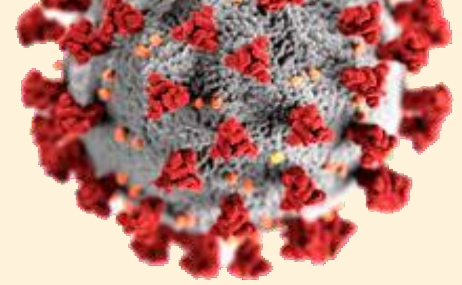


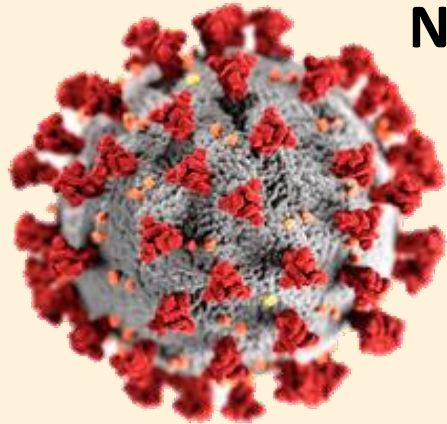


UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE
Corso di Laurea in Scienze Biologiche



**Nuovi scenari nel trattamento del COVID-19: Molnupiravir e
Nirmatrelvir/Ritonavir come agenti antivirali**

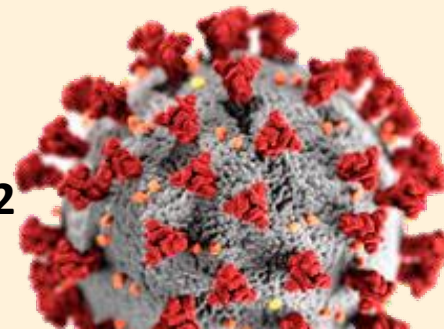
**New perspectives on antimicrobial agents: Molnupiravir and
Nirmatrelvir/Ritonavir for treatment of COVID-19**



Tesi di laurea di:
Anna Maria Gaggiano

Docente Referente
Prof.ssa Carla Vignaroli

**Sessione Autunnale
Anno accademico 2021/2022**



Riassunto

Atmar & Finch. New Perspectives on Antimicrobial Agents: Molnupiravir and Nirmatrelvir/Ritonavir for Treatment of COVID-19. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022 Aug 16;66(8):e0240421. doi: 10.1128/aac.02404-21.

