντηξη των μεμβρανών, ενδοσώματος και ιικού φακέλου, οπότε η ιική κάψα ελευθερώνεται μέσα στο κυτταρόπλασμα. Πρωτεάσες του ξενιστή διασπούν τη κάψα και απεκδύεται το ιικό ss+RNA, που μεταφράζεται στα ριβοσώματα του κυττάρου.

Το κύριο ORF (open reading frame) 1a/b **μεταφράζεται σε δύο πολυπρωτεΐνες** (pp1a και pp1b) που θα δώσουν συνολικά 16 λειτουργικές (nonstructural) πρωτεΐνες. Τα υπόλοιπα ORFs κωδικοποιούν δομικές και βοηθητικές πρωτεΐνες.



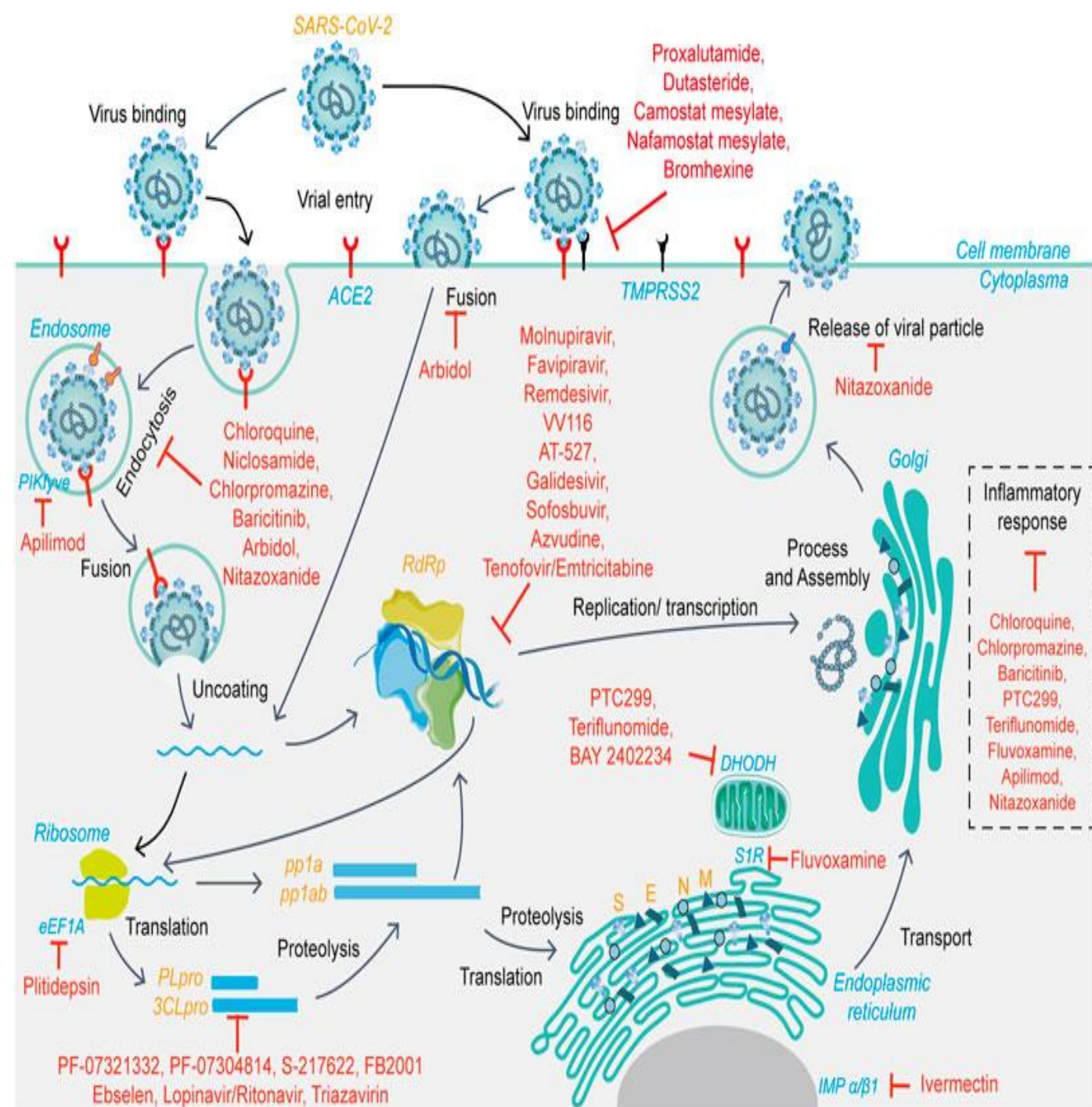


Οι πολυπρωτεΐνες διασπώνται προς λειτουργικές και δομικές ιικές πρωτεΐνες με την επίδραση ιικών πρωτεασών.

Το συμπληρωματικό του ιικού +RNA, -RNA χρησιμεύει ως μήτρα για την αναπαραγωγή αντιγράφων του ιικού γονιδιώματος. Στο ενδοπλασματικό δίκτυο τα ιικά επί μέρους συστατικά ομαδοποιούνται για τη σύσταση των νέων καψών, ενώ τμήματα του ενδοπλασματικού δικτύου θα χρησιμεύσουν για τη δημιουργία των νέων ιικών φακέλλων.

Τα νέα ιικά σωματίδια μετακινούνται προς το εσωτερικό της κυτταρικής επιφάνειας και μετά από μια τελική διαδικασία ωρίμανσης, στην οποία συμμετέχουν και οι ιικές πρωτεάσες, απελευθερώνονται με εξωκυττάρωση και είναι ικανά να μολύνουν ένα νέο κύτταρο του ξενιστή.

Nature Rev Microbiol 19, 155-170 (2021)



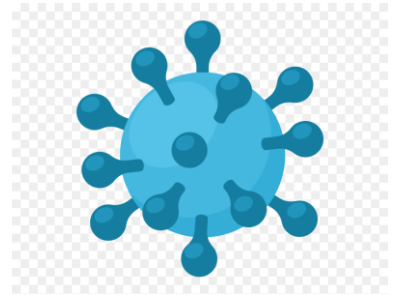
Όλα τα ένζυμα και οι πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην αναπαραγωγή του SARS-CoV-2 και στον έλεγχο του κυτταρικού μεταβολισμού αποτελούν εν δυνάμει πιθανούς στόχους για την ανάπτυξη φαρμάκων (druggable targets).

Προτεραιότητα δίνεται σε πρωτεΐνες αντίστοιχες ιικών πρωτεϊνών που έχουν αποτελέσει ήδη αποτελεσματικούς θεραπευτικούς στόχους έναντι άλλων ιών.

Με κόκκινο χρώμα σημειώνονται ενδεικτικά στο σχήμα παράγωγα που ελέγχονται ως αναστολείς διαφόρων βημάτων του κύκλου ζωής του SARS-CoV-2.

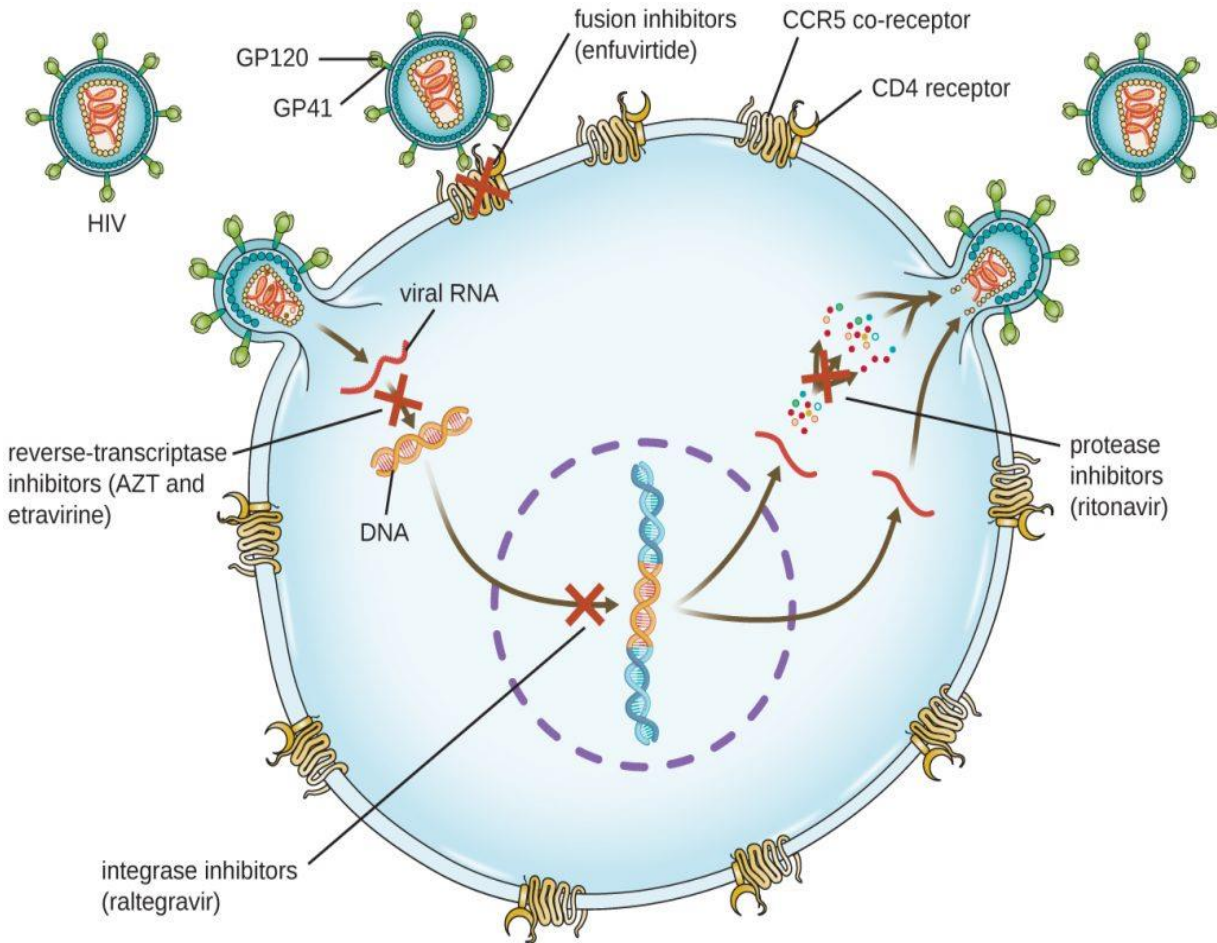
Οι εντατική ερευνητική προσπάθεια κατά τη διάρκεια της πανδημίας είχε ως αποτέλεσμα μεγάλη συγκέντρωση πληροφοριών που μπορούν να αξιοποιηθούν για την ανάπτυξη αντιικών φαρμάκων.

Στη διαδικασία ανάπτυξης λαμβάνονται υπόψη ορισμένες βασικές αρχές, όπως:



- Τα αντιικά παράγωγα πρέπει να έχουν **ευρύ φάσμα δραστηριότητας**, έναντι διαφόρων κορωνοϊών σε *in vitro* και *in vivo* μοντέλλα.
- Η βιοδιαθεσιμότητα ελέγχεται, ανάλογα με την οδό χορήγησης: από το στόμα, ενδοφλέβια, με εισπνοή, με ρινικό spray, κλπ.
- Οι τοξικές παρενέργειες πρέπει να είναι εξαιρετικά περιορισμένες, ή να μην υπάρχουν, ώστε να υφίσταται λογικό θεραπευτικό εύρος. Η αγωγή μπορεί να είναι και προφυλακτική.
- **Οι συνδυασμοί φαρμάκων είναι προτιμητέοι** ώστε να μεγιστοποιείται η αποτελεσματικότητα και να προλαμβάνεται κατά το δυνατόν η ανάπτυξη αντοχής.
- Combinations of antivirals and immunomodulatory therapies will be needed for treatment in later stages of illness
- Vulnerable populations should be considered when designing new therapeutics as well as designing clinical trials.

Περισσότερα από 90 αντιικά φάρμακα έχουν πάρει με'χρι σήμερα άδεια κυκλοφορίας για την αντιμετώπιση οξείας ή χρόνιας ιικής λοίμωξης.

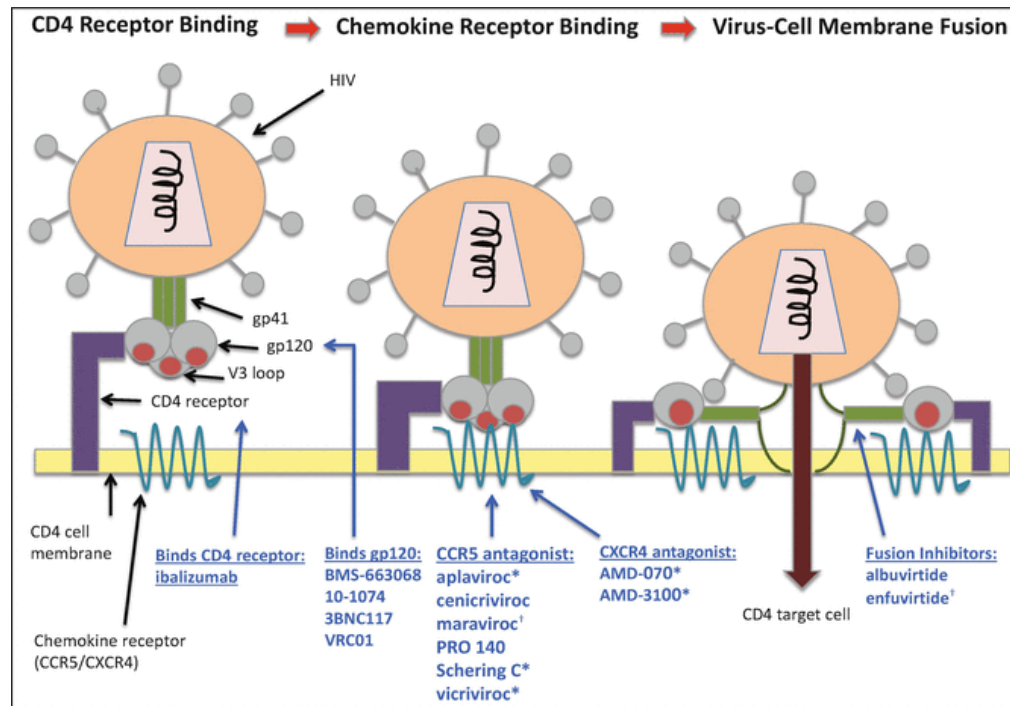


Η ανάπτυξη αποτελεσματικής αντι-ιικής θεραπείας άρχισε στη δεκαετία 1960-1970. Σε εντιστοιχία με άλλες κατηγορίες φαρμάκων τα αρχικά βήματα ήταν κυρίως εμπειρικά. Κατά τη διάρκεια 1980-2000 σημειώθηκε ραγδαία πρόοδος, λόγω της προσπάθειας για την αντιμετώπιση του HIV ίνκαι δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση σε πιο ορθολογικές προσεγγίσεις, όπως **target-based drug discovery** και **rational drug design**. Αργότερα, ανάλογες τεχνικές εφαρμόσθηκαν εκ νέου ή αναθεωρήθηκαν/επικαιροποιήθηκαν, κατά την ανάπτυξη φαρμάκων έναντι του ιού της ηπατίτιδας (HCV).

Η επιτυχία της ART (antiretroviral therapy) έναντι του HIV υπογράμμισε τη **σημασία της χορήγησης συνδυαστικών χημειοθεραπευτικών σχημάτων (combination therapy)**.

Η κυριότερη κατηγορία εγκεκριμένων αντιικών φαρμάκων αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό του γενετικού υλικού – είναι **αναστολείς ιικών πολυμερασών**. Οι υπόλοιποι στόχοι φαρμάκων διαφέρουν ανάλογα με τον ιό, οπότε τα φάρμακα δεν είναι ευρείας εφαρμογής. Οι μεγαλύτερες διαφορές εντοπίζονται στα παράγωγα που στοχεύουν την αναστολή **της εισόδου των διαφόρων ιών** στα κύτταρα, γιατί χρησιμοποιούνται από τους ιούς διαφορετικοί, ή και πολλαπλοί μηχανισμοί.

Σε μια προσπάθεια εύρεσης πιο αντισυμβατικής θεραπείας για τον HIV, στα πλαίσια της μελέτης των θεραπευθέντων ασθενών (οι περιπτώσεις “Berlin” και “London” HIV patients), αναπτύχθηκαν οι **αναστολείς CCR5**, που αποτελούν παράδειγμα αποτελεσματικού φαρμάκου που **στοχεύει επί του ξενιστή** - πρόκληση για την αντιική θεραπεία γιατί δεν οδηγεί εύκολα σε αντοχή.

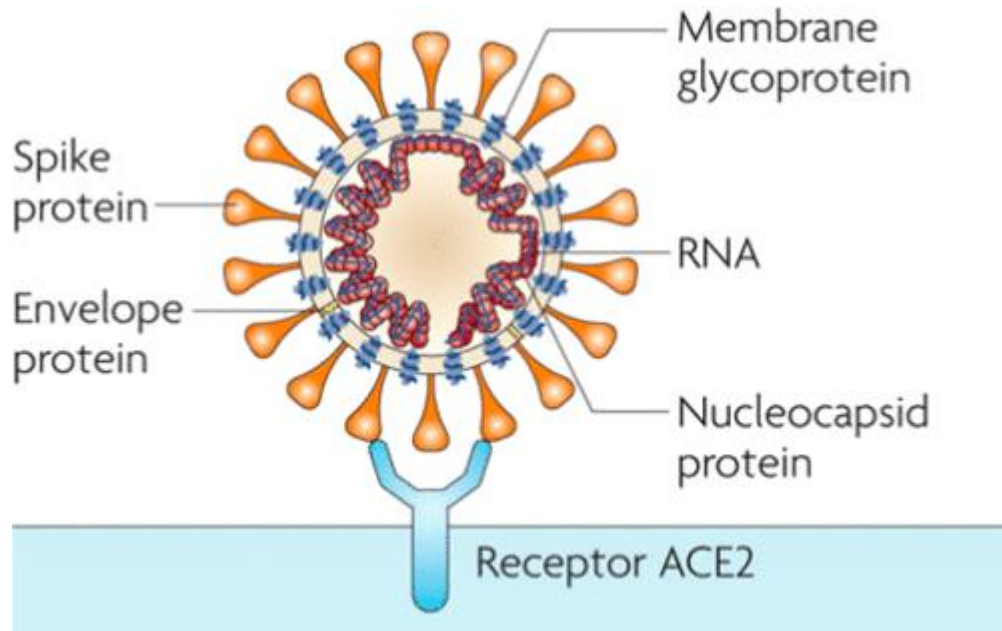


Αν και ο φάκελος του HIV παρουσιάζει υψηλή μεταβλητότητα, **τα στοιχεία που αλληλεπιδρούν με τη κυτταρική μεμβράνη διατηρούνται** και αποτελούν ελκυστικούς φαρμακευτικούς στόχους, καθώς είναι **εύκολα προσβάσιμα**, χωρίς να απαιτείται διαπέραση της κυτταρικής μεμβράνης.

Οι γλυκοπρωτεΐνες gp 120 και gp 41 του φακέλου του HIV αναγνωρίζουν τον υποδοχέα CD4, αλλά για να εισέλθει ο ιός στα κύτταρα του ξενιστή παίζουν σημαντικό ρόλο συν-υποδοχέα οι υποδοχείς κυττοκινών, CCR5 ή CXCR4.

Είναι εφικτή η ανάπτυξη φαρμάκων που θα εμποδίσουν την είσοδο του SARS CoV 2 στα κύτταρα?

Αναστολείς εισόδου με δράση επί της S πρωτεΐνης

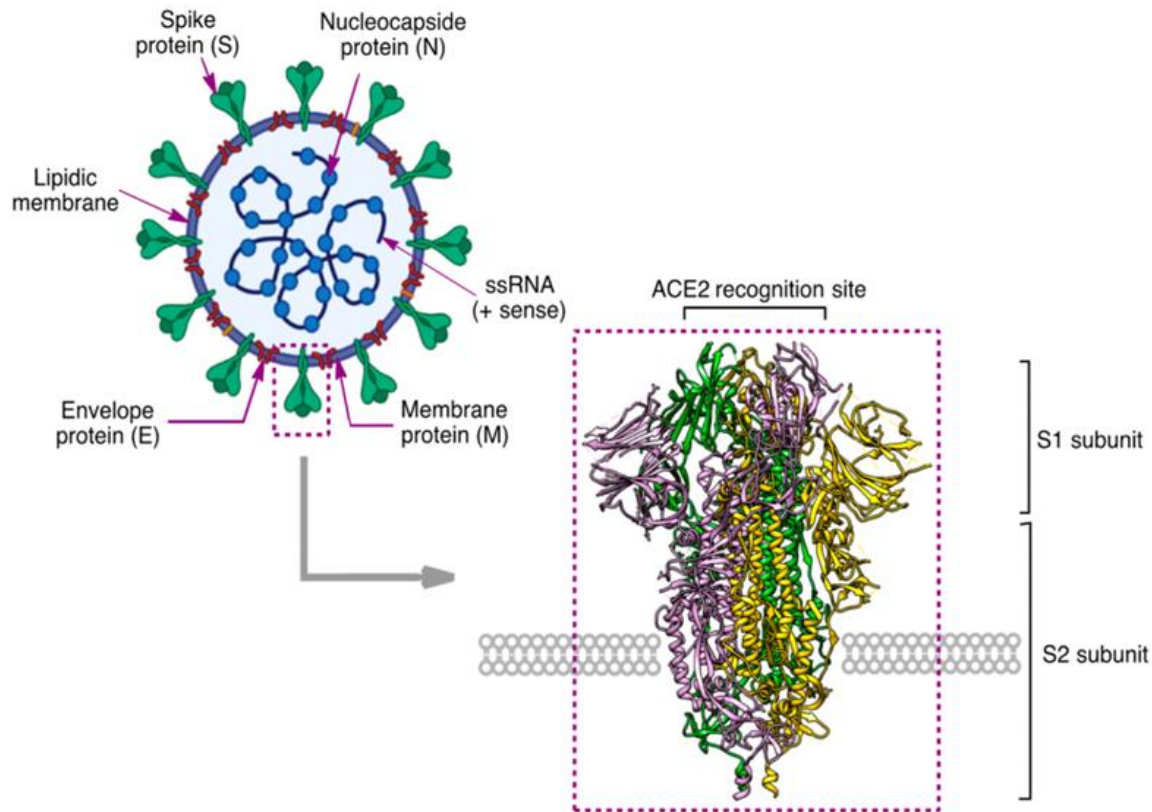


Ο ιός διαθέτει μόνο 5 δομικές πρωτεΐνες:

- Την πρωτεΐνη του φακέλου **E (envelope)**.
- Την γλυκοπρωτεΐνη μεμβράνης **M (membrane)** που σχηματίζει ένα υπόστρωμα – συνδετικό υλικό, μεταξύ του καλύμματος και των εσωτερικών στοιχείων του ιού.
- Την φωσφοπρωτεΐνη **N (nucleocapsid)** που συνδέεται με το RNA και προστατεύει το ιικό γονιδίωμα.
- Την γλυκοπρωτεΐνη **S (spike)** που εκτείνεται προς το εξωτερικό του ιού σωματίου, ως τριμερές χαρακτηριστικού σχήματος, εκ του οποίου εκπορεύεται και το όνομα ‘κορωνοϊός’.

Αναστολείς εισόδου με δράση επί της S πρωτεΐνης

Η είσοδος του SARS CoV 2 στο κύτταρο του ξενιστή μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους. Ο κυριότερος αφορά τη δέσμευση της S πρωτεΐνης του ιικού σωματίου στον υποδοχέα **ACE2 (Angiotensin-Converting Enzyme 2)** που σηματοδοτεί την έναρξη της μόλυνσης του κυττάρου.

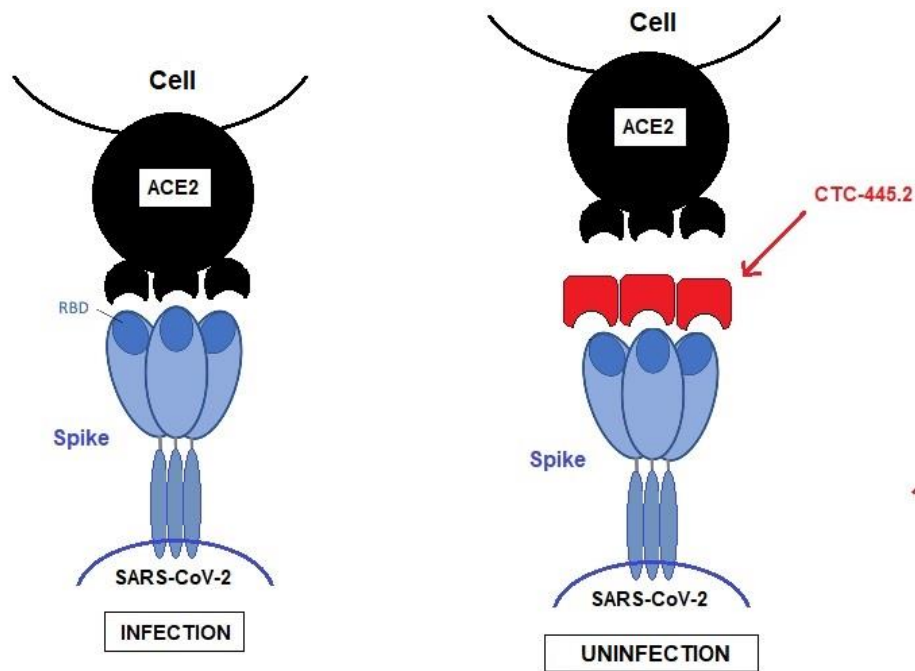


Η ομοτριμερής S πρωτεΐνη αναγνωρίζει και δεσμεύεται στον κυτταρικό υποδοχέα **ACE2**:

Σε κάθε μονομερές της S διακρίνονται οι εξής περιοχές:

- Η αμινοτελική περιοχή (**signal peptide** AA 1–13).
- Η εκτεθειμένη υπομονάδα **S1** (AA 14–685), που δεσμεύεται στον υποδοχέα ACE.
- Η λιγότερο εκτεθειμένη υπομονάδα **S2 (fusion domain** AA 686–1273), σημαντική για τη διαδικασία σύντηξης των μεμβρανών.

Η δέσμευση τμήματος της **S1 (receptor-binding domain, RBD)** στον υποδοχέα ACE2 προκαλεί αλλαγή διαμόρφωσης της πρωτεΐνης, από τη κλειστή προς την ανοιχτή μορφή: έτσι ισχυροποιείται η σύνδεση, ενώ παράλληλα εκτίθεται περισσότερο η S2 και αρχίζει την σύντηξη.



Πεπτιδικοί αναστολείς του υποδοχέα ACE2

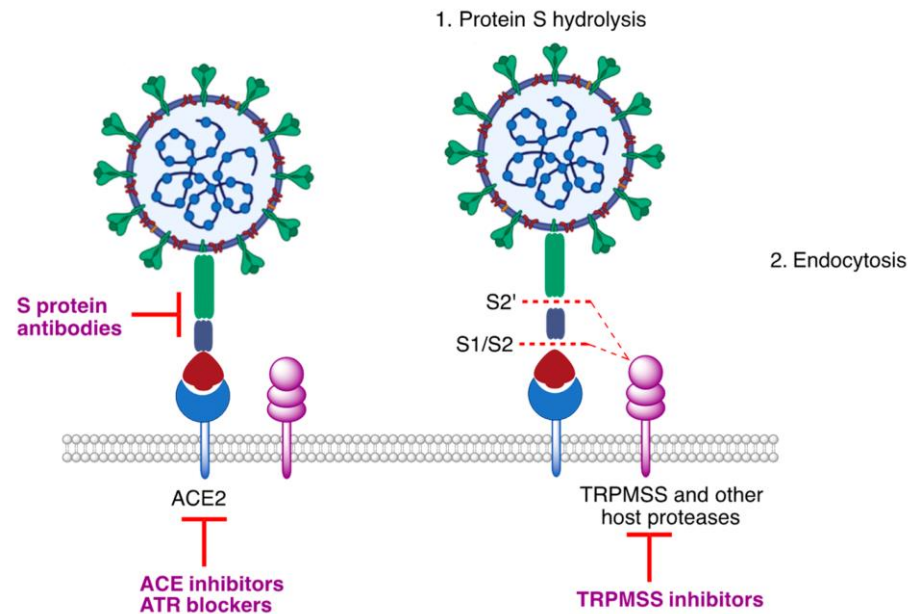
Φάρμακα-αναστολείς του ACE2 όπως το αντιϋπερτασικό Losartan χορηγήθηκαν σε ασθενείς στην αρχική φάση της πανδημίας, χωρίς να βελτιώσουν την κλινική εικόνα.

Σχεδιάσθηκαν ακολούθως πεπτίδια που μιμούνται μια διαλυτή μορφή του ACE2 τα οποία παρεμποδίζουν πράγματι τη δέσμευση της S στον υποδοχέα ACE2. Τα παράγωγα αυτά έδειξαν πολύ ισχυρή αντι-ικική δράση έναντι του SARS-CoV-2 σε κυτταρική καλλιέργεια και ακολούθως φάνηκε ότι μειώνουν το ιικό φορτίο *in vivo*.

SCIENCE (2020) Vol 370, Issue 652, 1208-1214

Με τη χρήση κατάλληλων λογισμικών επιλέχθηκαν 196 από 35 000 μόρια που δοκιμάσθηκαν, ως καταλληλότερα για αλληλεπίδραση με το RBD της S πρωτεΐνης. **Ισχυρή αλληλεπίδραση είναι αναγκαία, μεταξύ άλλων και για την αποφυγή μεταλλάξεων.** Κατέληξαν στο πεπτίδιο **CTC-445** με υποσχόμενη δράση, που βελτιώθηκε στη διμερή και τριμερή μορφή του. Το διμερές **CTC-445.2d** (low nanomolar affinity στον ACE2) είναι **σταθερό και κατάλληλο για χορήγηση με εισπνεόμενη μορφή**. Η δέσμευση του στον υποδοχέα είναι πολύ ισχυρή και ειδική - δεν δεσμεύεται σε **21.000** ανθρώπινες πρωτεΐνες που δοκιμάσθηκαν. Παραμένει ισχυρή ακόμη και μετά την εισαγωγή 1700 επιλεγμένων μεταλλάξεων. Διαπιστώθηκε *in vitro* συνέργεια με το Remdesivir.

Ενδορινική χορήγηση προφυλακτικής δοσολογίας του CTC-445.2d προστάτευσε πειραματόζωα, από μόλυνση με SARS-CoV-2.



Η είσοδος του ιού στο όξινο περιβάλλον του ενδοσωμάτιου πυροδοτεί πρωτεολυτική σχάση και ενεργοποίηση της **S πρωτεΐνης** από κυτταρικές πρωτεάσες, για να διευκολυνθεί η διαδικασία σύντηξης.

Η **S** πρωτεΐνη διαθέτει δυο πολυβασικές θέσεις σχάσης, που αναγνωρίζονται από τη **furin** και την **TMPRSS2 (transmembrane protease serine 2)** πρωτεΐνη:

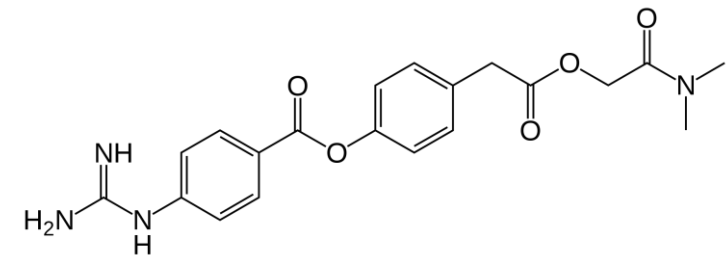
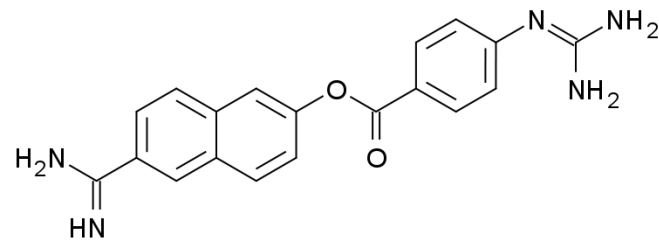
- Στο σημείο σύνδεσης των υπομονάδων S1/S2
- Σε συγκεκριμένη θέση της S2, που αναφέρεται ως S2'

Επιπλέον πρωτεολυτική διάσπαση που επίσης διευκολύνει τη διαδικασία εισόδου, καταλύεται από ενδοσωμικές /λυσosomalικές πρωτεάσες κυστεΐνης, όπως οι cathepsin B και L.

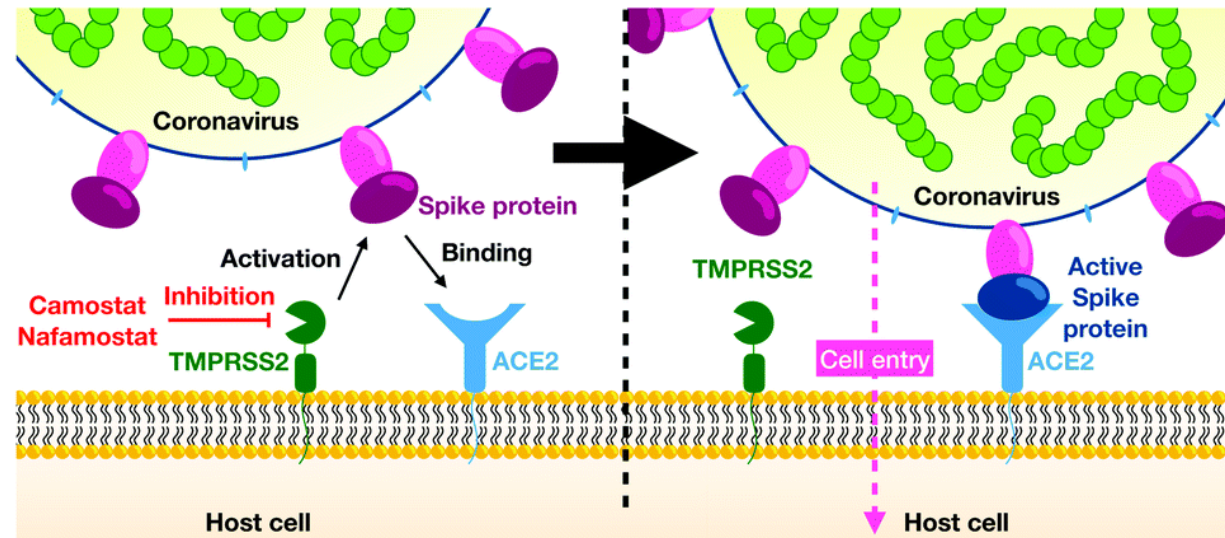
Οι κυτταρικές πρωτεάσες αποτελούν ελκυστικό φαρμακευτικό στόχο, επειδή δύσκολα μεταλλάσσονται.

Η **TMPRSS2** – ένζυμο του ξενιστή που συμβάλλει στην ιική παθογένεση αποτελεί ήδη στόχο φαρμάκων. Δύο αναστολείς της, τα **camostat** και **nafamostat** έχουν λάβει έγκριση στην Ιαπωνία για τη θεραπεία παγκρεατίτιδας (η δράση των πρωτεασών σερίνης σχετίζεται με τον ταχύ πολλαπλασιασμό επιθετικών μορφών καρκίνου και με την ικανότητα μετάστασης).

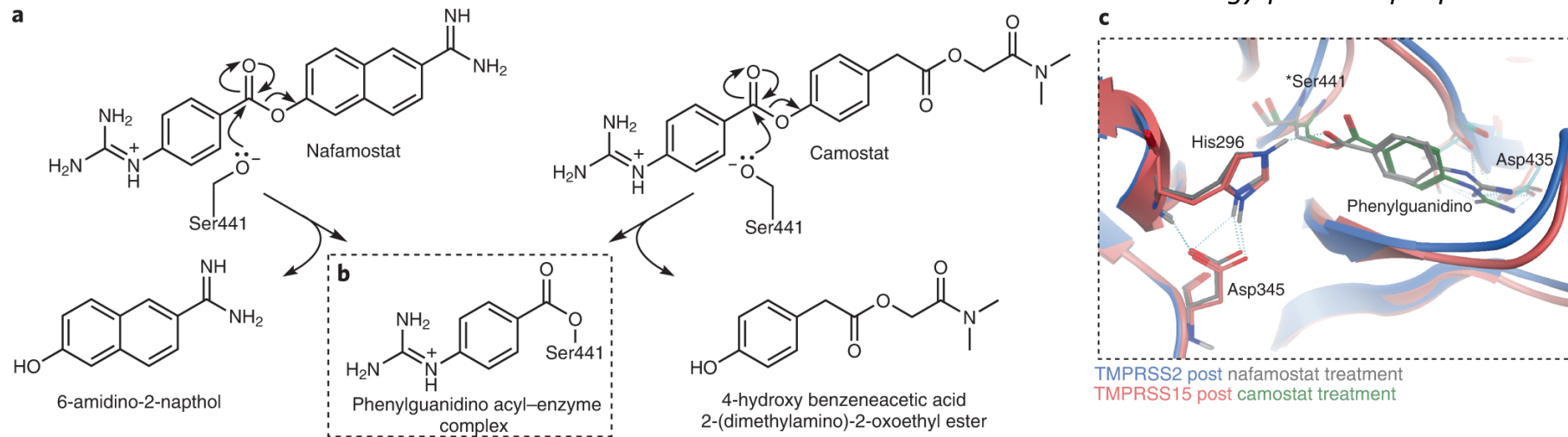
Τα φάρμακα αυτά έδειξαν αντι-ϊική δράση έναντι κορονοϊών σε κυτταρική καλλιέργεια. Το **nafamostat** είναι δραστικότερο του **camostat** και αναστέλλει ισχυρά την **TMPRSS2**. Όμως είναι πολύ ασταθές *in vivo* ($t_{1/2}$ 8 min.), κατάλληλο μόνο για **ενδοφλέβια χορήγηση**. Επίσης, δεν είναι πολύ εκλεκτικό, αφού αναστέλλει κ.α. πρωτεάσες σερίνης, όπως τους παράγοντες πήξης του αίματος Fxa, FXIIa και πλασμίνη, εγείροντας ανησυχία για τοξικές παρενέργειες.



nafamostat



camostat



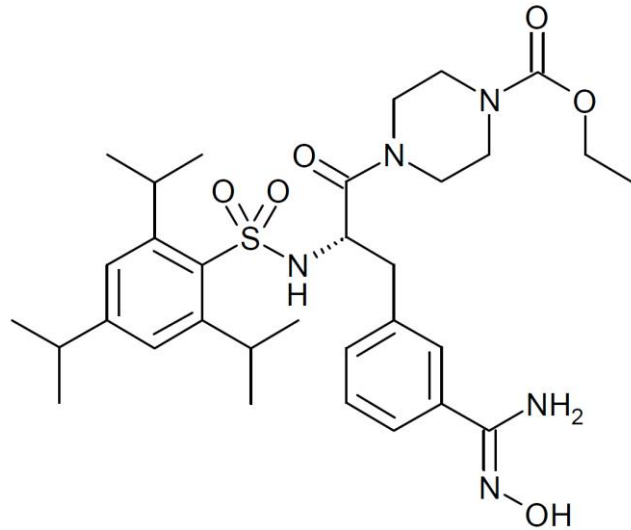
Και τα δύο φάρμακα είναι εστέρες που σχηματίζουν **φαινυλογουανιδινοακυλοπαράγωγο στη Ser** της καταλυτικής τριάδας αμινοξέων του ενεργού κέντρου των πρωτεασών (ομοιοπολικός δεσμός βραδέως υδρολύομενος). Αν και ασταθή in vivo έχουν ενεργούς μεταβολίτες:

Το **camostat** γρήγορα μεταβολίζεται προς **4-υδροξυβενζολοξικό οξύ**, που αναστέλλει εξ ίσου ισχυρά με το μητρικό φάρμακο την είσοδο του SARS-CoV-2 στο κύτταρο.

Το leaving group του **nafamostat**, η **6-αμιδινο-2-ναφθόλη**, αναστέλλει επίσης, αν και ασθενώς, την TMPRSS2.

Παραμένει κυρίως το πρόβλημα της εκλεκτικότητας αυτών των αναστολέων.

Το ανάλογης δομής παράγωγο **upamostat**, είναι αναστολέας της πρωτεάσης σερίνης ουροκινάσης και βρίσκεται σε κλινικές δοκιμές έναντι καρκίνου του παγκρέατος. Βρέθηκε ότι ασκεί αντιική δράση χορηγούμενο από το στόμα και αξιολογείται κλινικά έναντι λοιμώξεων κορονοϊού.



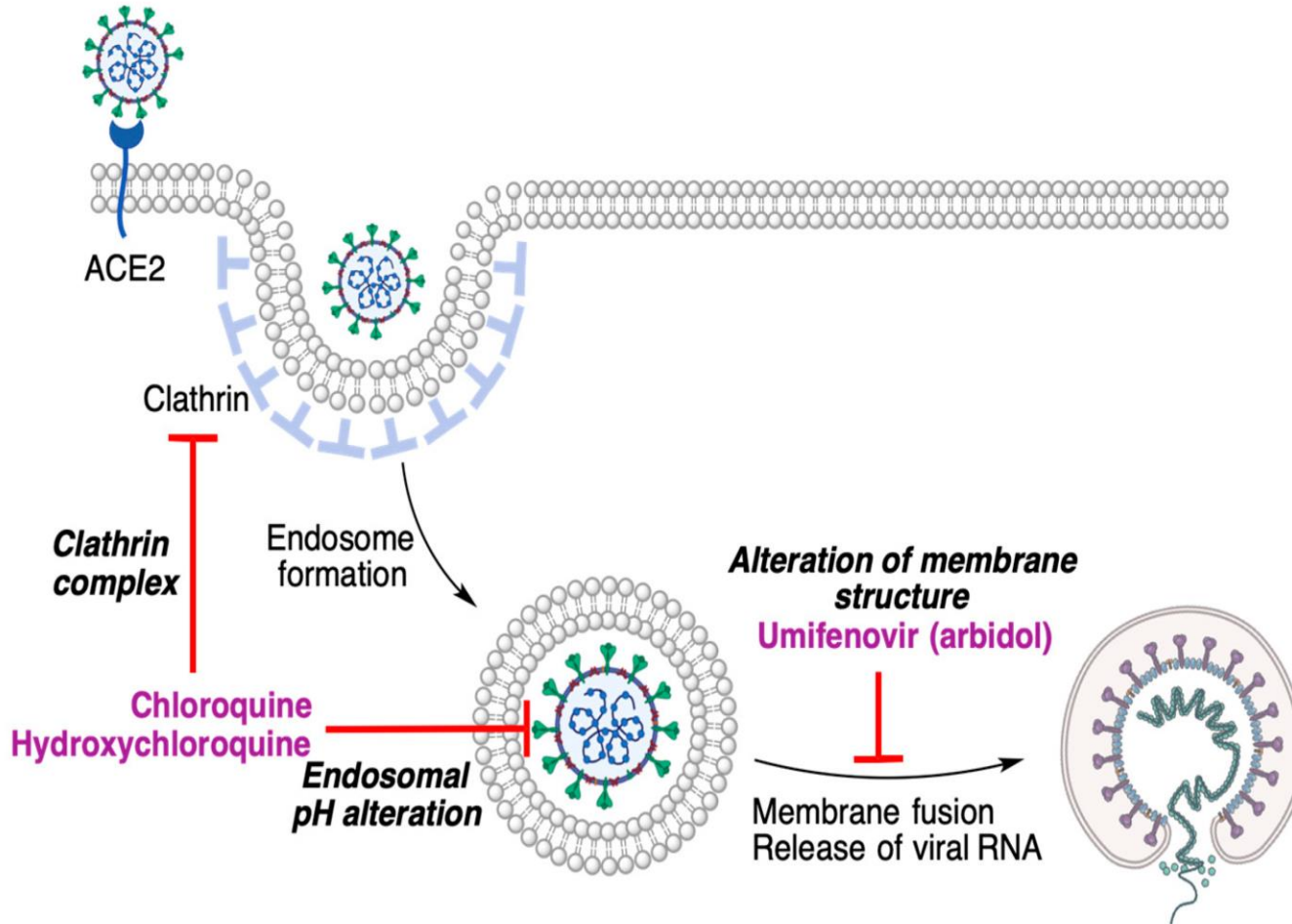
Το κύριο πλεονέκτημα των φαρμάκων αυτής της κατηγορίας είναι η στόχευση τους επί του ξενιστή, με συνέπεια:

- διατήρηση της δραστηρότητας τους στα νεότερα, μεταλλαγμένα ιικά στελέχη και
- μικρή πιθανότητα ανάπτυξης επαγόμενης αντοχής.



Σύμφωνα με την εταιρία, τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα των κλινικών δοκιμών είναι προς το παρόν «πολύ ενθαρρυντικά» όσον αφορά στην ασφάλεια χορήγησης και τις πιθανές παρενέργειες του φαρμάκου.

Φάρμακα που αναστέλλουν την σύντηξη της ιικής μεμβράνης και την είσοδο του ιού

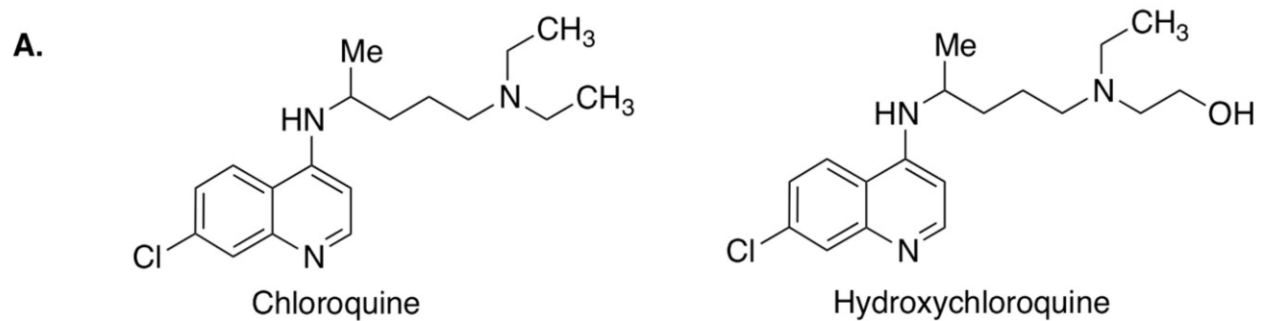


Η διαδικασία της ενδοκυττάρωσης είναι **clathrin-dependent** και επιτρέπει την είσοδο του ιού στο κύτταρο.

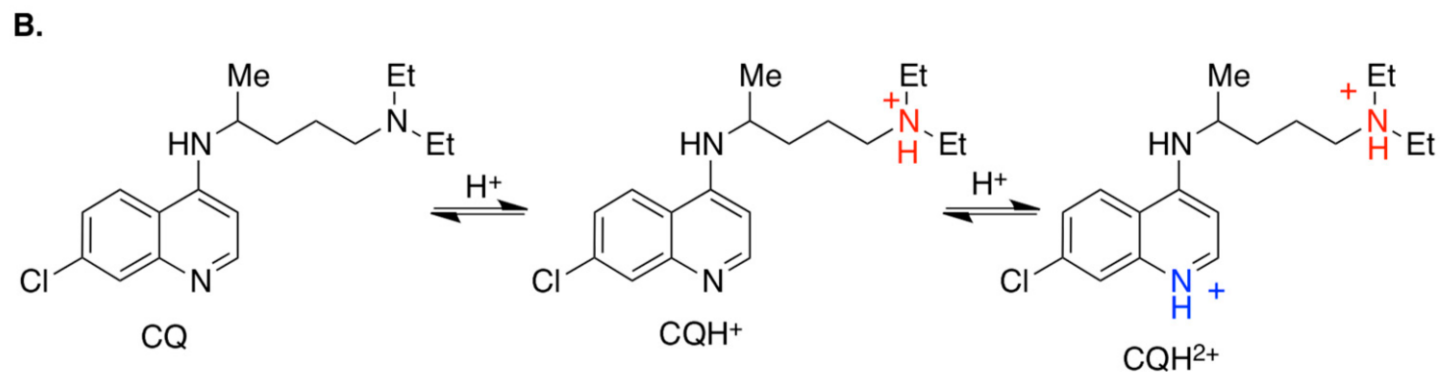
Στο όξινο λυσοσωμικό/ενδοσωμικό **pH** επάγεται η σύντηξη των ιικών και κυτταρικών μεμβρανών και η απελευθέρωση της ιικής κάψας.