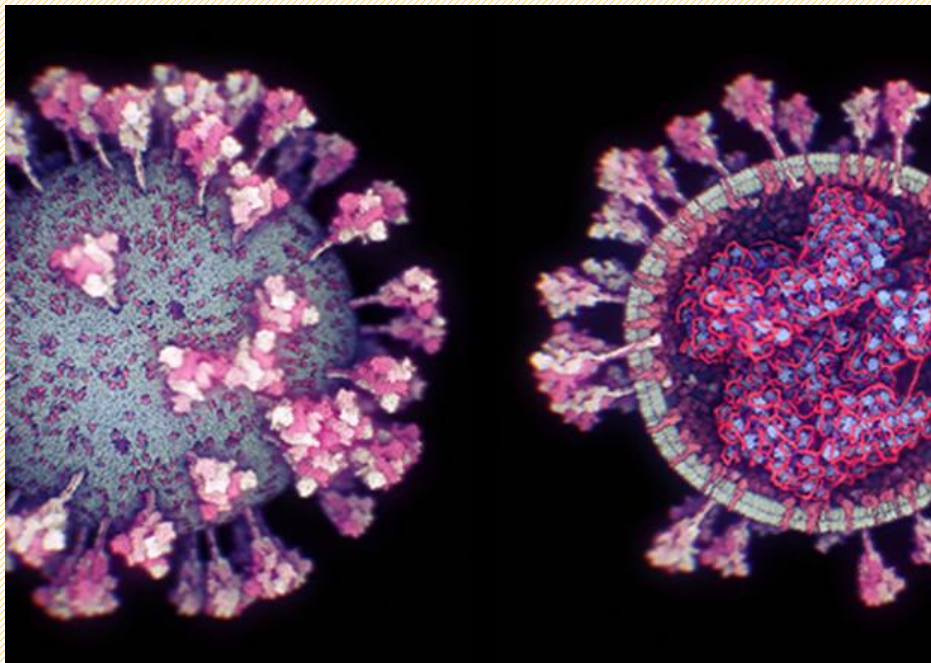
La pandemia provocata da SARS-CoV-2 e le sue conseguenze sociali, politiche, economiche nonché sulla salute dei cittadini hanno reso necessaria la ricerca di strategie per arginare gli effetti della diffusione di questo nuovo virus. In particolare, la ricerca farmaceutica si è focalizzata su alcune importanti proteine virali la cui attività poteva essere inibita da determinate molecole: in questo modo sono stati trovati i due farmaci utili al trattamento di pazienti a rischio con malattia da COVID-19 da lieve a moderata. I due farmaci, Nirmatrelvir/Ritonavir e Molnupiravir, hanno pertanto ricevuto l'autorizzazione all'uso in emergenza dalla FDA americana. Sono stati effettuati diversi studi sugli animali per valutare l'efficacia di questi farmaci. Gli studi per Nirmatrelvir hanno confermato la sua capacità di alleviare i sintomi, ridurre i titoli virali nel polmone ed impedire la trasmissione di SARS-CoV-2. Gli studi per Molnupiravir hanno affermato la sua efficacia sia a scopo preventivo sia scopo terapeutico e, come gli studi per Nirmatrelvir, hanno chiarito la sua efficacia nel diminuire i sintomi e la replicazione del virus nell'ospite, ma anche nell'evitare la trasmissione del virus. Paxlovid è costituito da compresse di Nirmatrelvir da 150 mg e da compresse di Ritonavir da 100 mg; Molnupiravir viene invece fornito come capsula da 200 mg. Entrambi i farmaci vengono assunti 2 volte al giorno per via orale per 5 giorni. Tuttavia, questi farmaci possono porre delle limitazioni riguardo al loro uso, ad esempio in pazienti pediatrici, donne in gravidanza, persone con insufficienza renale o con malattie epatiche. Efficacia e sicurezza di Nirmatrelvir/Ritonavir e di Molnupiravir sono state confermate anche da trial clinici randomizzati, in doppio cieco e controllati con placebo. Gli studi clinici hanno coinvolto pazienti adulti non ospedalizzati con COVID-19 lieve/moderata ed insorgenza dei sintomi entro 5 giorni dalla diagnosi oppure pazienti adulti ospedalizzati non in condizioni critiche: quest'ultimo gruppo di pazienti studiato ha permesso di ribadire l'importanza di somministrare questi farmaci in una fase precoce della malattia per riscontrare un effetto terapeutico.

L'auspicio per il futuro è quello di riuscire a chiarire gli effetti di questi farmaci su alcune popolazioni specifiche e di trovare terapie alternative per tutti i pazienti che non possono assumere Nirmatrelvir/Ritonavir e/o Molnupiravir. È auspicabile anche la conquista di una consapevolezza sugli effetti che questi farmaci potrebbero avere sui soggetti non a rischio con diagnosi di COVID-19 e su coloro che hanno avuto esposizioni ad alto rischio a persone infette.

Il coronavirus-2 della sindrome respiratoria acuta grave (SARS-CoV-2) è stato riconosciuto all'inizio del 2020 come causa di un'epidemia di polmonite a Wuhan, in Cina. Da quel momento SARS-CoV-2 si è diffuso in tutto il mondo provocando una pandemia che ha causato 394 milioni di persone infette e 5,7 milioni di morti. Questo ha portato alla ricerca di strategie per ridurre il rischio di infezione, malattia ed esiti gravi.



Coronavirus: China realiza casi 10 millones de pruebas de COVID-19 en Wuhan y solo 300 dan positivo | NNDC | MUNDO | PERU21



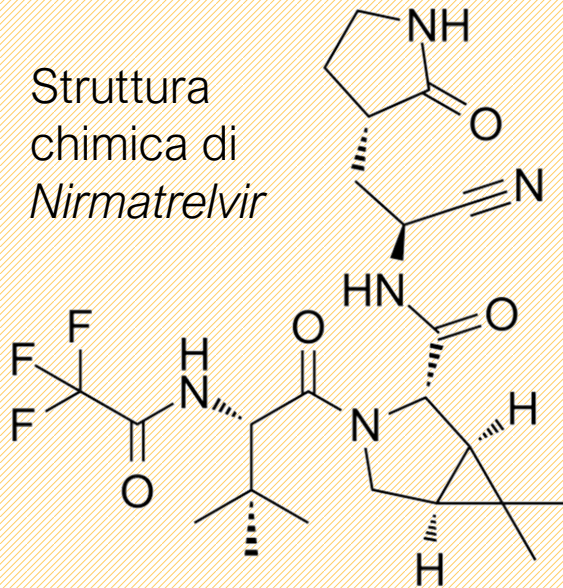
Coronavirus, ottenuta l'immagine 3D più dettagliata - Biotech - ANSA.it

SARS-CoV-2 è un Betacoronavirus appartenente alla famiglia dei Coronaviridae ed ha un genoma a singolo filamento positivo di RNA. Due proteine virali, la RNA Polimerasi RNA-dipendente (RdRp) e la proteasi virale sono state bersaglio terapeutico per SARS-CoV-2.