Φάρμακα – αναστολείς μπορούν:

- Να αλληλεπιδράσουν με την clathrin
- να τροποποιήσουν το ενδοσωμικό pH, ή
- να τροποποιήσουν την σύντηξη.

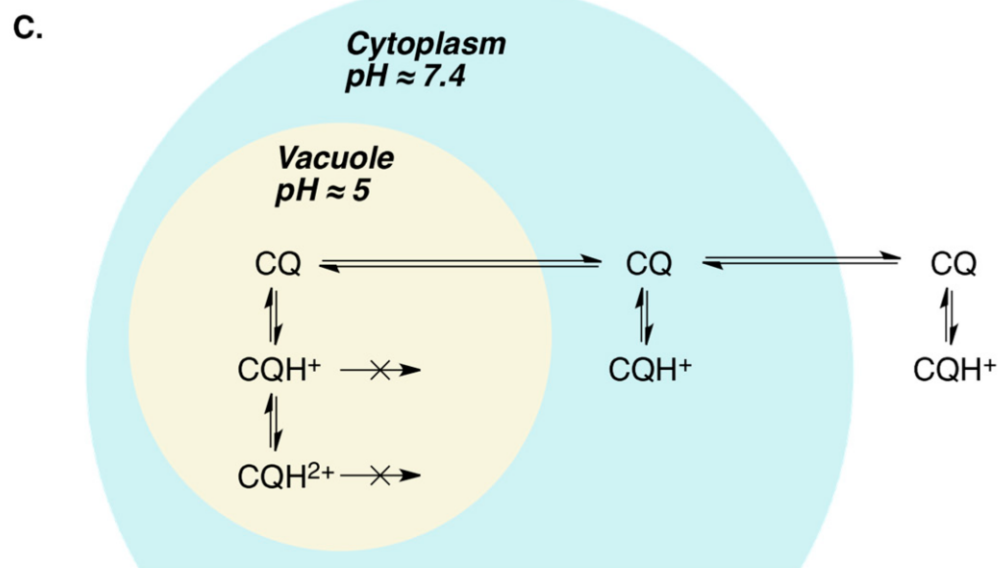


Το ανθελονοσιακό φάρμακο **chloroquine** και ο μεταβολίτης του **hydroxychloroquine** έδειξαν ενδιαφέρουσα in vitro δράση έναντι στελεχών SARS-CoV2, που αποδίδεται κυρίως στην τροποποίηση του ενδοσωμικού pH.



Εξ αιτίας της βασικότητας τους τα παράγωγα αυτά παγιδεύονται σε όξινα οργανίδια, αυξάνουν το pH και εμποδίζουν την σύντηξη.

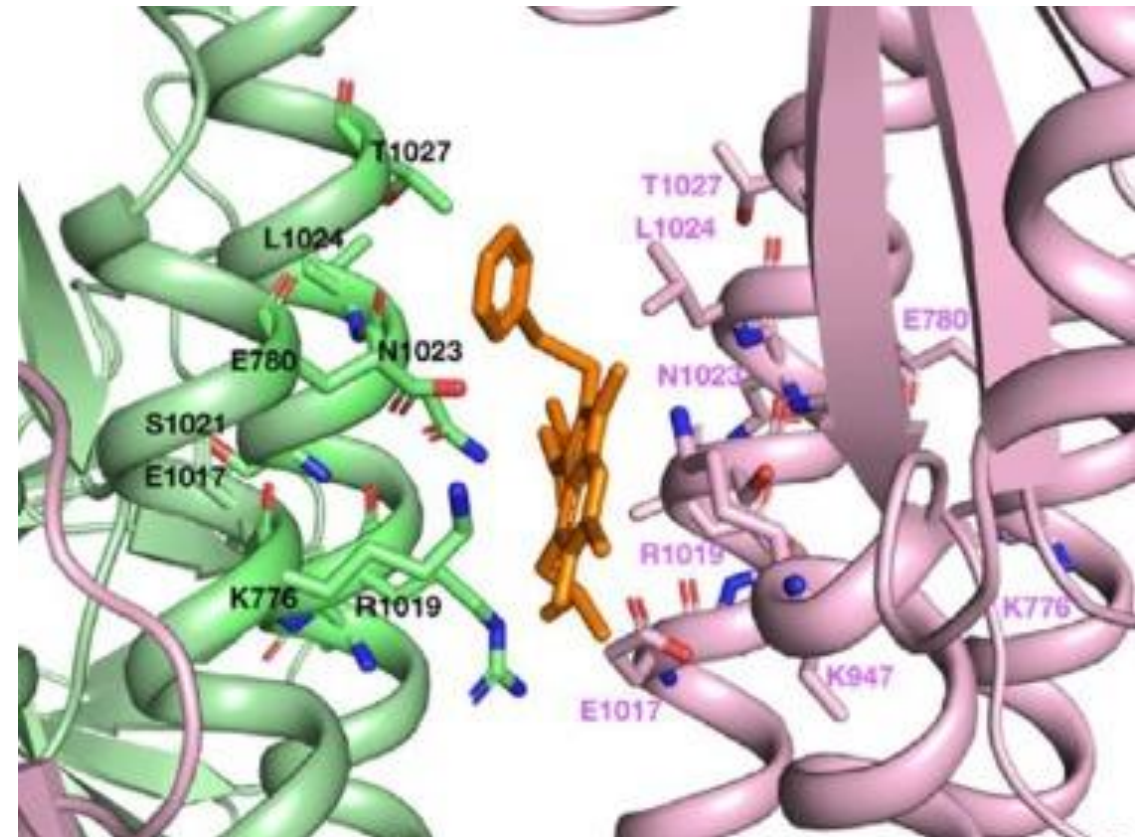
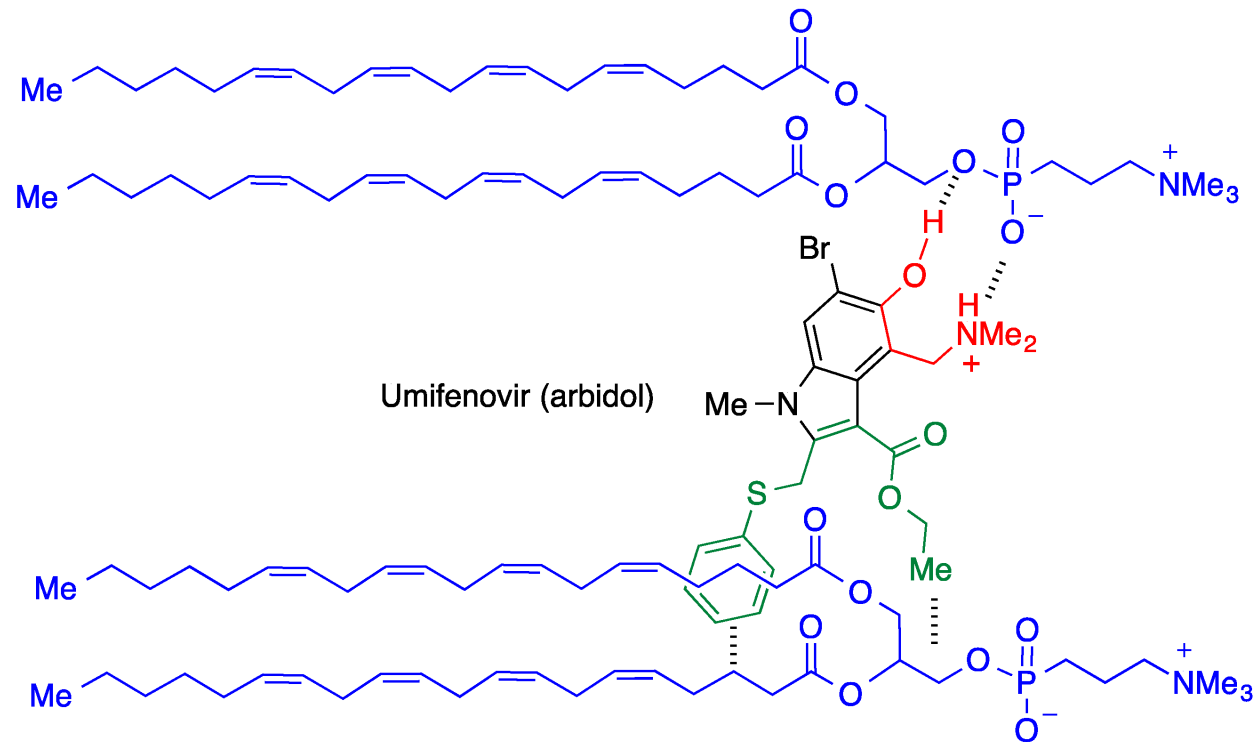
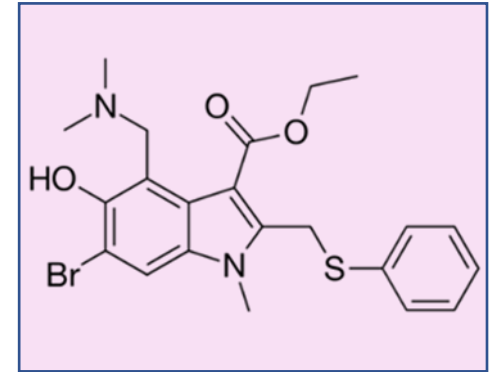
Δευτερευόντως, καταστέλλουν την έντονη αντίδραση του ανοσοποιητικού.



Παρολ' αυτά οι τοξικές τους παρενέργειες στο καρδιαγγειακό σύστημα δεν επέτρεψαν εκτεταμένες κλινικές δοκιμές, ώστε να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητά τους ως αντιϊικά φάρμακα, έναντι της λοίμωξης από SARS-CoV2.

Το Umifenovir (Arbidol, Arb) είναι αναστολέας της αιμαγλουτινίνης (HA) της influenza εγκεκριμένο φάρμακο σε Ρωσία και Κίνα.

Αλληλεπιδρά τόσο με τις φορτισμένες πολικές ομάδες των φωσfolιπιδίων των μεμβρανών όσο και με υπόλοιπα τρυπτοφάνης, ενισχύοντας τη σταθερότητα των μεβρανών. Δημιουργείται ισχυρό σύμπλοκο, που αναστέλλει τις διαμορφωτικές αλλαγές της HA που είναι απαραίτητες για την είσοδο του ιού στο κύτταρο.



Βάσει της δομικής ομοιότητας της S γλυκοπρωτεΐνης των ιών influenza και SARS-CoV-2, θεωρήθηκε πιθανή η αναστολή του τριμερισμού της S πρωτεΐνης του κορονοϊού από το **Umifenovir**, που μπορεί να αποτρέψει την είσοδο του ιού στο κύτταρο.

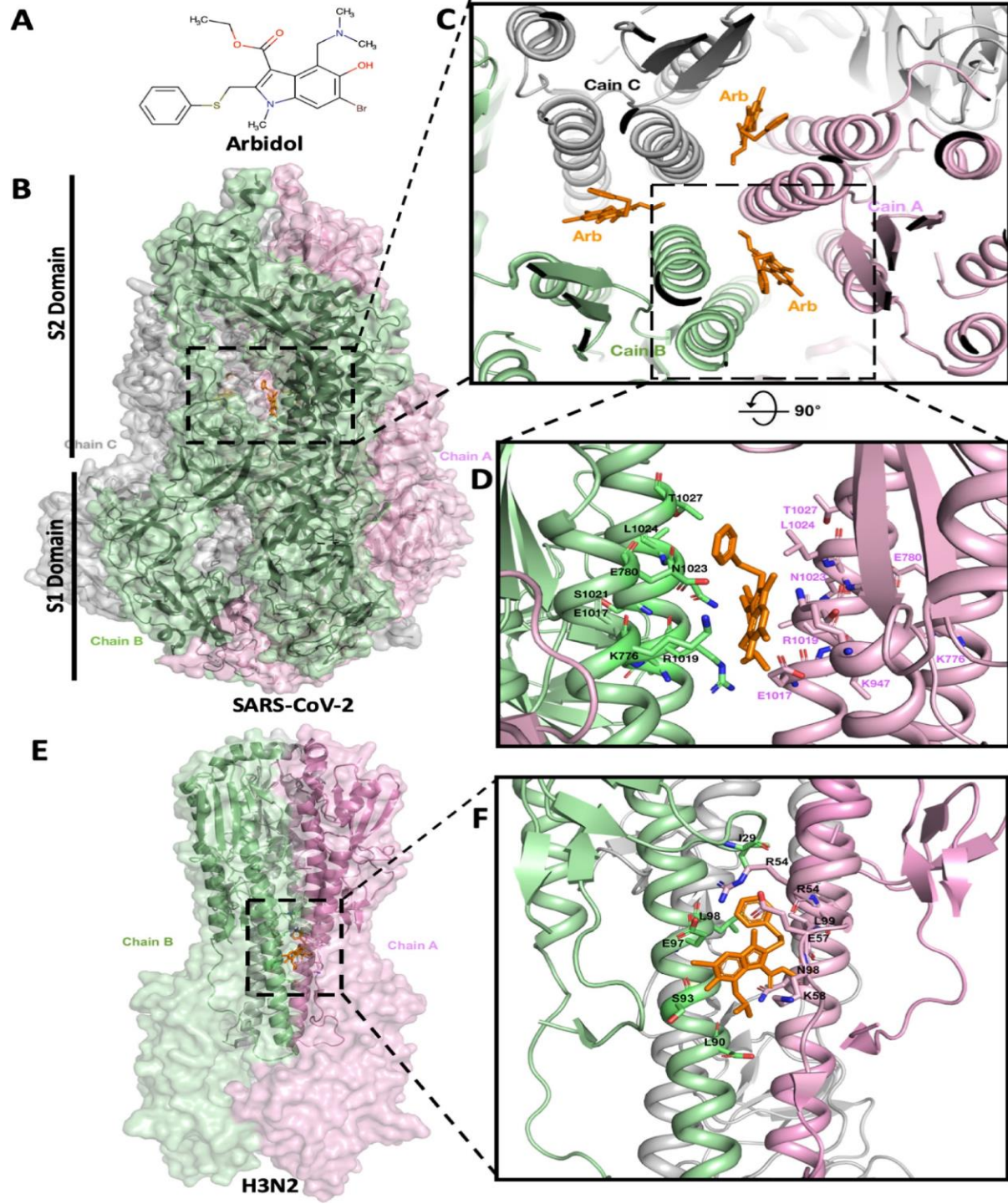
Πράγματι, το **Umifenovir** αναστέλλει αποτελεσματικά τον SARS-CoV-2 in vitro με $EC_{50} = 4.11 \mu M$.

Τον Ιανουάριο 2020 χορηγήθηκε στη Wuhan (China) σε 36 COVID-19 ασθενείς (3 δόσεις των 400mg/ημέρα, για 9 ημέρες).

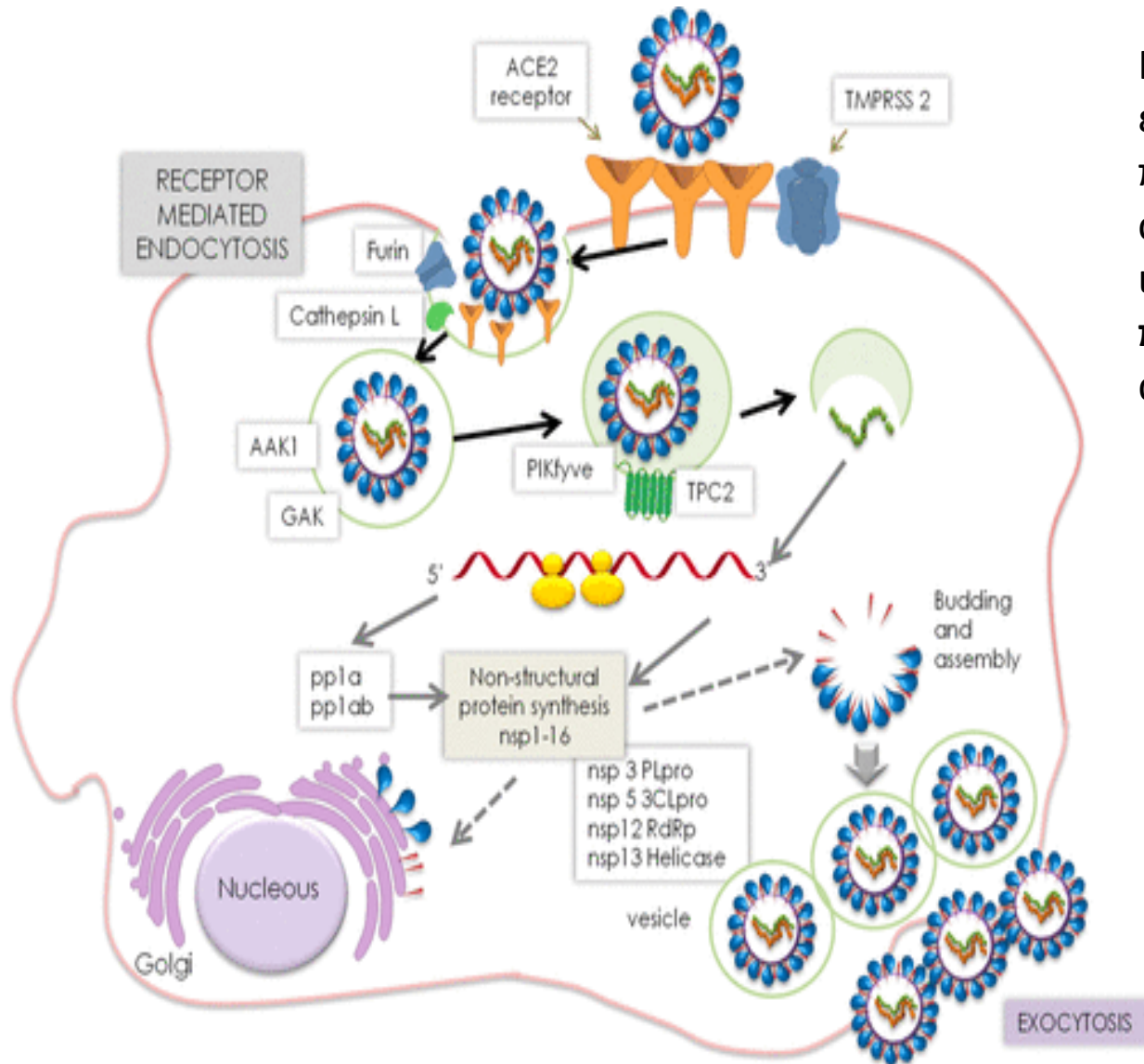
Αναφέρθηκε μείωση των συμπτωμάτων και της θνησιμότητας (0% vs 16% του control group), αν και δεν αξιολογήθηκε ως στατιστικώς σημαντική.

Υπολείπεται σε πειστικά αποτελέσματα κλινικών δοκιμών.

Int. J. Antimicrob. Agents 2020, 105998

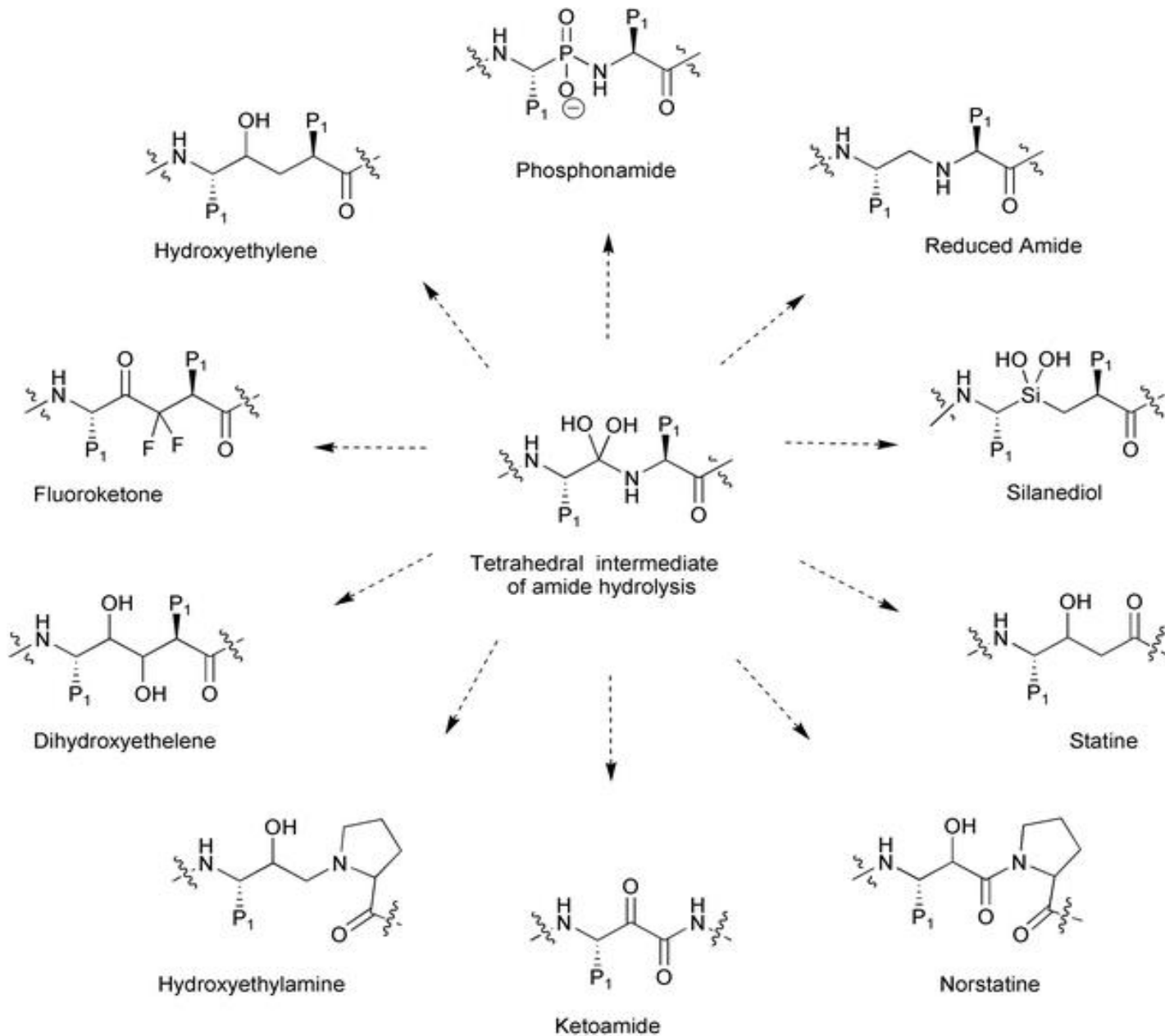


Αναστολείς πρωτεασών του SARS-CoV2

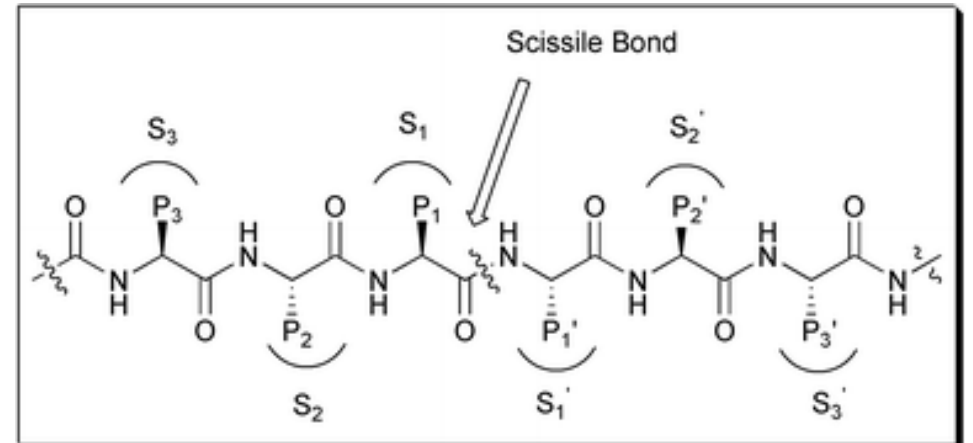


Η μεταγραφή του ιικού ss-(+)-RNA γίνεται αρχικά προς ενδιάμεσα (-)-RNA που θα αποτελέσουν τη μήτρα για τη παραγωγή των vRNAs. Αυτά θα σταθεροποιηθούν με capping και πολυαδενυλίωση στα άκρα τους. Τα 2/3 του ιικού γονιδιώματος χρησιμεύουν για τη σύνθεση δύο **πολυπρωτεϊνών (pp 1a and pp 1ab)** που θα διασπασθούν από δύο καλά διατηρημένες πρωτεάσες:

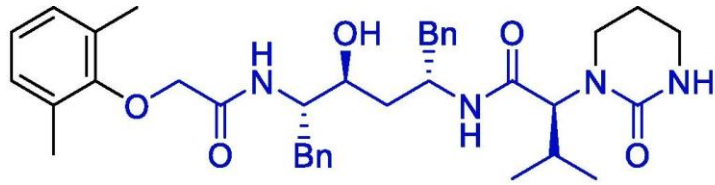
- Η πρωτεάση κυστεΐνης **3CLpro (3-chymotrypsin-like protease)** γνωστή και ως **Mpro (main protease)**, ή ως **nsp5 (non-structural protein 5)**, δρα ως **διμερές** και διασπά την **πολυπρωτεΐνη 1a/b** σε **11 θέσεις**.
- Η πρωτεάση σερίνης **PLpro (papain-like protease)** είναι πολυδραστικό ένζυμο που σχετίζεται με τη δημιουργία διαύλων και την τον έλεγχο του ανοσοποιητικού συτήματος.