Due farmaci, **Molnupiravir** (Lagevrio, Merck) e una combinazione di **Nirmatrelvir** e **Ritonavir** (Paxlovid, Pfizer), hanno ricevuto l'autorizzazione all'uso in emergenza dalla Food and Drug Administration degli Stati Uniti per il trattamento della malattia da SARS-CoV-2 da lieve a moderata in persone ad alto rischio di progressione a forme gravi di COVID-19.

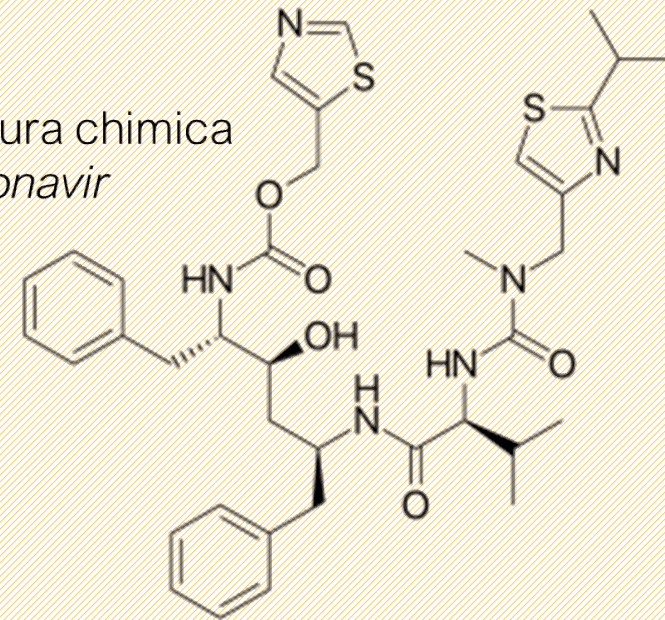
Nirmatrelvir inibisce la proteasi principale di SARS-CoV-2 e in questo modo impedisce l'elaborazione dei precursori delle poliproteine che sono fondamentali per la replicazione virale: senza elaborazione proteolitica, gli enzimi essenziali per la replicazione come RdRp non possono funzionare pienamente. Nirmatrelvir è coformulato con Ritonavir, un inibitore della proteasi dell'HIV-1 che è in grado di provocare un aumento delle concentrazioni plasmatiche di Nirmatrelvir.

Struttura
chimica di
Nirmatrelvir



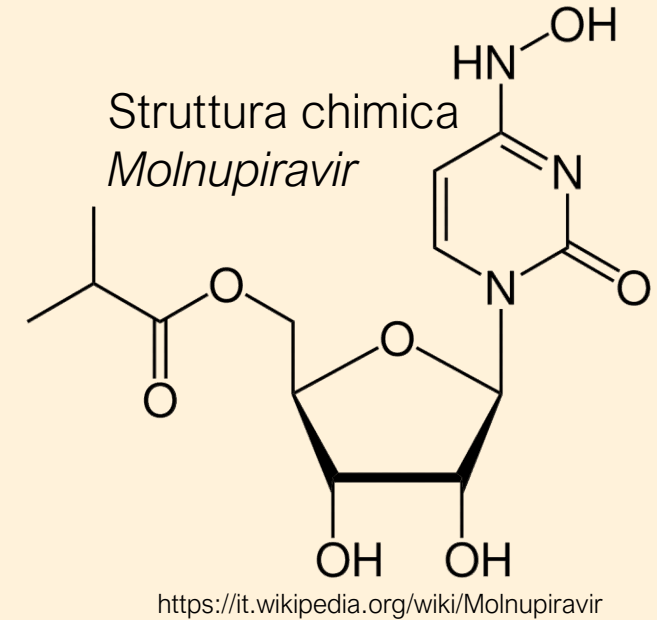
<https://www.medchemexpress.com/pf-07321332.html>