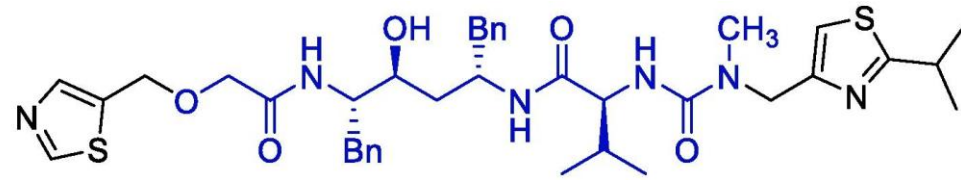
Προηγούμενη εμπειρία από την ανάπτυξη φαρμάκων άλλων ιώσεων: Οι ιικές πρωτεάσες αποτελούν **validated target**: αναστολείς της HIV πρωτεάσης είναι επιτυχή αντιρετροϊκά φάρμακα. Σχεδιάσθηκαν ως **noncleavable transition-state isosteres**.



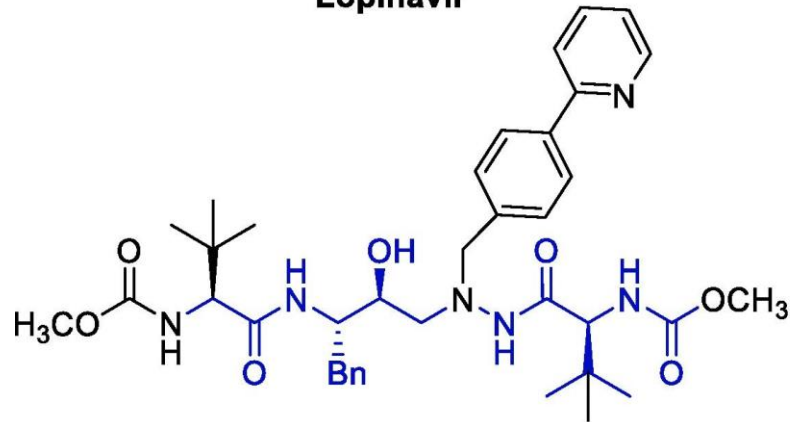
Drug repurposing: HIV protease inhibitors → SARS-CoV-2 Mpro inhibitors



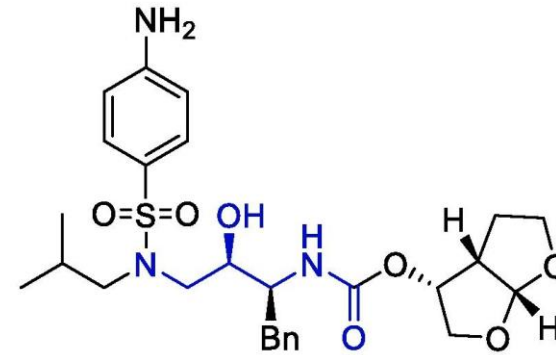
Lopinavir



Ritonavir



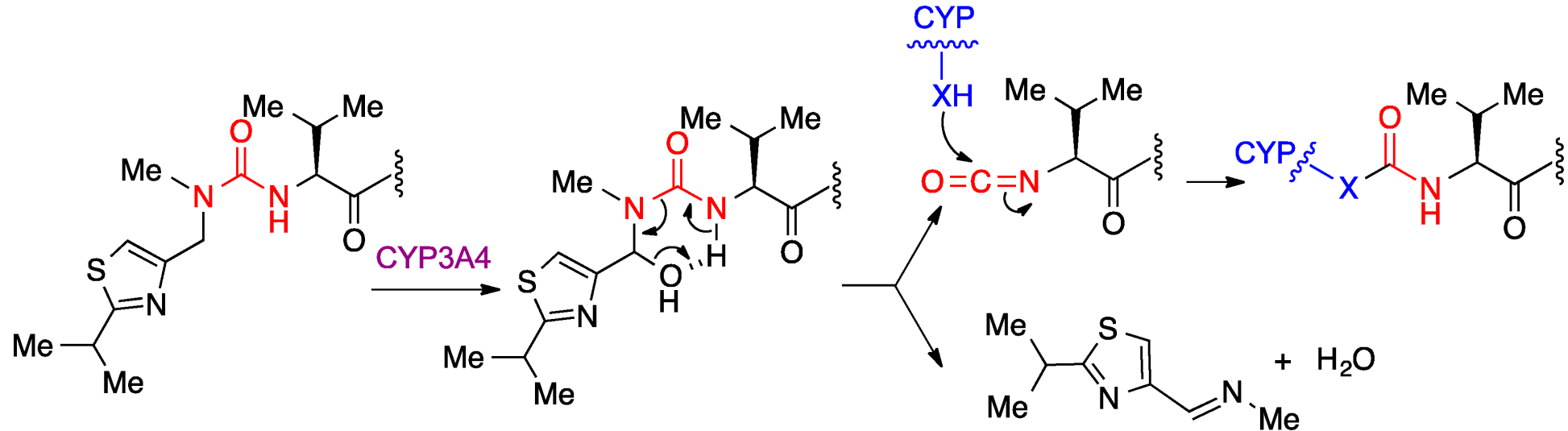
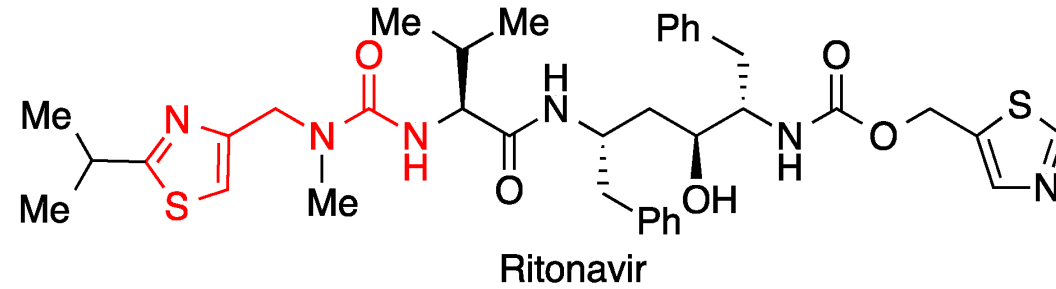
Atazanavir



Darunavir

Κατά τα πρώτα στάδια της πανδημίας δοκιμάσθηκαν αναστολείς της HIV πρωτεάσης έναντι της πρωτεάσης του SARS-CoV-2 σε βιοχημικές μελέτες και αναστολή του ιού σε κυτταρική καλλιέργεια. Ορισμένοι εξ αυτών προχώρησαν σε in vivo πειράματα και σε κλινικές δοκιμές. Εντοπίσθηκαν σημαντικές διαφορές, ανάλογα με τη δομή και συνολικά τα αποτελέσματα χαρακτηρίζονται ως μέτρια.

Ο αναστολέας της HIV πρωτεάσης **lopinavir**, αναστέλλει την **Mpro**. Εξ αιτίας της μεταβολικής του αστάθειας πρέπει να συγχορηγηθεί με το **ritonavir**, που δρα ως αναστολέας του κυτοχρώματος for CYP3A4.



Το Ritonavir αναστέλλει μη αντιστρεπτά το CYP3A4.

Το ισοκυανικό ενδιάμεσο σχηματίζει καρβαμιδικό εστέρα με πυρηνόφιλη προσβολή από ομάδα του κυτοχρώματος.

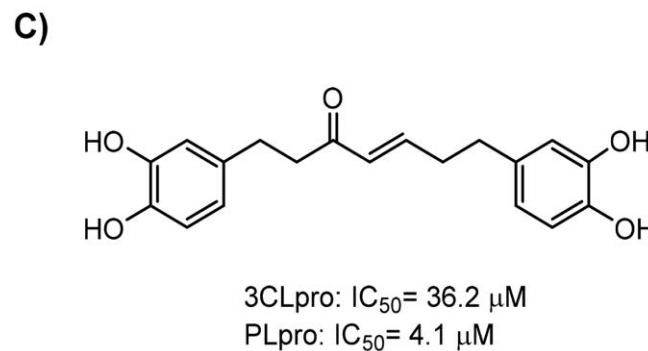
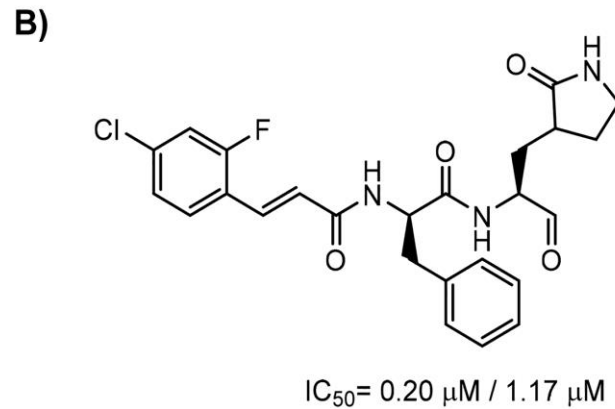
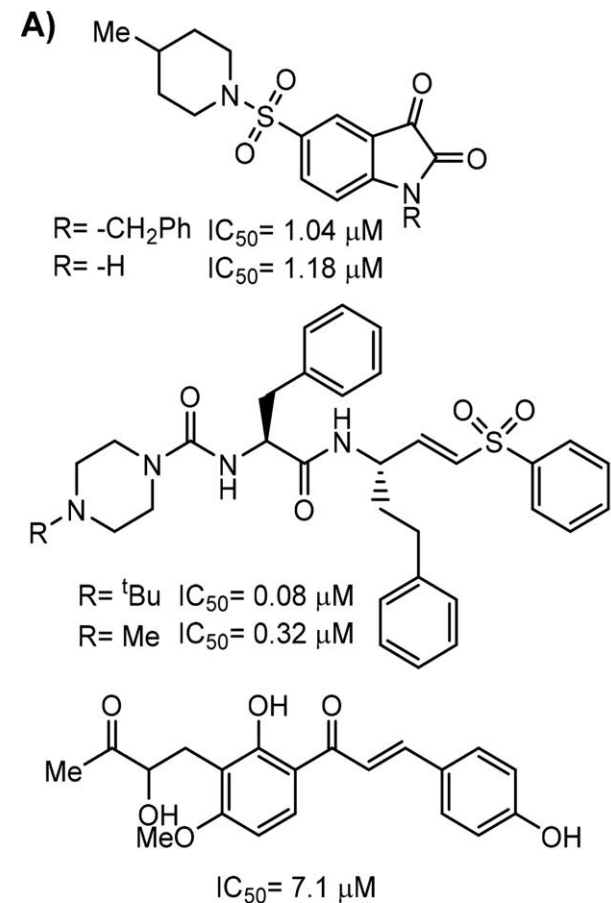
Αν και ο συγκεκριμένος συνδυασμός φαρμάκων χορηγήθηκε εκτεταμένα κατά τα πρώτα στάδια της πανδημίας, μεταγενέστερη ανάλυση των κλινικών αποτελεσμάτων απέδειξε ότι δεν οδηγεί σε σημαντικό θεραπευτικό αποτέλεσμα.

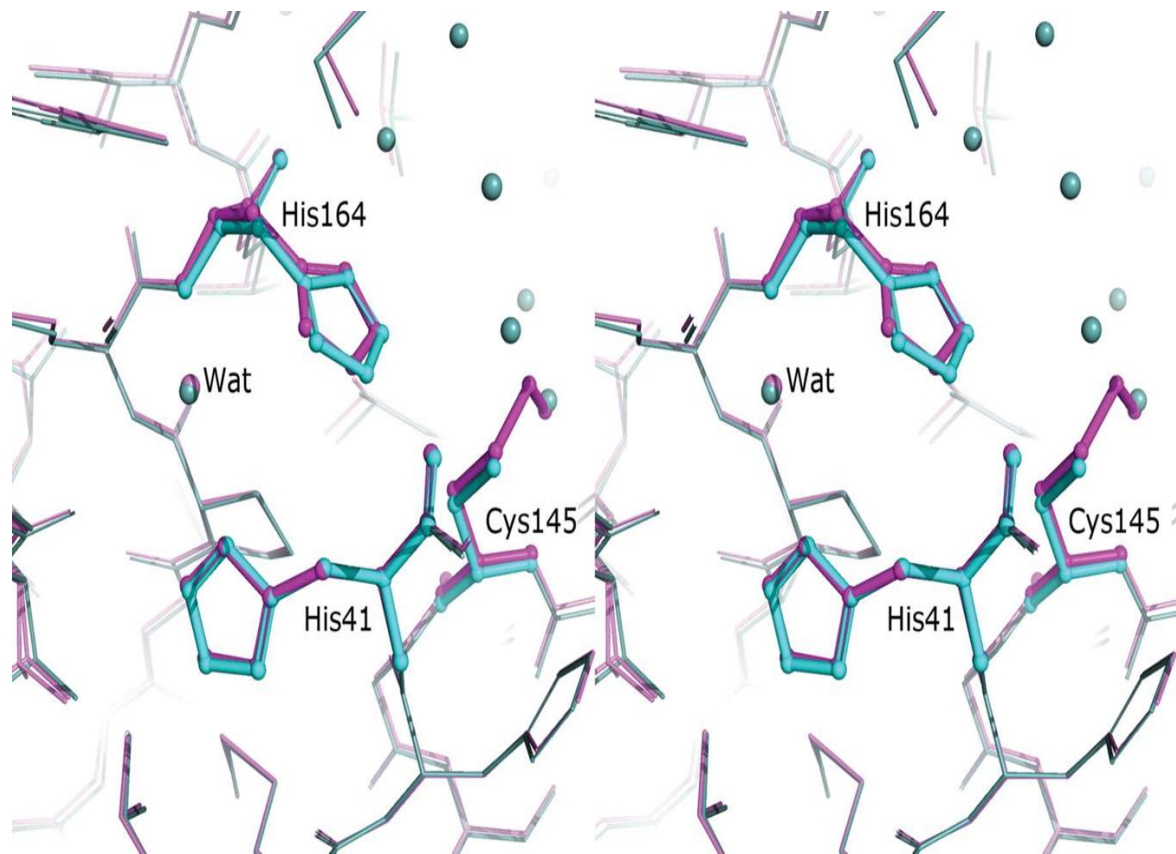
Φάρμακα που σχεδιάζονται ειδικά για να στοχεύουν ένζυμα του SARS-CoV-2 είναι πιθανότερο να είναι πιο αποτελεσματικά από τα repurposed therapeutics: Αναστολείς της SARS-CoV-2 Mpro.

Η Mpro είναι πιο δημοφιλής στόχος από την PLpro επειδή:

Η Mpro είναι μικρότερη, λιγότερο πολύπλοκη στη λειτουργία της και συναφής με πρωτεάσες άλλων ιών. Είναι ευκολότερο να παραχθεί σε μεγάλες ποσότητες. Μελέτη της αμινοξικής της αλληλουχίας σε διάφορα ιικά στελέχη δείχνει χαμηλή συχνότητα μεταλλάξεων.

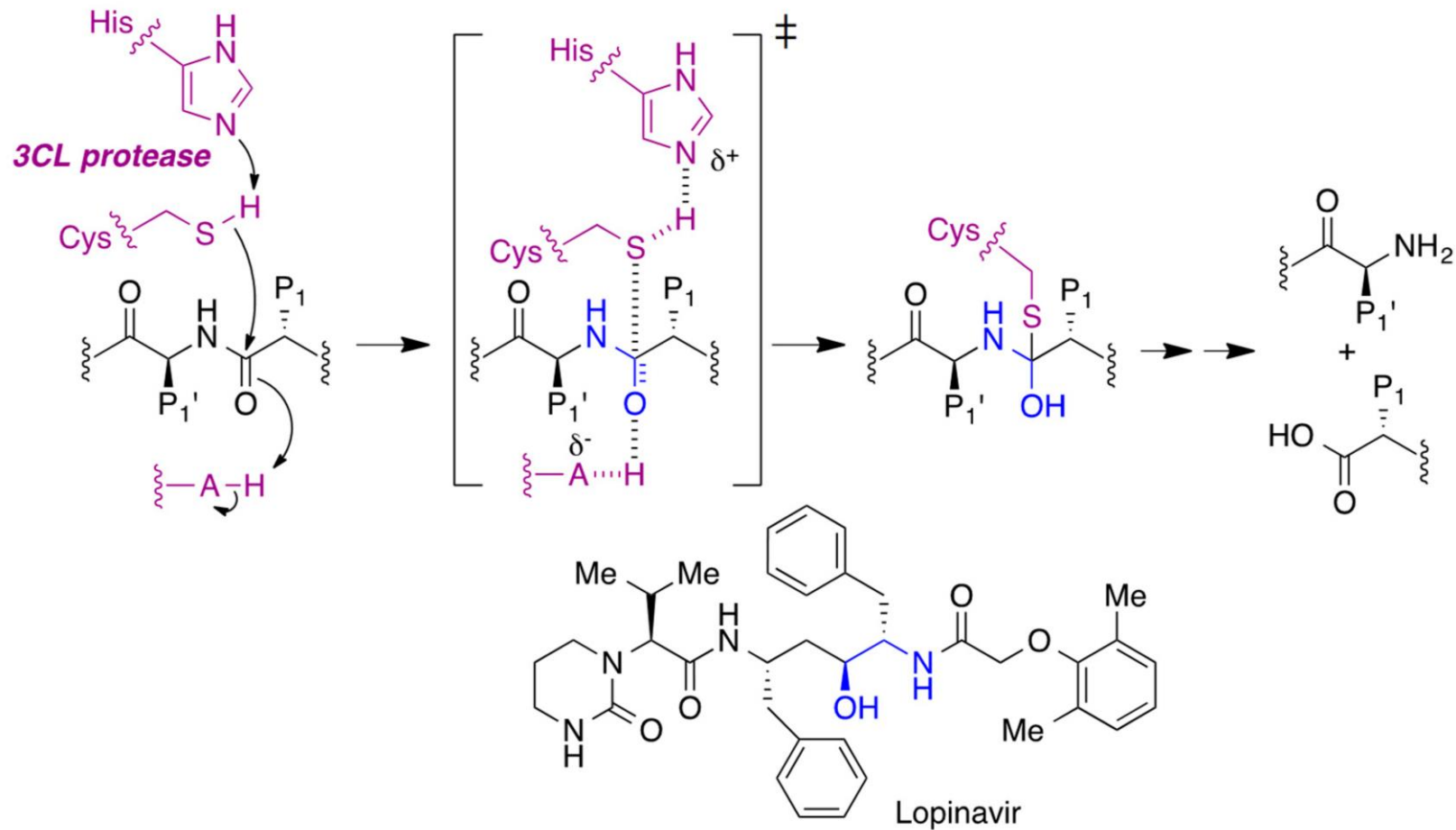
Ένας αριθμός πεπτιδομιμητικών αναστολέων ταυτοποιήθηκε από εκτεταμένα screens και structure-based drug design. Ορισμένοι συγκρυσταλλώθηκαν με την Mpro. Επηρεάζουν το διμερισμό του ενζύμου τροποποιώντας τη δομή του ενεργού κέντρου - αντιδρώντας κυρίως με την Cys145. Συνδέονται ομοιοπολικά με την Mpro και είναι ισχυροί αναστολείς, αλλά εγείρουν ανησυχίες για off-target τοξικές παρενέργειες.





Η SARS-CoV-2 **Mpro** διαθέτει μεταξύ των δύο τμημάτων της την καταλυτική δυάδα **Cys145-His41**. Η πυρηνόφιλη προσβολή του υποστρώματος ή του πεπτιδομιμητικού αναστολέα από τη θειολομάδα της κυστεΐνης είναι συγχρονισμένη διαδικασία: ο σχηματισμός του ομοιοπολικού δεσμού υποβοηθείται από μια His, που παίζει ρόλο αποδέκτη του πρωτονίου της -SH (λειτουργεί ως βάση).

Ένα μόριο νερού (**Wat στο σχήμα**) ισχυρά συνδεδεμένο με το **N1** της **His41** της **Mpro** αυξάνει τη βασικότητά της, διευκολύνοντας το σχηματισμό του τετραεδρικού ενδιάμεσου **transition state** της υδρόλυσης του πεπτιδικού δεσμού.

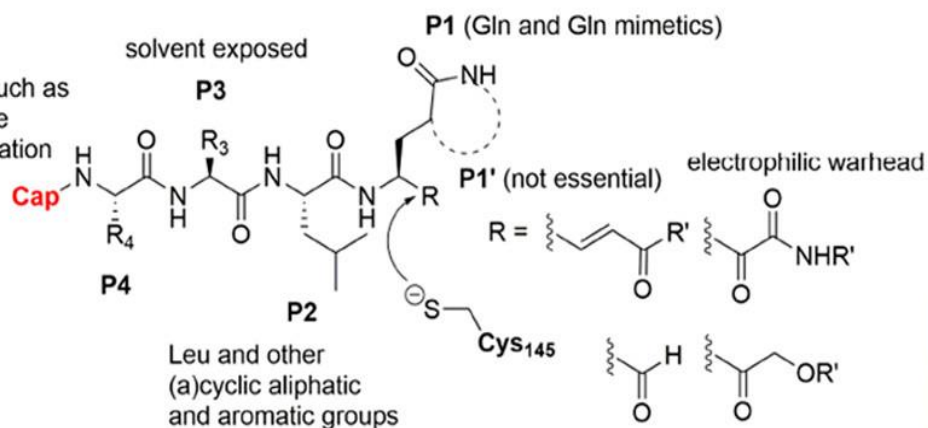
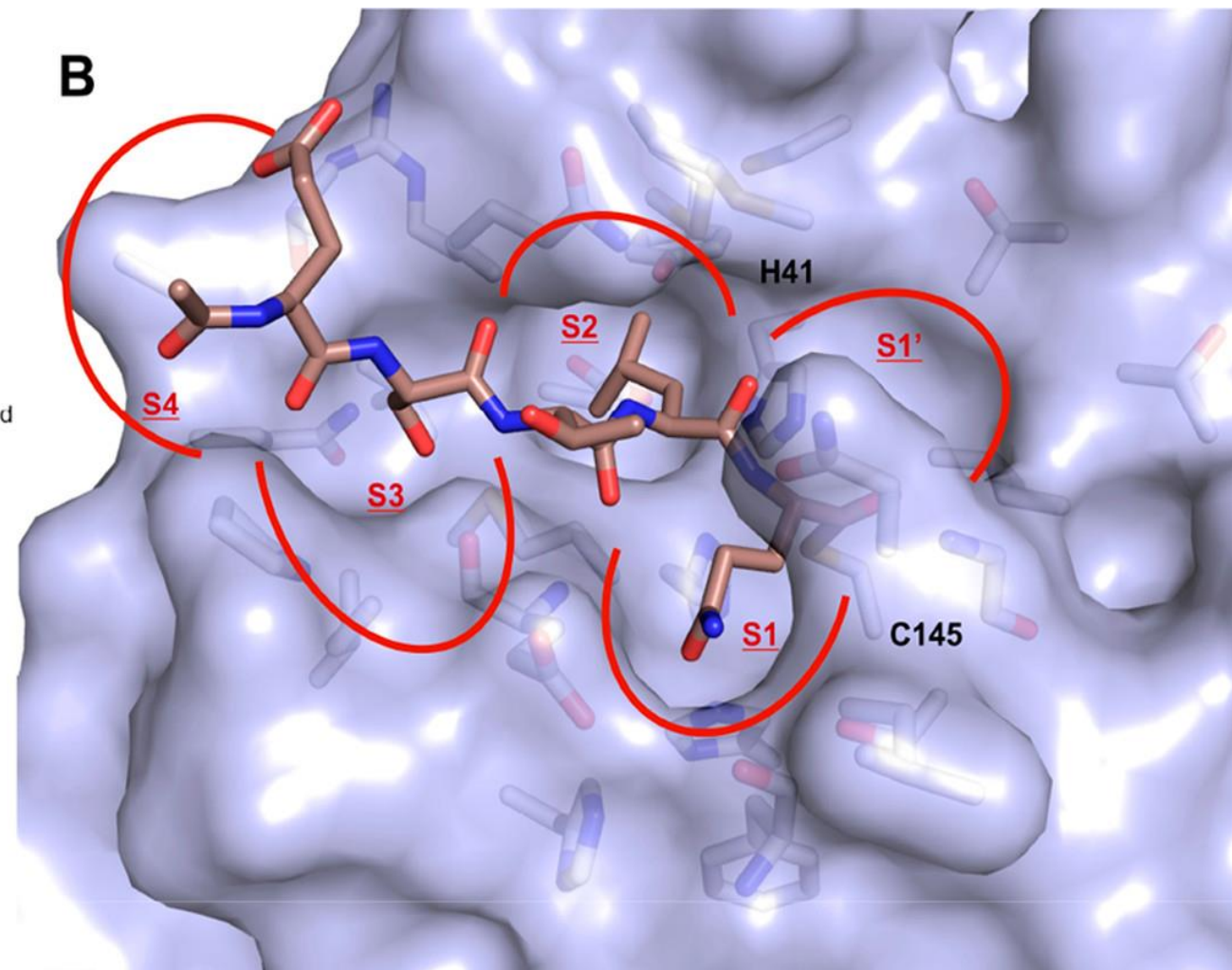


Μηχανισμός της αναστολής της **Mpro** από το Lopinavir.

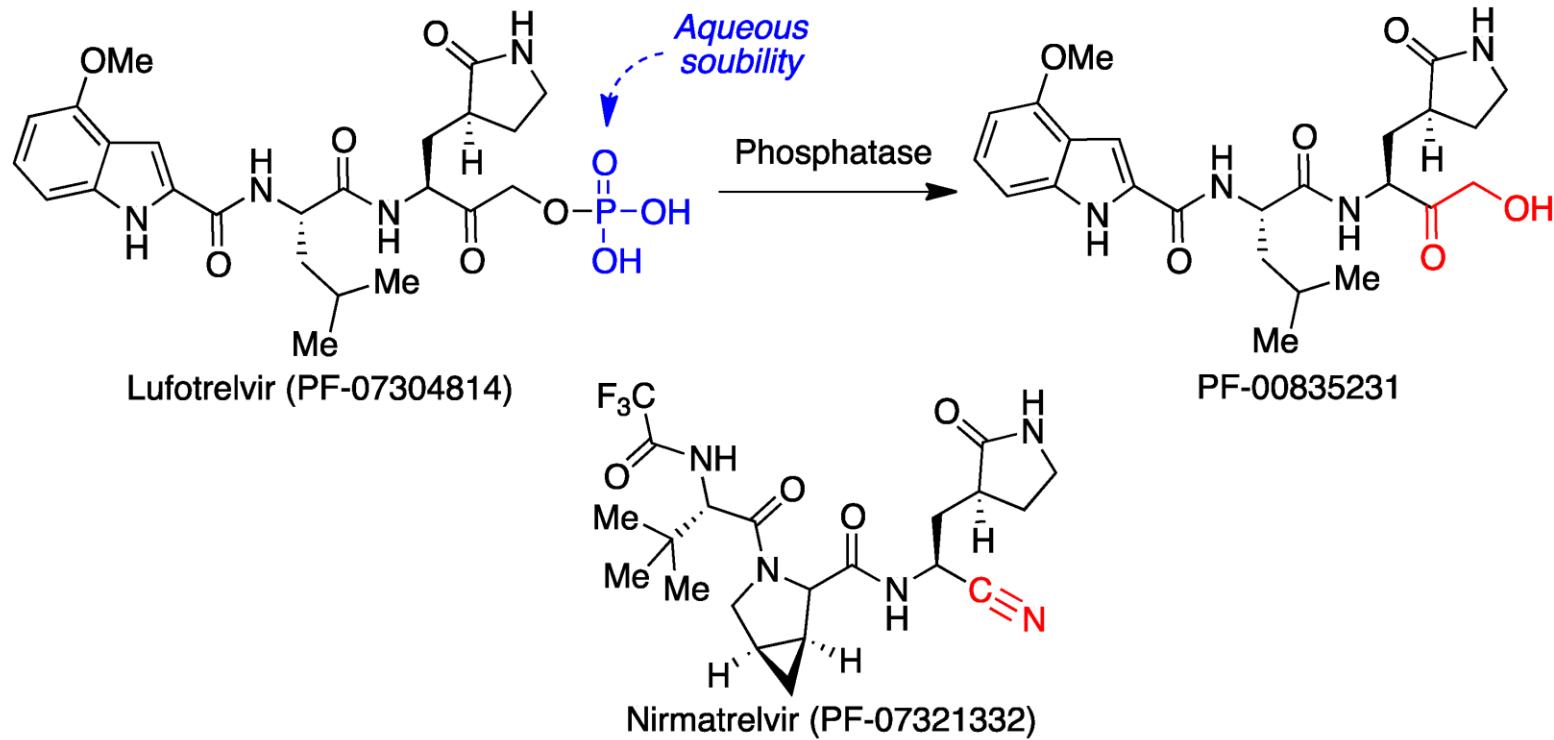
Μετά την υποβοηθούμενη από την ιστιδίνη πυρηνόφιλη προσβολή σχηματίζεται το ενδιάμεσο, το αμινοτελικό πεπτίδιο πρωτονιώνεται από την ιστιδίνη και ο θεοαιθέρας τελικά υδρολύεται, για να δώσει το καρβοξυτελικό πεπτίδιο, με ταυτόχρονη εμφάνιση άθικτης της καταλυτικής δυάδας.

A

P3/P4 can tolerate more chemical modifications, such as replacement with drug-like heterocycles and/or truncation

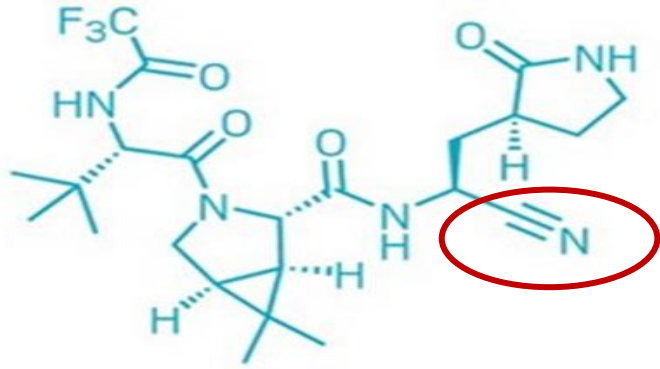
**B**

Οι ομοιοπολικοί, μη αντιστρεπτοί αναστολείς διακρίνονται από τη παρουσία ηλεκτρονιόφιλης ομάδας “warhead group” σε κατάλληλη θέση του πεπτιδομιμητικού υποστρώματος, που αντιδρά κατά προτίμηση και δεσμεύεται ισχυρά στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. **Δρουν με μηχανισμό δύο σταδίων**: αρχικά δεσμεύονται κατ’ αναλογία με το φυσιολογικό υπόστρωμα στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, ώστε το καρβοξυτελικό warhead να πλησιάζει κοντά στην καταλυτική **Cys₁₄₅**, ενώ σε δεύτερο στάδιο αντιδρούν και δημιουργείται ο ομοιοπολικός δεσμός.



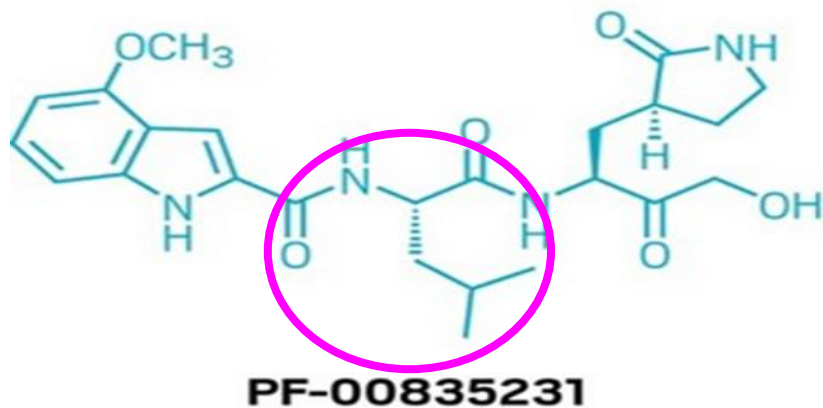
Το **Lufotrelvir (PF-07304814)**, είναι **υδατοδιαλυτό** **προφάρμακο**, ο **φωσφορικός εστέρας** του **αναστολέα της Mpro PF-00835231** κατάλληλο για **ενδοφλέβια χορήγηση**. Ο αναστολέας **PF-00835231** είχε βρεθεί παλαιότερα ότι αναστέλλει πρωτεάσες άλλων κορονοϊών (ανάπτυξη φαρμάκων έναντι της επιδημίας SARS-CoV στα έτη 2002–2003). Είναι όμως πολύ πολικό μόριο που δεσμεύεται ισχυρά στο εντερικό βλεννογόνο. Κατά συνέπεια το **Lufotrelvir** μπορεί να χορηγηθεί μόνο ενδονοσοκομιακά.

Εγκρίθηκε από τον FDA με επείγουσες διαδικασίες έναντι του COVID-19, αλλά αντικαταστάθηκε σύντομα από το **δραστικό από το στόμα Nirmatrelvir (PF-07321332)** που αναπτύχθηκε από την ίδια εταιρεία (Pfizer).



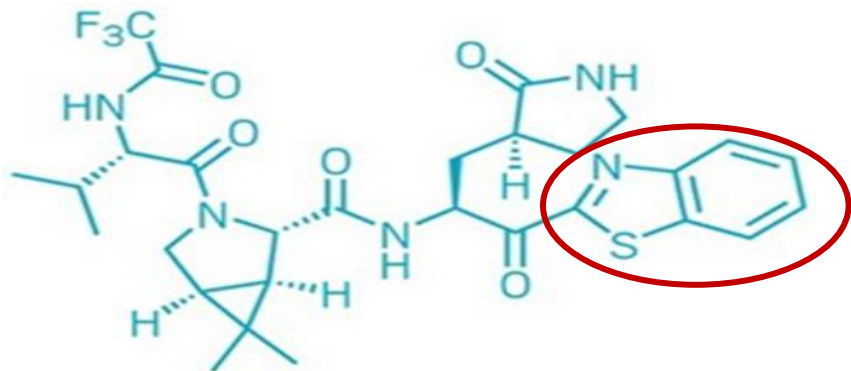
**Nirmatrelvir
(PF-07321332)**

Για να επιτύχουν δραστηριότητα με χορήγηση από το στόμα, εξέτασαν προσεκτικά την αναγκαιότητα ή μη κάθε δ.Η μεταξύ ενζύμου και αναστολέα. Η ομάδα **α -υδροξυμεθυλοκετόνης**, που αντιδρά με την **Cys145**, αντικαταστάθηκε από άλλες ομάδες. Συντέθηκαν και μελετήθηκαν δύο κατηγορίες παραγώγων: παράγωγα **βενζοθειαζολ-2-υλο κετόνης** και **παράγωγα νιτριλίου**.



PF-00835231

Η **ομάδα λευκίνης** του **PF-00835231** αντικαταστάθηκε από κυκλικό αμινοξύ που μιμείται τη λευκίνη, αλλά αφαιρείται ένας δότης δ.Η. Ο κυκλοπροπανικός δακτύλιος φέρει 2 μεθύλια για να επιτευχθεί σχετικά επιτυχής σύνδεση, όμως **χάνεται μια σημαντική αλληλεπίδραση του αναστολέα με μία γλουταμίνη** του ενζύμου. Η αντικατάσταση του ινδολικού δακτυλίου από **τριφθοροακεταμίδιο** επιχειρεί να επαναφέρει αυτή τη σημαντική σύνδεση, ενώ παράλληλα βελτιώνει τη διαπερατότητα του φαρμάκου στο εντερικό επιθήλιο.

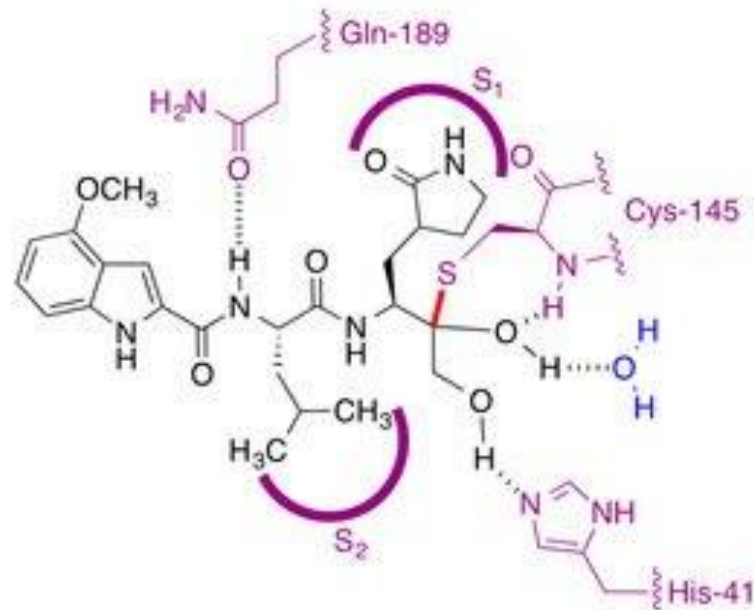
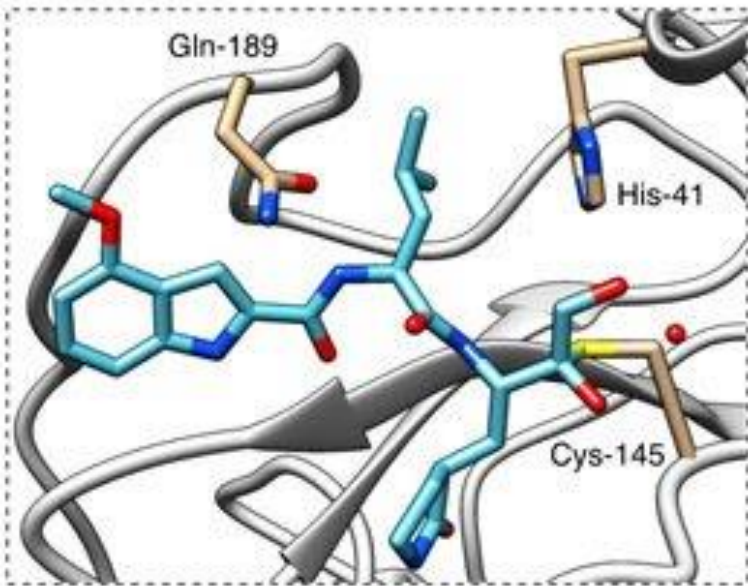


Benzothiazol-2-yl ketone candidate

Μετά από πολλές δοκιμές κατέληξαν στα παράγωγα νιτριλίου, επειδή: Η εισαγωγή νιτριλίου **βελτιώνει την σταθερότητα και τη διαλυτότητα** των παραγώγων.

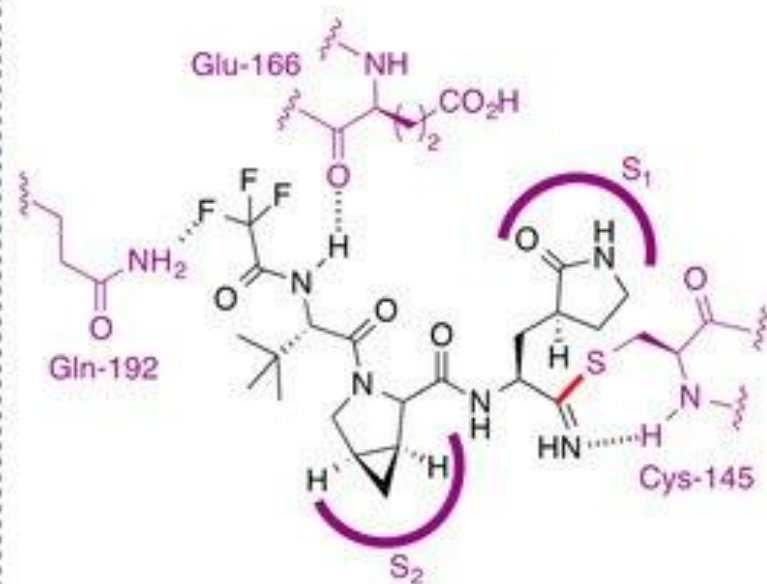
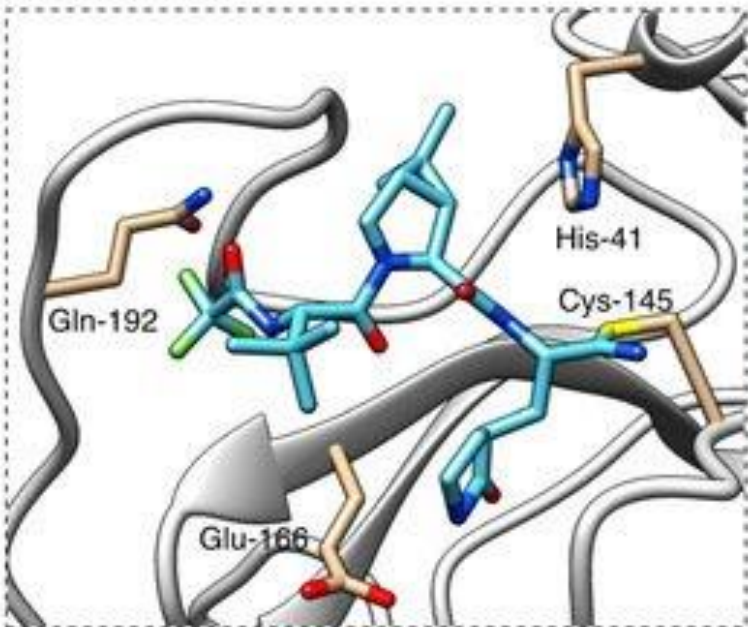
Επίσης, η εισαγωγή νιτριλίου σε ασύμμετρο άνθρακα **μειώνει την επιμερίωση** (σύγκριση με τα αντίστοιχα παράγωγα βενζοθειαζολ-2-υλο κετόνης).

A. PF-00835231

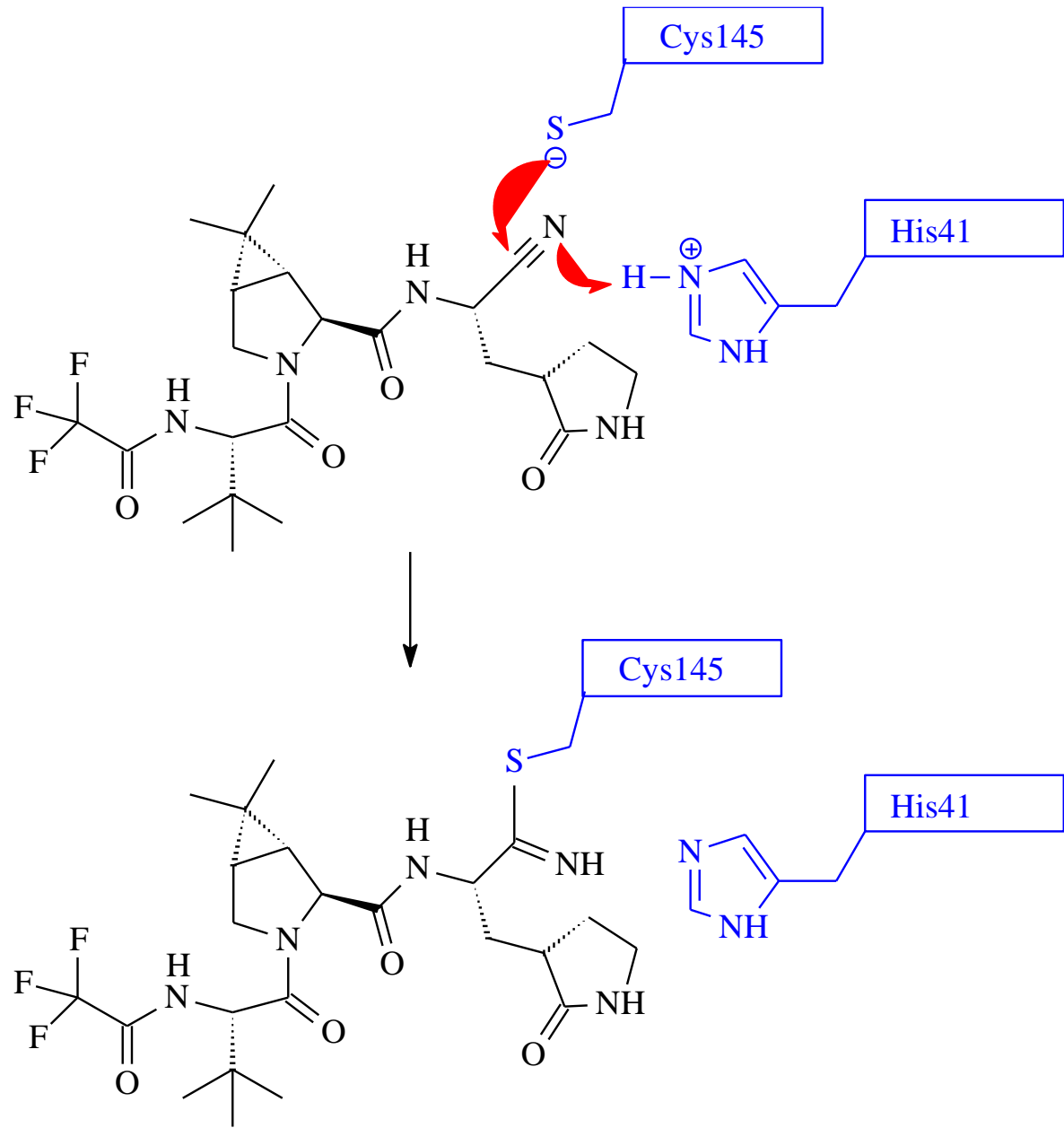


Ο γ-λακταμικός δακτύλιος αποτελεί ένα επίσης σημαντικό δομικό χαρακτηριστικό αυτών των μη αντιστρεπτών αναστολέων, γιατί αλληλεπιδρά με μια σημαντική συντηρημένη γλουταμίνη, παρούσα σε πολλά σημεία της πρωτεόλυσης.

B. Nirmatrelvir

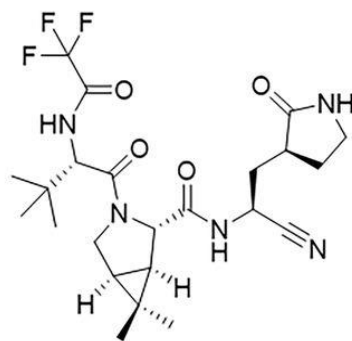
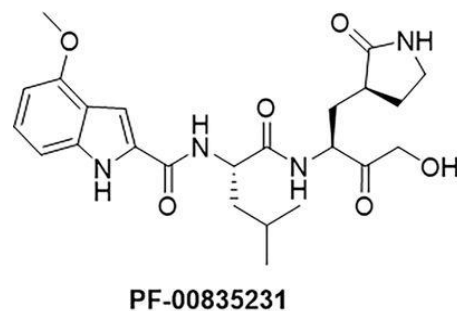


Το Nirmatrelvir βελτιστοποιήθηκε προσεκτικά ώστε να δεσμεύεται ισχυρά με το ενεργό κέντρο της SARS-CoV-2 **Mpro** με την ανάπτυξη δH και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων.