Struttura chimica
di *Ritonavir*



<https://it.wikipedia.org/wiki/Ritonavir>

Molnupiravir ha come bersaglio la polimerasi virale e provoca mutazioni letali nel virus durante la replicazione. Molnupiravir è un analogo nucleosidico, il che significa che imita alcuni degli elementi costitutivi dell'RNA. Quando SARS-CoV-2 entra in una cellula, ha bisogno di duplicare il suo genoma a RNA per formare nuovi virus; Molnupiravir viene incorporato nei filamenti di RNA in crescita e può cambiare la sua configurazione, imitando il nucleoside citidina o l'uridina, provocando mutazioni puntiformi. Quando le mutazioni si accumulano, la popolazione virale crolla. Questo meccanismo d'azione è chiamato "mutagenesi letale virale".

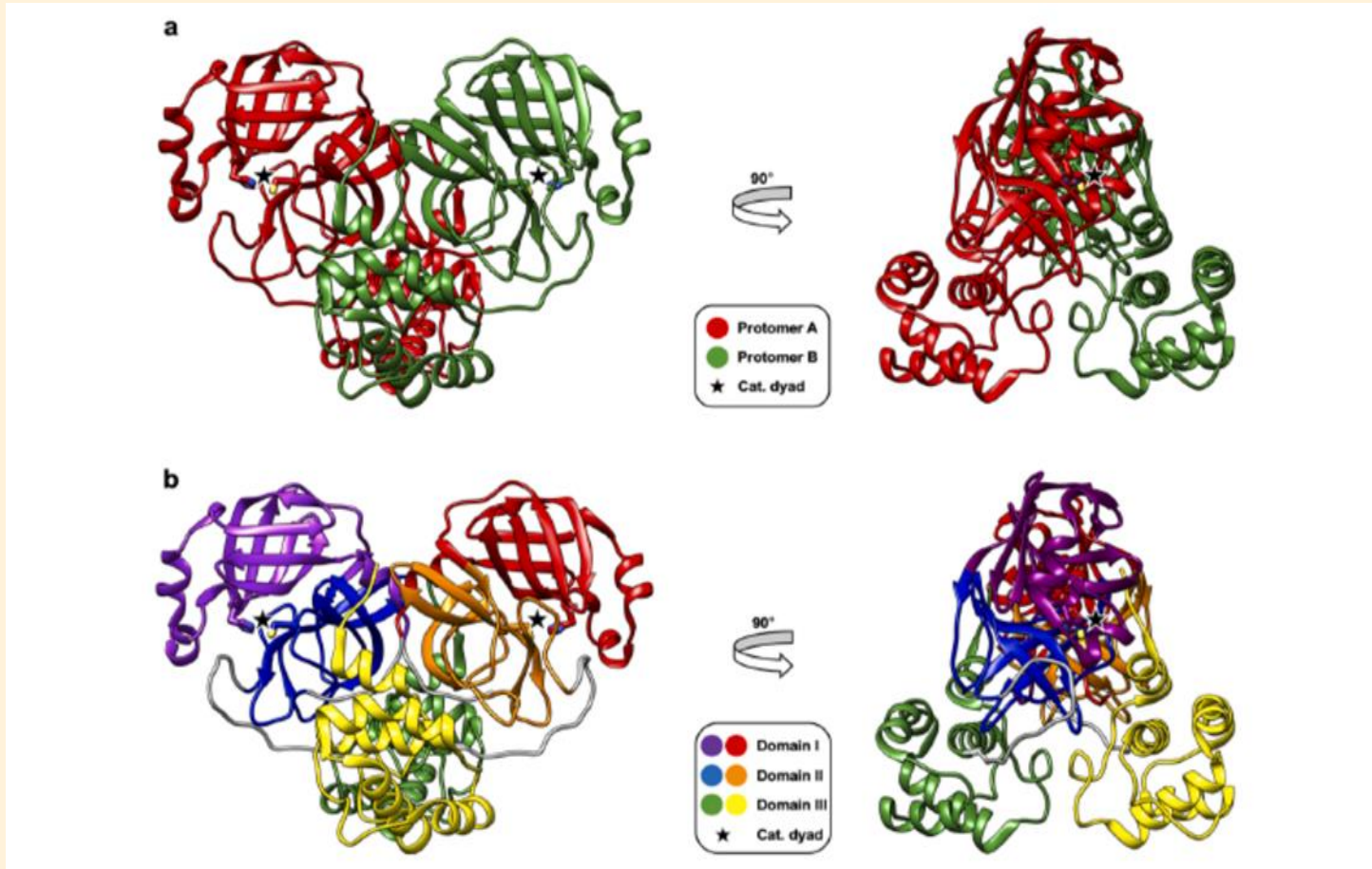


Spettro antivirale

Nirmatrelvir ha una potenza simile contro il ceppo originario di SARS-CoV-2 e contro le VOC (variants of concern) C.37 lambda, B.1.1.318, B.1.1.318, B.1.2, B.1.351 beta, B.1.1.529 omicron e P.2 zeta.

Molnupiravir ha un'ampia attività antivirale contro un gran numero di famiglie di virus a RNA, ma non inibisce la DNA polimerasi. I virus umani inibiti in vitro includono flavivirus (epatite C), filovirus (virus Ebola), orthomyxovirus (virus dell'influenza A e B), pneumovirus (RSV), coronavirus (stagionali, virus della sindrome respiratoria del Medio Oriente MERS e SARS-CoV-1 e -2) ed altri. Tra i ceppi di SARS-CoV-2, Molnupiravir è efficace sia contro il ceppo Wa-1 sia contro le VOC, tra cui alfa (B.1.1.7), beta (B.1.351), gamma (P.1), delta (B.1.617.2), lambda (C.37), mu (B.1.621) e omicron (B.1.1.529/BA.1 e BA.1.1).

La proteasi principale di SARS-CoV-2 come bersaglio farmacologico



Ullrich & Nitsche. The SARS-CoV-2 main protease as drug target. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Volume 30, Issue 17; 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127377>.

malattia. Sequenza e struttura di Mpro sono strettamente correlate a quelle di altri Betacoronavirus e, in generale, le proteasi virali sono bersagli farmacologici validati che hanno portato a vari farmaci approvati, ad esempio contro le infezioni croniche da HIV o HCV. Riproporre farmaci noti può fornire un percorso accelerato verso l'approvazione di farmaci nuovi contro SARS-CoV-2.