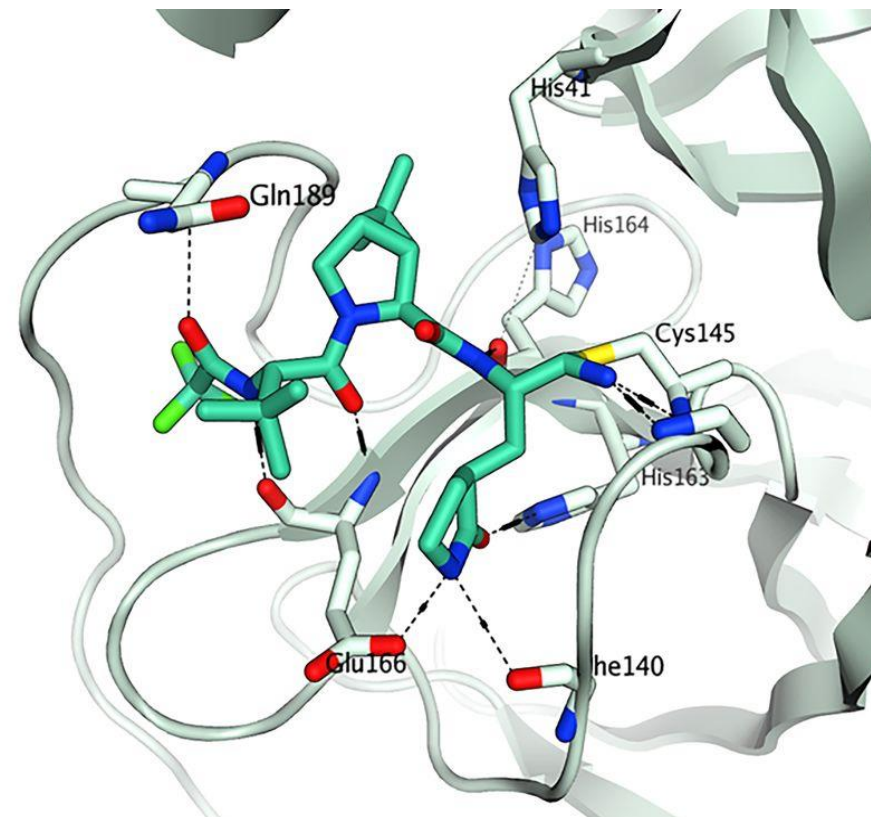
Σύμφωνα με μοριακές προσομοιώσεις η αναστολή της SARS-CoV-2 **Mpro** από το nirmatrelvir συμβαίνει πράγματι σε δύο στάδια, όπως προβλέπεται:

- Η αρχική μη ομοιοπολική δέσμευση με την καταλυτική δυάδα **Cys145-His41** και ο σχηματισμός του ιοντικού ζεύγους μεταξύ ανιόντος θειολομάδας – ιμιδαζολικού κατιόντος,
- Ακολουθείται από την ηλεκτρονιόφιλη προσβολή.

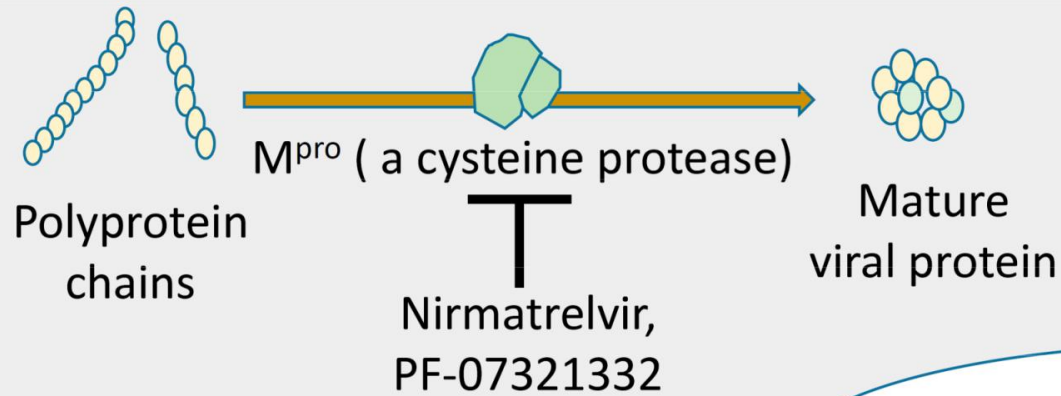


Για να μορφοποιηθεί το σκεύασμα **Paxlovid**, το **Nirmatrelvir** συνδυάστηκε με **Ritonavir** που αναστέλλει τα μεταβολικά ένζυμα. Το συνδυαστικό σχήμα **Paxlovid** είναι δραστικό από το στόμα και αποτελεσματικό, χωρίς σημαντικές παρενέργειες.

Σύμφωνα με τις κλινικές μελέτες: το **Paxlovid** αν χορηγηθεί κατά το πρώτο 5/μερο από την έναρξη των συμπτωμάτων, μειώνει τη πιθανότητα εισαγωγής σε νοσοκομείο και τη πιθανότητα θανάτου από COVID-19, κατά 88%, σε σύγκριση με το placebo.



Mechanism: an inhibitor of M^{pro}, a protease critical in viral replication



Efficacy: reduce hospitalization rate and mortality

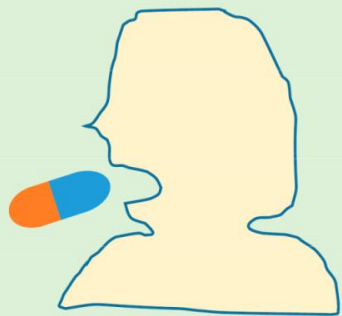
6.3% (66/1046) of the control group were hospitalized with **12** subsequent deaths

vs.

0.3% (8/1039) of the Paxlovid™ group were hospitalized with **no** deaths

Paxlovid™
= Nirmatrelvir/ritonavir

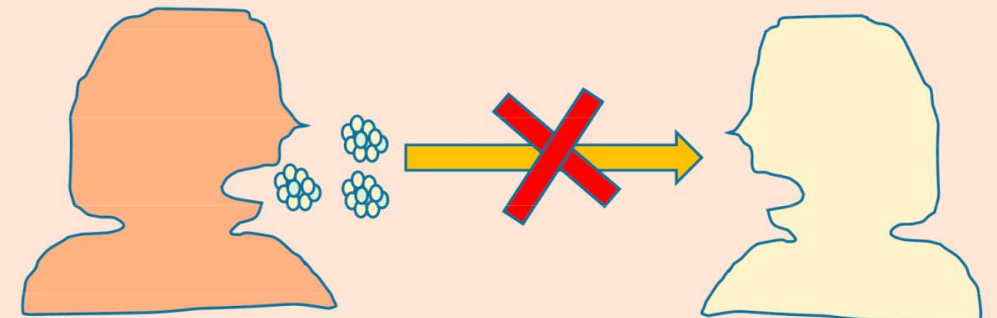
Convenience: orally bioavailable



Oral bioavailability (F)
= **50%** in rat

Fraction of oral dose absorbed from the gastrointestinal tract (Fa × Fg) = **95%** in rat


Prevention: prevent transmission to untreated sentinels




PAXLOVID™
(nirmatrelvir tablets;
ritonavir tablets),
co-packaged for oral use

ritonavir tablet
(100 mg)

Morning Dose
Take 3 tablets at
the same time.



nirmatrelvir
tablet
(150 mg)




PAA183750

PAXLOVID™
(nirmatrelvir tablets;
ritonavir tablets),
co-packaged for oral use

ritonavir tablet
(100 mg)

Evening Dose
Take 3 tablets at
the same time.



nirmatrelvir
tablet
(150 mg)

nirmatrelvir
tablet
(150 mg)

LOT:

NDC 0069-1085-01
Rx only

EXP:

For use under Emergency Use Authorization.

Dist. by Pfizer Labs, Div. of Pfizer Inc., New York, NY 10017

Εξ αιτίας της παρουσίας του ritonavir, υπάρχει πιθανότητα φαρμακευτικών αλληλεπιδράσεων.

Συνιστάται μειωμένη δοσολογία σε ασθενείς με μέτρια νεφρική ανεπάρκεια.

Απαγορεύεται η χορήγηση του φαρμάκου σε ασθενείς με σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια.

PAXLOVID™
(nirmatrelvir tablets;
ritonavir tablets),
co-packaged for oral use

ritonavir tablet
(100 mg)

Morning Dose
Take 3 tablets at
the same time.



nirmatrelvir
tablet
(150 mg)

COVAA-183750

PAXLOVID™
(nirmatrelvir tablets;
ritonavir tablets),
co-packaged for oral use

ritonavir tablet
(100 mg)

Evening Dose
Take 3 tablets at
the same time.



nirmatrelvir
tablet
(150 mg)

nirmatrelvir
tablet
(150 mg)

LOT:

NDC 0069-1085-06
Rx only

EXP:

For use under Emergency Use Authorization.

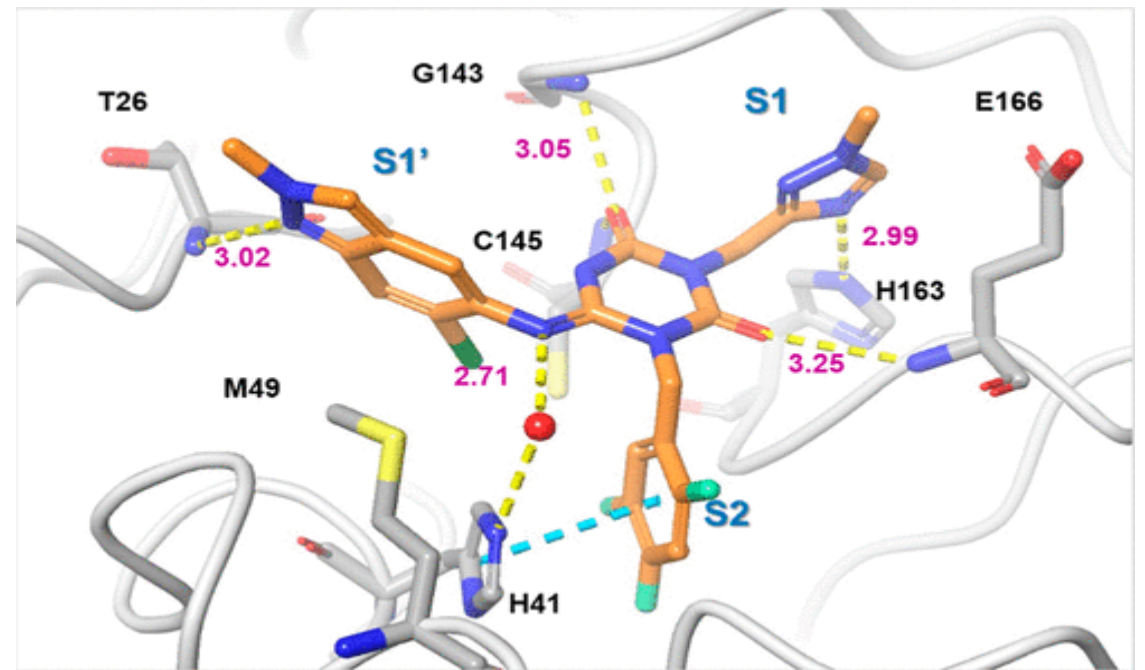
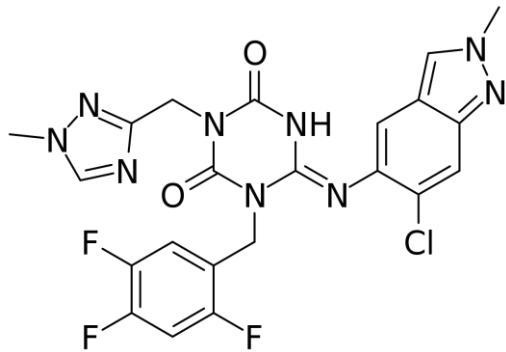
Dist. by Pfizer Labs, Div. of Pfizer Inc., New York, NY 10017

Moderate Renal Impairment Dosing COVSOD-STKR

Morning Dose: Take one nirmatrelvir tablet with one ritonavir tablet at the same time from the morning dose portion of the blister card (left half, yellow side).

Evening Dose: Take one nirmatrelvir tablet with one ritonavir tablet at the same time from the evening dose portion of the blister card (right half, blue side).

This package has been altered to accommodate your dose.

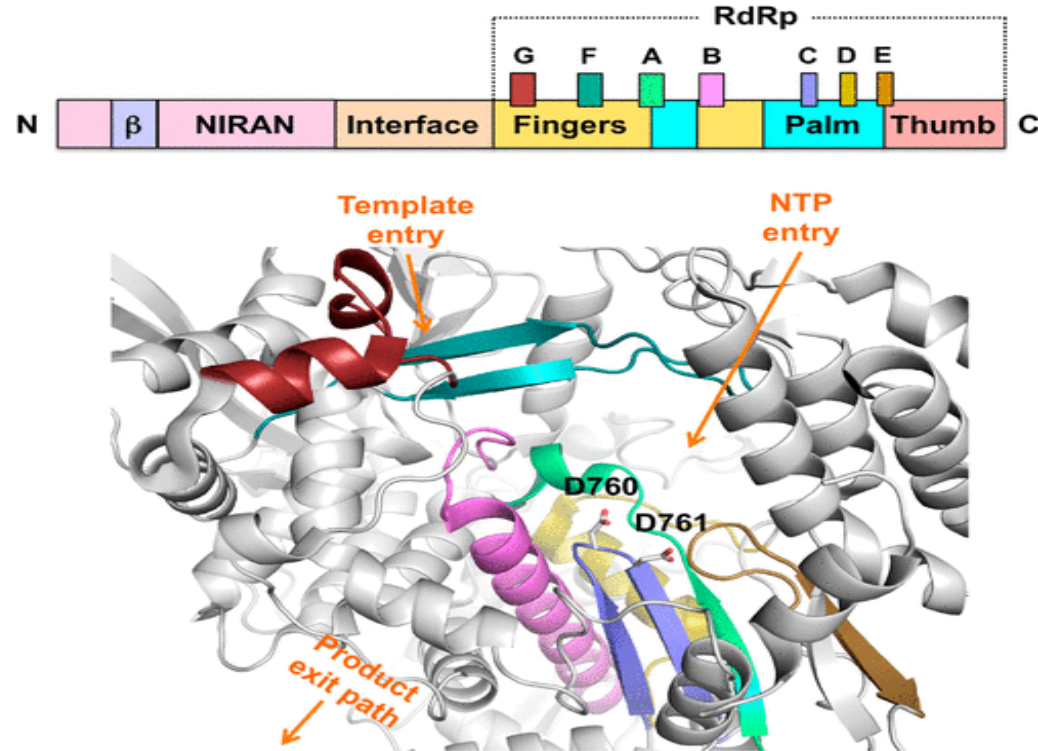


Το **Ensitrelvir** είναι ο πρώτος υψηλής δραστηριότητας μη πεπτιδικός αναστολέας της **Mpro**, που έλαβε άδεια κυκλοφορίας στην Ιαπωνία (Νοέμβριος 2022) και τις ΗΠΑ (Απρίλιος 2023). Ανακαλύφθηκε με τη συνεργασία της φαρμακευτικής εταιρείας Shionogi και του πανεπιστημίου Hokkaido.

Είναι φάρμακο δραστικό με χορήγηση από το στόμα, πολύ αποτελεσματικό για τη μείωση των συμπτωμάτων σε μέτριας και υψηλής σοβαρότητας νόσηση. Είναι μεταβολικά σταθερό, οπότε δεν χρειάζεται συγχορήγηση με μεταβολικό αναστολέα του κυτοχρώματος.

Μελετάται η αποτελεσματικότητά του και στην πρόληψη της «long COVID» νόσησης, των συμπτωμάτων που επιμένουν μετά την παρέλευση της οξείας φάσης.

Παράγωγα που αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό του ιικού γονιδιώματος. Αναστολείς της RNA-Dependent RNA πολυμεράσης (RdRp, nsp 12).



Η RdRp φαίνεται με λευκό χρώμα, εκτός από τα διατηρημένα μοτίβα (A-G) του ενεργού κέντρου, που χρωματίζονται ανάλογα με το επάνω εμφανιζόμενο διάγραμμα. Διακρίνονται τα καταλυτικά υπόλοιπα Asp760 και Asp761.

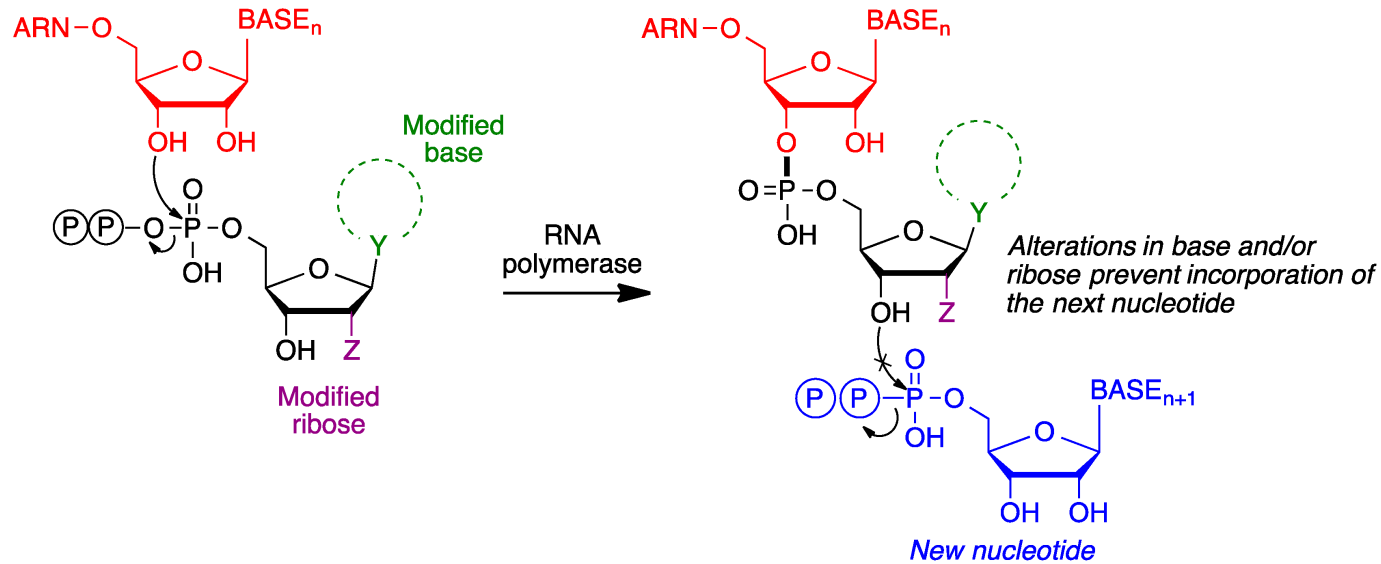
Η RdRp διατηρείται ισχυρά σε όλους τους RNA ιούς.

Τα τριφωσφορικά νουκλεοτίδια συνδέονται με δύο αντισταθμιστικά μεταλλοϊόντα, που συνδέονται επίσης με δύο συντηρημένα Asp υπόλοιπα. Η αμινοξική ακολουθία του ενεργού κέντρου διατηρείται πολύ ισχυρά γιατί σχετίζεται με τη καταλυτική λειτουργία του.

Το ένζυμο αυτό δεν έχει αντιστοιχία με ανθρώπινα ένζυμα και παίζει σημαντικό ρόλο για τον ιό. Σε προηγούμενες περιπτώσεις (αντιμετώπιση HIV και HCV) αποδείχθηκε ότι χρησιμεύει ως σημαντικό druggable target.

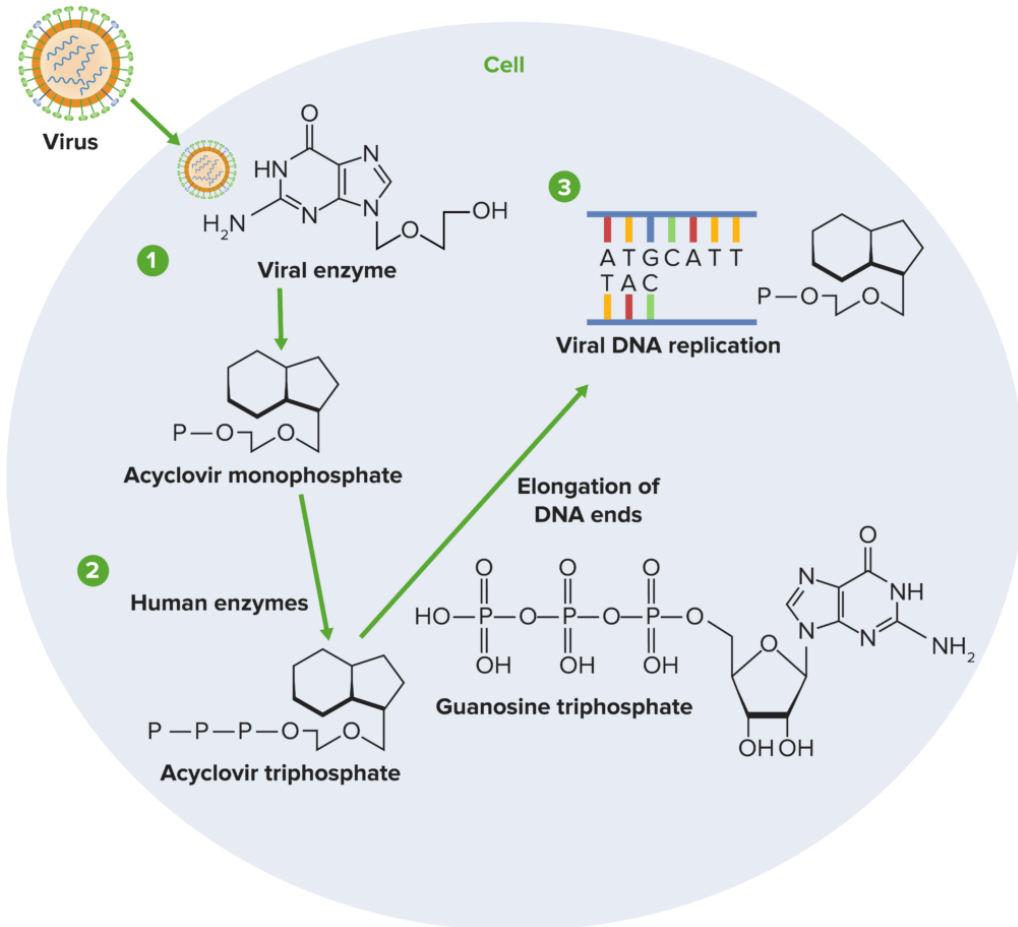
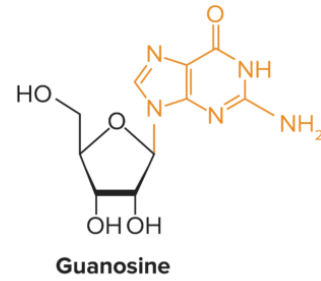
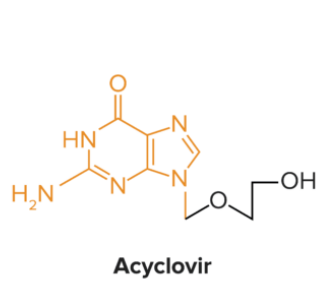
Δεν είναι τυχαίο το γεγονός της ανάπτυξης αναστολέων των ιικών πολυμερασών και της παρουσίας τους ως βασικών συστατικών των διαφόρων θεραπευτικών σχημάτων.

Growing RNA chain



Οι νουκλεοζιτικοί αναστολείς της RNA πολυμεράσης μοιάζουν με τους φυσικούς νουκλεοζίτες, δηλ με τις δομικές μονάδες του νουκλεϊνικού οξέος. Φέρουν μικρές τροποποιήσεις στην ετεροκυκλική βάση ή/και στο σακχαρικό τμήμα τους. Πρέπει να αναγνωρίζονται από τα μεταβολικά ένζυμα, για να μετατραπούν στο αντίστοιχο τριφωσφορικό νουκλεοτίδιο, το οποίο πρέπει να αναγνωρισθεί στη συνέχεια ως υπόστρωμα από την ιική RNA πολυμεράση, η οποία θα προσπαθήσει να το ενσωματώσει στην αλυσίδα που συνθέτει. Μηχανιστικά, οι αναστολείς εμπίπτουν στις εξής 3 κατηγορίες:

- **Υποχρωτικοί αναστολείς της επιμήκυνσης (obligate chain terminators):** επειδή δεν διαθέτουν 3'-OH.
- **Μη υποχρωτικοί αναστολείς της επιμήκυνσης (nonobligate chain terminators):** αν και διαθέτουν 3'-OH, η παρουσία υποκαταστατών στις θέσεις C-1' ή C-2', εμποδίζει τον σχηματισμό φωσφοδιεστερικού δεσμού με το επόμενο νουκλεοτίδιο.
- **Μεταλλαξιγόνο παράγοντες:** ενσωματώνονται στη θέση φυσικών νουκλεοτιδίων στο νουκλεϊνικό οξύ, αλλά προκαλούν λανθασμένη ενσωμάτωση βάσεων στη συμπληρωματική αλυσίδα (mismatch in base pairing). Προκύπτει αύξηση των μεταλλάξεων και μη βιώσιμα ιικά γονιδιώματα.

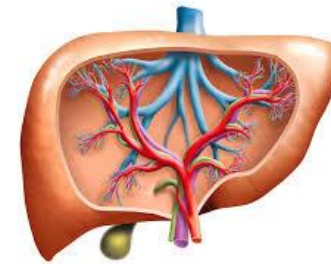
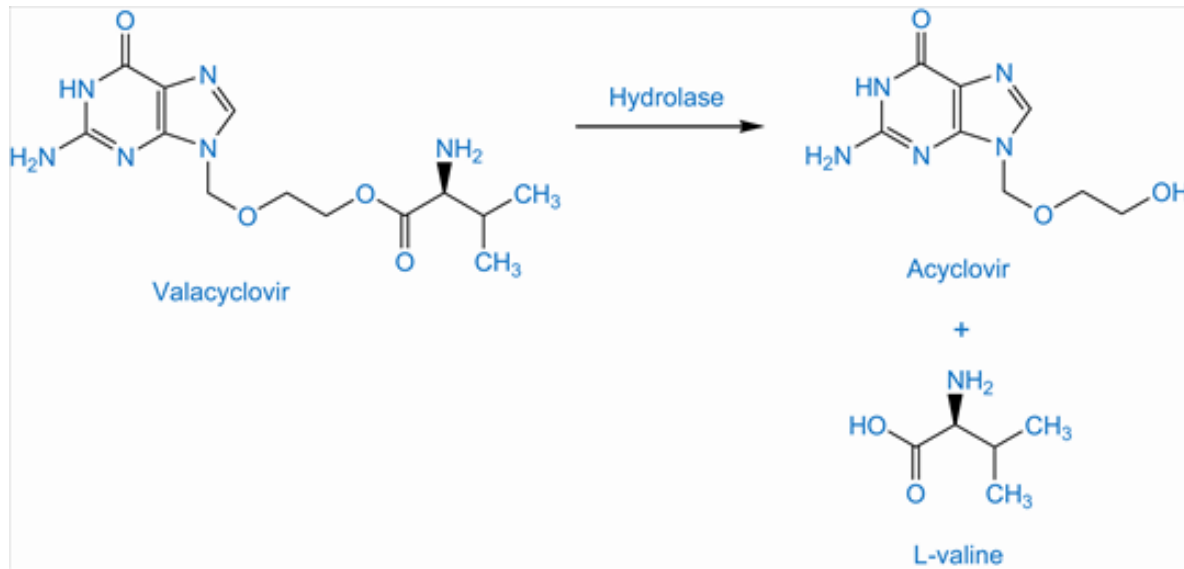


A gold standard

Το Acyclovir (ACV) υπήρξε το πρώτο συστηματικά χορηγούμενο αντιϊικό φάρμακο και χρησιμοποιείται έναντι μολύνσεων με ερπητοϊούς, HSV-1 και HSV-2 (επιχείλιος έρπητας, ανεμοβλογιά, έρπητας ζωστήρας).

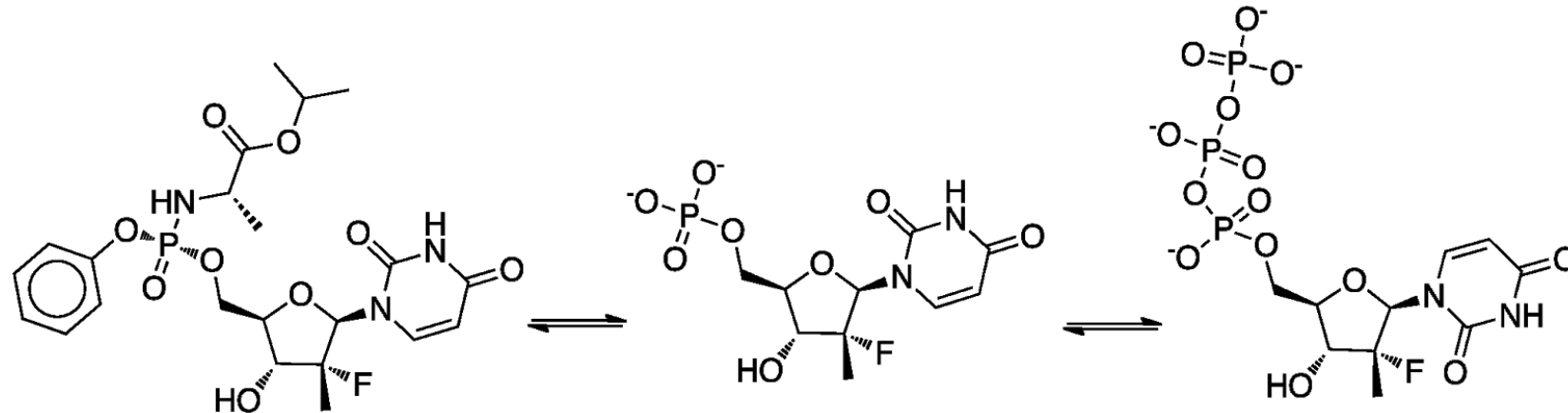
Μόνο στα μολυσμένα κύτταρα μετατρέπεται από την ιική κινάση θυμιδίνης στο μονοφωσφορικό νουκλεοτίδιο **(1)**. Με διαδοχικές φωσφορυλιώσεις προκύπτει το τριφωσφορικό νουκλεοτίδιο **(3)**. Το Acyclovir δεν διαθέτει 3'-OH και δρα ως chain terminator.

Μειονέκτημα: μέτρια φαρμακοκινητική συμπεριφορά

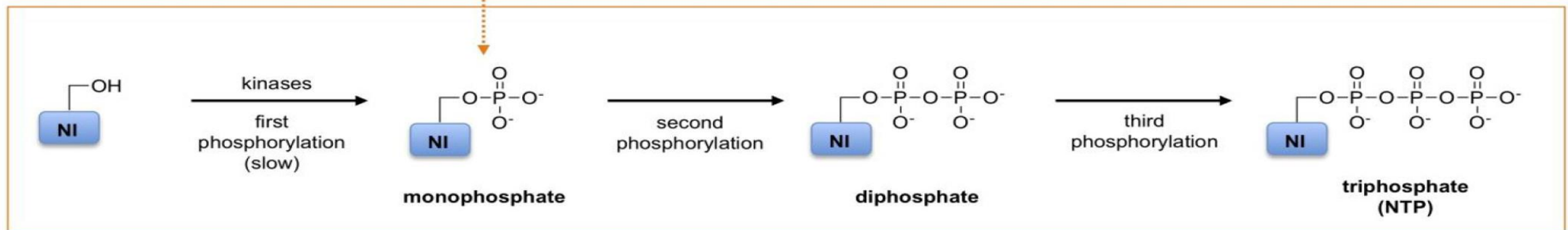
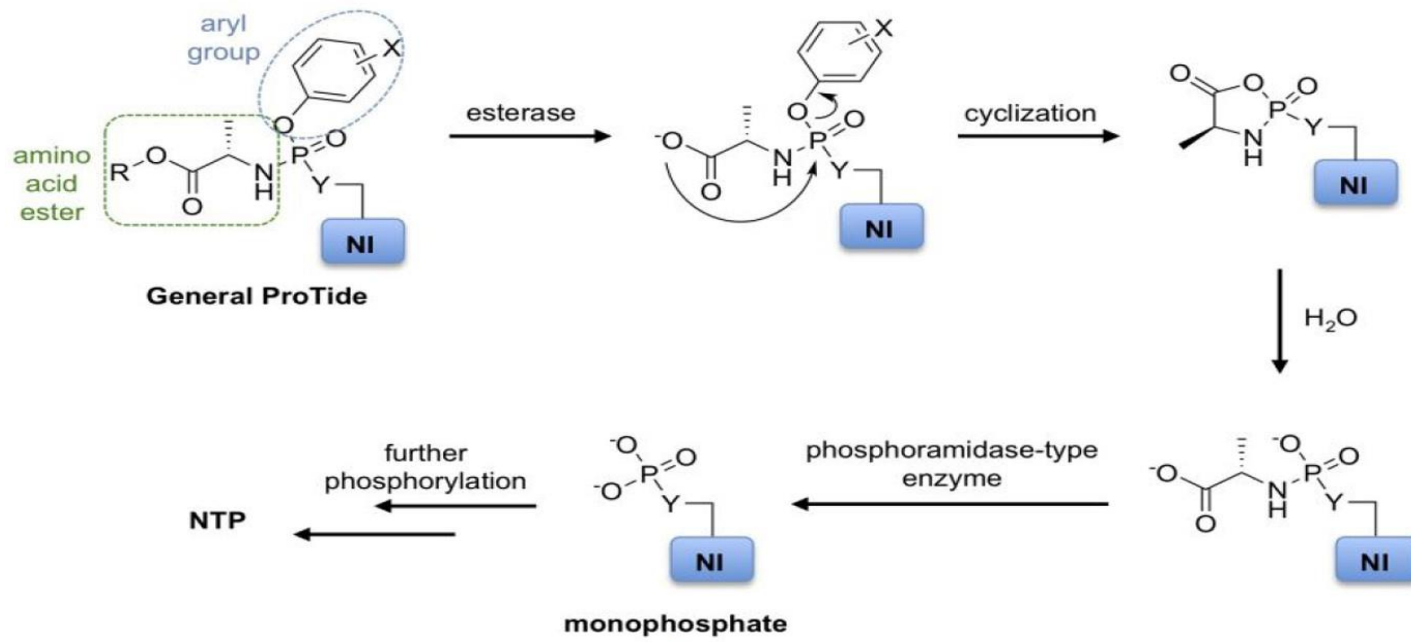


→ **Επιλύθηκε με την ανάπτυξη προφαρμάκων:** ο εστέρας με *L*-βαλίνη αναγνωρίζεται από τους μεταφορείς *L*-αμινοξέων (LAA transporters) και εισέρχεται στο κύτταρο, όπου μεταβολίζεται αποδίδοντας το φάρμακο και το μη τοξικό *L*-αμινοξύ.

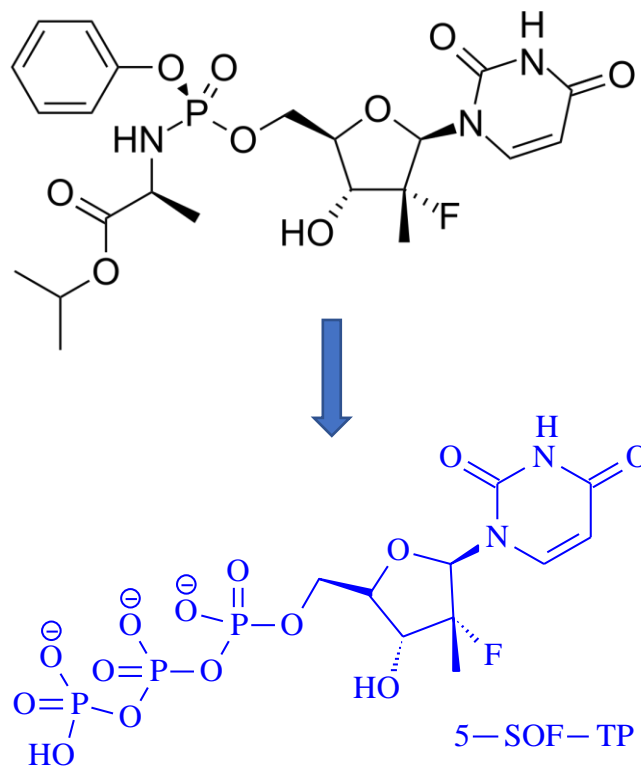
Μειονέκτημα των νουκλοεζιτικών παραγώγων: Η πρώτη φωσφορυλίωση είναι συχνά δύσκολη, αποτελεί το rate limiting step της μεταβολικής ενεργοποίησης. Τα μονοφωσφορικά νουκλεοτίδια είναι ασταθή και θετικά φορτισμένα στο φυσιολογικό pH, επομένως δεν διαπερνούν τις μεμβράνες.



Εφαρμογή της στρατηγικής ProTide (Prodrug + nucleotide): κατάλληλο φωσφοραμιδικό παράγωγο μπορεί να χρησιμεύσει ως προφάρμακο του αντίστοιχου μονοφωσφορικού νουκλεοτιδίου. Η τεχνική εφαρμόσθηκε με επιτυχία κατά την ανάπτυξη φαρμάκων έναντι της ηπατίτιδας. **Αυτά τα προφάρμακα δεν φέρουν φορτίο και εισέρχονται στο κύτταρο επειδή αναγνωρίζονται από τους μεταφορείς αμινοξέων.** Μεταβολίζονται αποδίδοντας εντός του κυττάρου το μονοφωσφορικό νουκλεοτίδιο, που μετατρέπεται χωρίς πρόβλημα στο δραστικό τριφωσφορικό παράγωγο.



Υδρόλυση του υποκαταστάτη του αμινοξέος, που καταλύεται από εστεράσες, αποδίδει καρβοξυλικό οξύ, που αμέσως θα κάνει πυρηνόφιλη προσβολή επί του φωσφόρου, με απομάκρυνση του φαινοξυανιόντος. Το κυκλικό ενδιάμεσο μοιάζει με μικτό ανυδρίτη και είναι ασταθές. Υδρολύεται προς παράγωγο αμινοξέος (αλανίνης), του οποίου ο δεσμός P-N διασπάται ενζυμικά (από φωσφοραμιδάσες) για να παραχθεί το μονοφωσφορικό νουκλεοτίδιο (NMP).

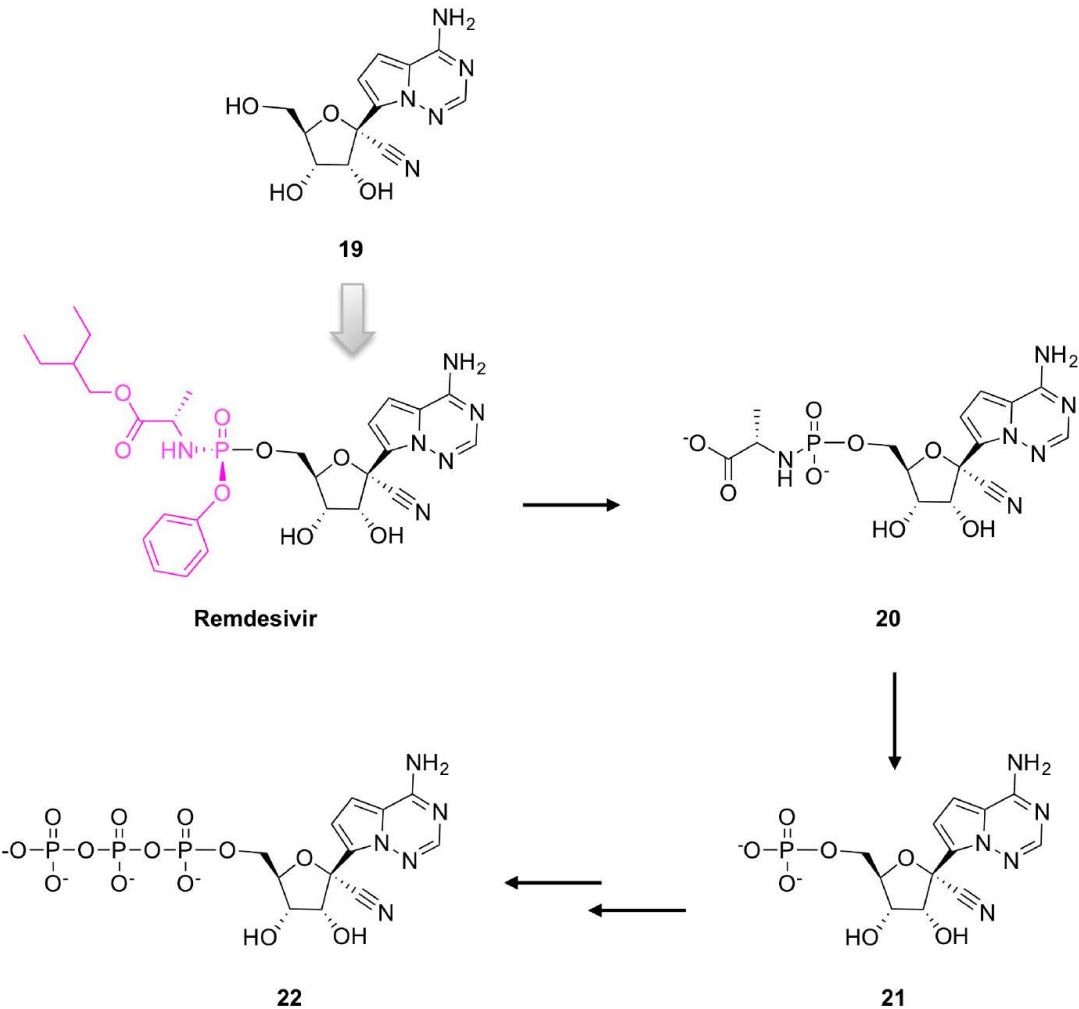


Sofosbuvir: το φάρμακο που βελτίωσε θεαματικά την αποτελεσματικότητα της θεραπείας έναντι του HCV αποδεικνύοντας ότι η χρόνια ηπατίτιδα μπορεί να θεραπευθεί.

Νουκλεοζιτικό παράγωγο ουριδίνης λαμβάνεται από το στόμα και μετατρέπεται επιτυχώς εντός των ηπατικών κυττάρων σε τριφωσφορικό νουκλεοτίδιο, που αναγνωρίζεται εκλεκτικά από την ιική RNA πολυμεράση. Είναι μη υποχρεωτικός chain terminator για το ιικό RNA.

Μεγάλο κόστος θεραπείας



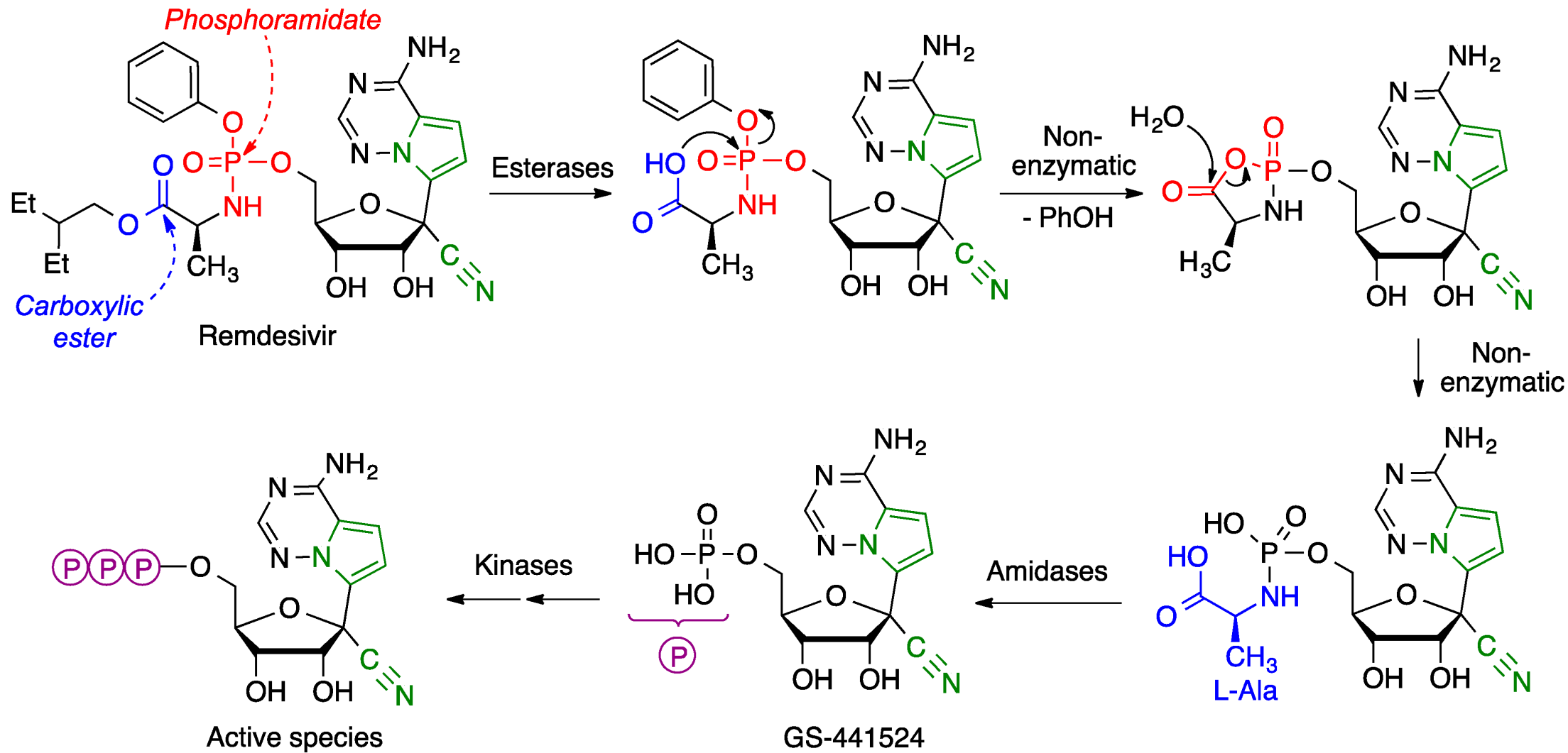


Ένα επιτυχές drug repurposing:

To Remdesivir αναπτύχθηκε αρχικά ως ανάλογο του Sofosbuvir έναντι HCV και RSV. Είναι ευρέως φάσματος, δραστικό έναντι κ.α. ιών όπως ο Ebola και ο SARS-CoV. Τον Οκτώβριο του 2020 έλαβε άδεια κυκλοφορίας από τον FDA για την ενέσιμη θεραπεία ασθενών με SARS-CoV-2.

Εισπνεόμενη φαρμακοτεχνική μορφή του Remdesivir βρίσκεται σε κλινική αξιολόγηση.

Το συγκεκριμένο ισομερές **ProTide** επιλέχθηκε για την επιτυχή απόδοση του δραστικού NMP in vivo, αλλά και την ευκολία λήψης με κλασματική κρυστάλλωση καθαρού του αντίστοιχου προφαρμάκου (ευκολία για την scale-up σύνθεση).



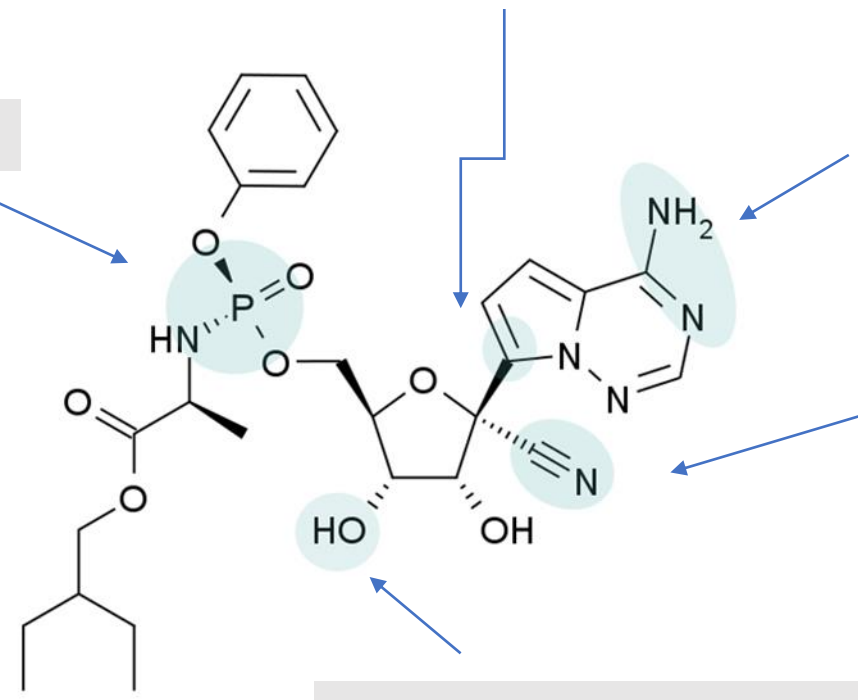
C-νουκλεοζίτης

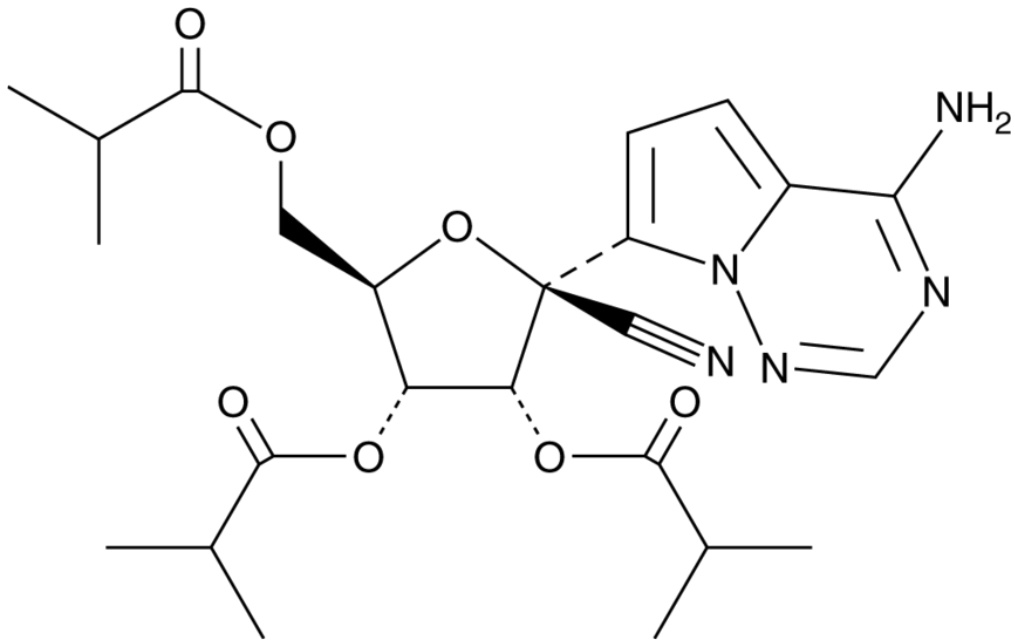
Φωσφοραμιδικό προφάρμακο

Ανάλογο αδεΐνης: ο πυρραζολοτριαζινικός δακτύλιος είναι βιοϊσοστερές αδεΐνης

Η παρουσία νιτριλίου στον ανωμερικό άνθρακα μειώνει την αναγνώριση από τις ανθρώπινες RNA πολυμεράσες.

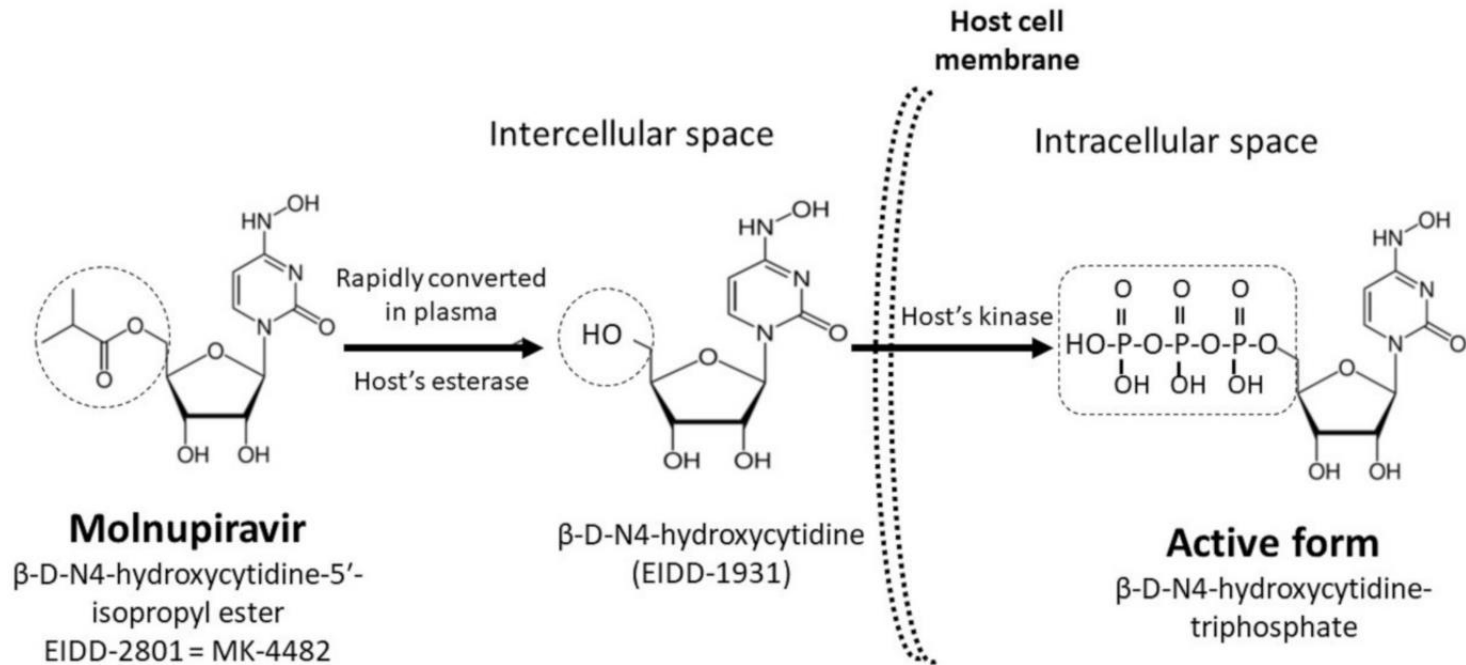
nonobligate chain terminator





• Το **GS-621763** είναι αποτελεσματικό in vivo ως αντιϊκό έναντι του COVID-19. Η ασφάλεια και αποτελεσματικότητα της χορήγησης του σε ανθρώπους ελέγχεται κλινικά, ώστε να προστεθεί στα διαθέσιμα από του στόματος χορηγούμενα παράγωγα, έναντι του ή άλλων ιών που θα προκύψουν στο μέλλον.

• *SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE* 22 Mar 2022
Vol 14, Issue 643



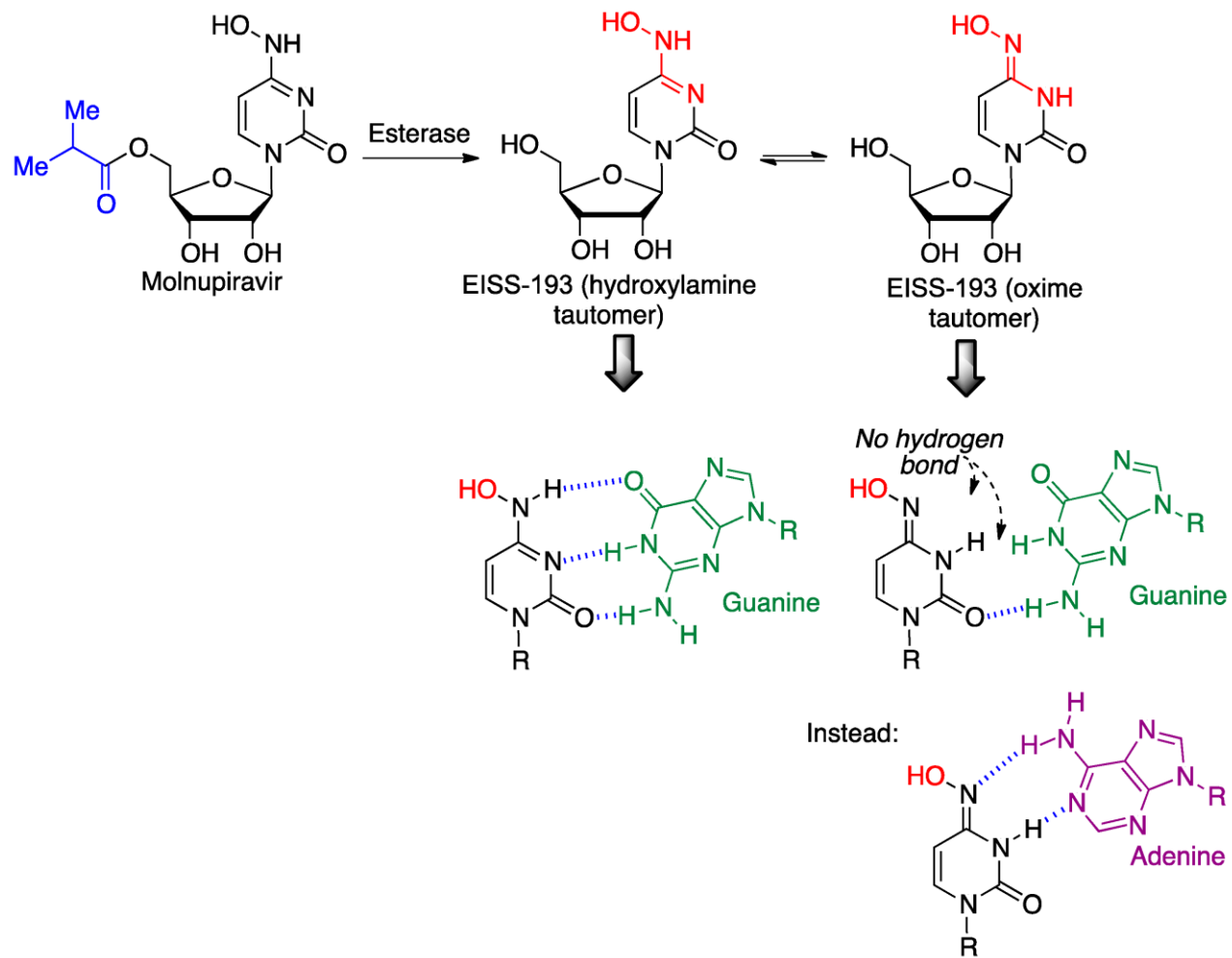
Άλλη περίπτωση drug repurposing: Το Molnupiravir αρχικά αναπτύχθηκε ως φάρμακο έναντι της influenza.

Είναι ο 5'-ισοβουτυρικός εστέρας του ριβονουκλεοζίτη της β-D-N4-υδροκυτιδίνης. Βιοδιαθέσιμο από το στόμα προφάρμακο του αντίστοιχου τριφωσφορικού νουκλεοτιδίου, που έχει δράση ευρέως φάσματος έναντι RNA ιών.

Μετά τη μεταβολική του ενεργοποίηση αναγνωρίζεται ως υπόστρωμα από την ιική RdRp και δρα ως μεταλλαξιγόνο παράγοντας, οδηγώντας σε συσσώρευση μεταλλάξεων που καθιστούν μη λειτουργικό το ιικό RNA.

Το **Molnupiravir** έλαβε από τον FDA άδεια κυκλοφορίας (emergency use authorization) τον Δεκέμβριο 2021 ως θεραπεία από το στόμα για μέτρια λοίμωξη από SARS-CoV-2. Απαγορεύεται η χορήγηση του σε εγκύους.

Δεν συνιστάται η εκτεταμένη χρήση του στον γενικό πληθυσμό, γιατί ενέχει τον κίνδυνο της επαγωγής μεταλλάξεων και δημιουργίας ανθεκτικών στελεχών του ιού.

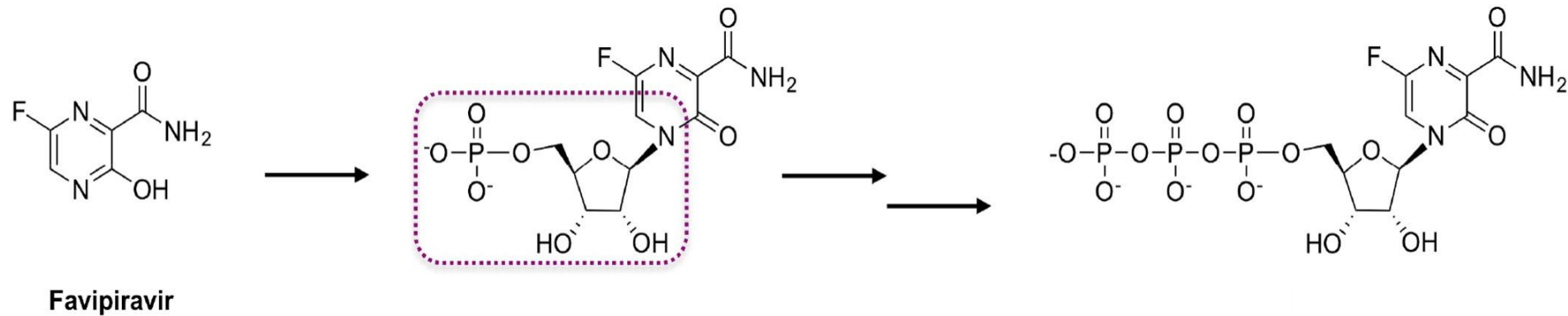


Δύο ταυτομερείς δομές του Molnupiravir βρίσκεται σε ισορροπία

- αυτή με δομή υδροξυλαμίνης, που σχηματίζει ζεύγος με την γουανίνη
- αυτή με δομή οξίμης, σχηματίζει ζεύγος καλύτερα με αδενίνη

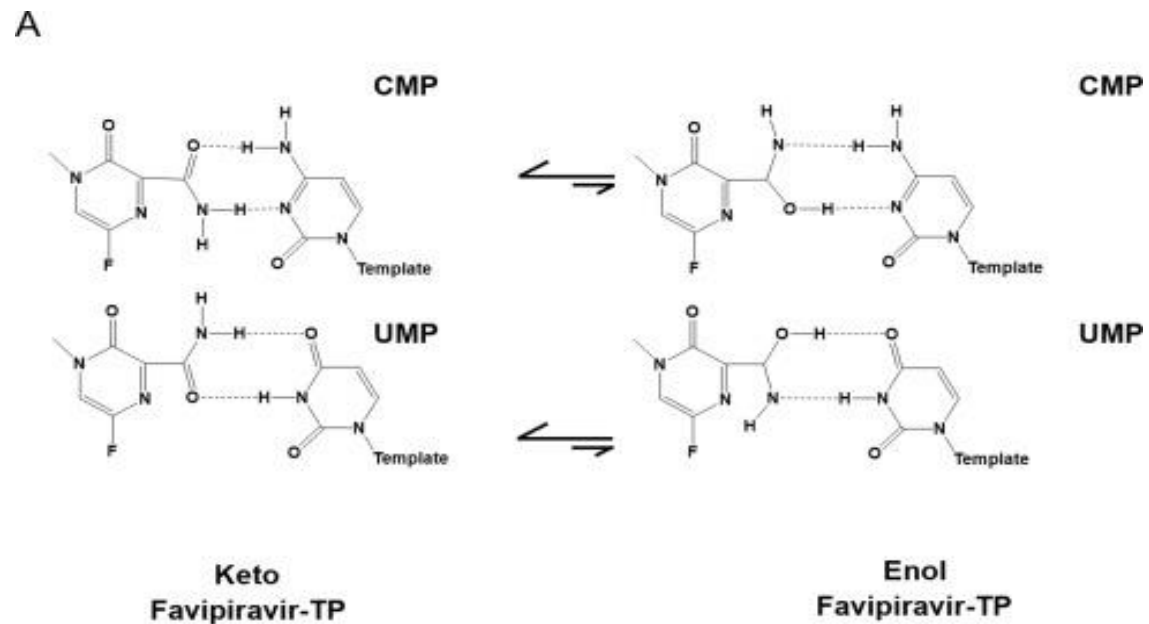
Εάν υπερισχύσει η δομή τύπου οξίμης στη συμπληρωματική αλυσίδα, δηλ απέναντι από το νουκλεοτίδιο του Molnupiravir, που αντικαθιστά κυτιδίνη, τοποθετείται νουκλεοτίδιο αδενίνης και συμβαίνει μετάλλαξη.

Nat. Struct. Mol. Biol. **2021**, *28*, 706–708



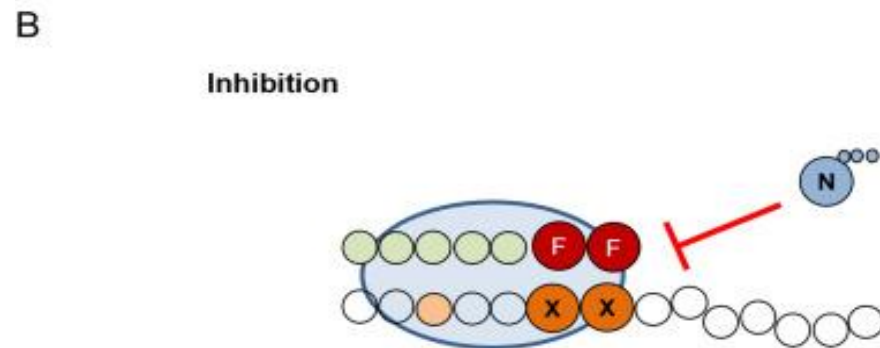
Ένα άλλο ευρέως φάσματος αντιικό φάρμακο έναντι RNA ιών είναι το **Favipiravir**, που χορηγείται **στην Ιαπωνία έναντι της influenza**. Είναι παράγωγο πυραζίνης, που προσομοιάζει την πυριμιδίνη των φυσικών βάσεων του νουκλεϊνικού οξέος και με ένζυμα των **purine salvage pathways** ριβοζυλιώνεται και φωσφορυλιώνεται ώστε να αναγνωρισθεί ως υπόστρωμα από την ιική πολυμεράση.

Favipiravir is thought to act as **chain terminator**. Δρα κυρίως ως μεταλλαξιγόνο, όπως φάνηκε σε in vitro πειράματα.



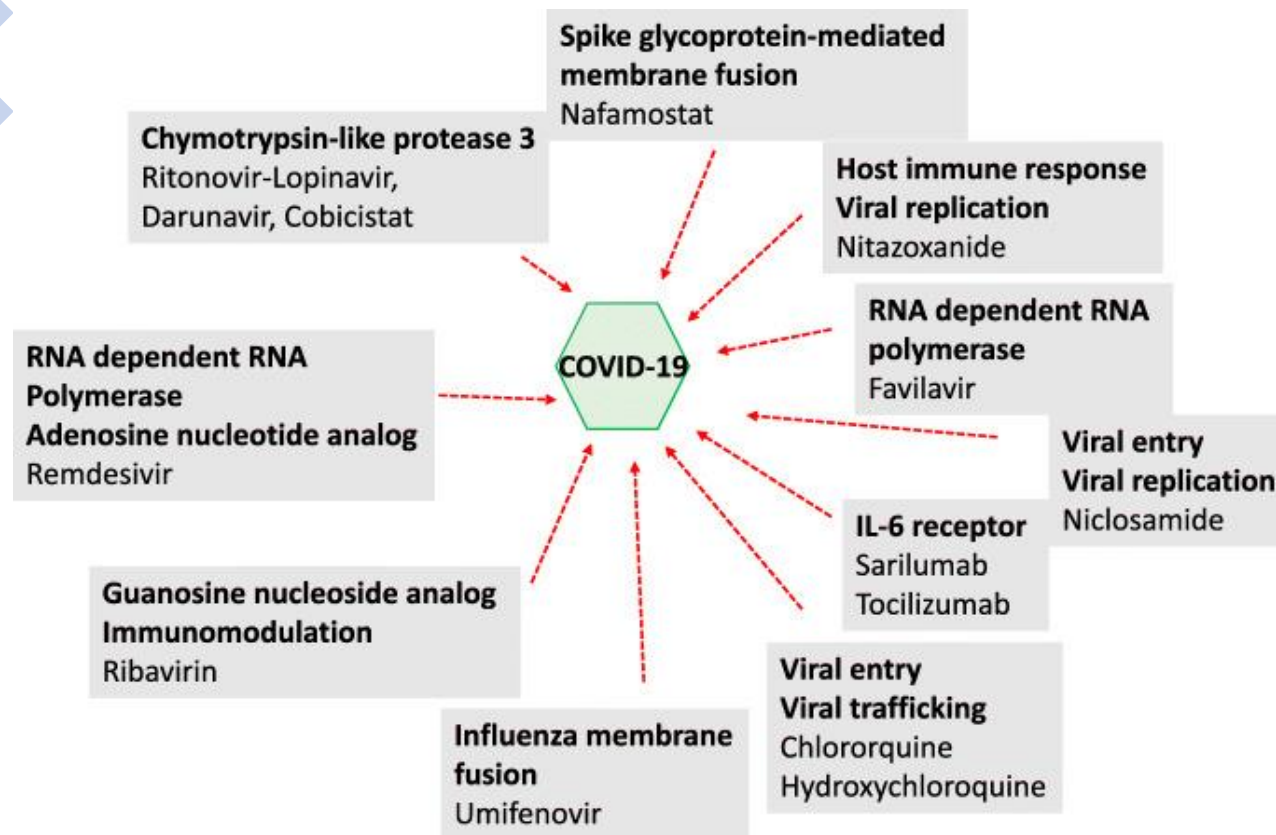
Are base-pair mutations the main causes of the antiviral properties of this drug?

Το Favipiravir μπορεί να αλληλοεπιδράσει σχηματίζοντας ζεύγος βάσεων υπό την ενολική ή την κετολική μορφή του. Η κετολική μορφή σχηματίζει ζεύγος με όλες τις βάσεις, επομένως η ενσωμάτωση του Favipiravir ευνοεί τις μεταλλάξεις.



Το Favipiravir έλαβε επείγουσα έγκριση στην Ιαπωνία, τη Κίνα, την Ινδία, τη Ρωσία κ.α. χώρες έναντι του COVID-19.

Τα κλινικά δεδομένα είναι ενθαρρυντικά και υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου, όμως οι δυτικές χώρες θεωρούν ότι χρειάζονται επί πλέον δεδομένα για να εγκρίνουν το φάρμακο.



Tardiora sunt remedia quam mala

Remedies are slower in their operation than diseases.

Cornelius Tacitus

Τα θεραπευτικά μέσα έναντι του COVID-19 παρουσιάζουν μέτρια αποτελεσματικότητα. Η ανάπτυξη φαρμάκων με επείγουσες διαδικασίες και το drug repurposing έσωσαν πολλές ζωές. Ωστόσο ο κίνδυνος δεν έχει περάσει. **Η ταχύτητα ανάπτυξης της πανδημίας απέδειξε ότι κανείς δεν μπορεί να αισθάνεται ασφαλής αν δεν είναι όλοι ασφαλείς.**

Με τη σχετική ανακοίνωση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) στις 5 Μαΐου 2023 κηρύχτηκε το τέλος της κατάστασης έκτακτης ανάγκης για την πανδημία, καθώς ο ιός που την προκαλεί τελεί υπό επαρκή έλεγχο.

Να σημειωθεί ότι από την αποφράδα μέρα της έναρξης της μέχρι και σήμερα **έχουν πεθάνει περίπου 7 εκατομμύρια ασθενείς** και έχουν καταγραφεί περισσότερα από 765 εκατομμύρια επιβεβαιωμένα κρούσματα.



Και όπως το Aids δεν εξαφανίστηκε, έτσι δεν θα πάψει να υπάρχει και η Covid-19 ολόγυρα μας, ως ένας συνεχιζόμενος εφιάλτης που δεν μας πετά πια όρθιους τα βράδια, αλλά και δεν πρόκειται ποτέ να μας αφήσει να κοιμηθούμε σε πλήρη ηρεμία...