La proteasi principale del SARS-CoV-2 è considerata un promettente bersaglio farmacologico, poiché è dissimile dalle proteasi umane; infatti, Mpro taglia esclusivamente sequenze polipeptidiche dopo un residuo di glutammina e non sono note proteasi di cellule ospiti umane con questa specificità di substrato. La principale ORF presente nel genoma a RNA di SARS-CoV-2 codifica per due poliproteine sovrapposte, pp1a e pp1ab, che vengono tagliate dalla Mpro; enzimi essenziali per la replicazione non possono funzionare completamente senza un precedente rilascio proteolitico, posizionando Mpro come enzima chiave nel ciclo di replicazione virale. Di conseguenza, l'inibizione di questa proteasi può bloccare la produzione di particelle virali e quindi alleviare i sintomi della

Studi sugli animali

Un ceppo di SARS-CoV-2 adattato ai topi induce perdita di peso. Il trattamento con Nirmatrelvir ha impedito la perdita di peso e ha ridotto il titolo del virus nel polmone. Nirmatrelvir ha ridotto significativamente i titoli virali nel polmone dei criceti siriani infettati con le varianti beta e delta rispetto ai controlli non trattati; inoltre, la trasmissione della variante delta ad altri criceti in coabitazione con animali trattati non è stata osservata.

Il Molnupiravir è stato studiato in modelli animali di altre infezioni virali respiratorie prima di essere valutato per SARS-CoV-2.

Successivamente, per valutare gli effetti antivirali di Molnupiravir sono stati utilizzati diversi modelli animali di infezione da SARS-CoV-2.

- È stata utilizzata una chimera topo-uomo in cui il tessuto polmonare umano era stato impiantato sottocute in un topo immunodeficiente. Questo modello ha permesso di valutare la replicazione virale nel tessuto polmonare umano. Quando la somministrazione profilattica di Molnupiravir è stata iniziata 12 ore prima dell'inoculazione del tessuto polmonare umano con SARS-CoV-2, i titoli del virus negli impianti polmonari umani erano più bassi 48 ore dopo l'infezione rispetto ai controlli non trattati. Sono state riscontrate riduzioni significative delle cariche virali nel tessuto polmonare anche quando la terapia con Molnupiravir è stata iniziata 24 o 48 ore dopo l'inoculazione del tessuto polmonare.

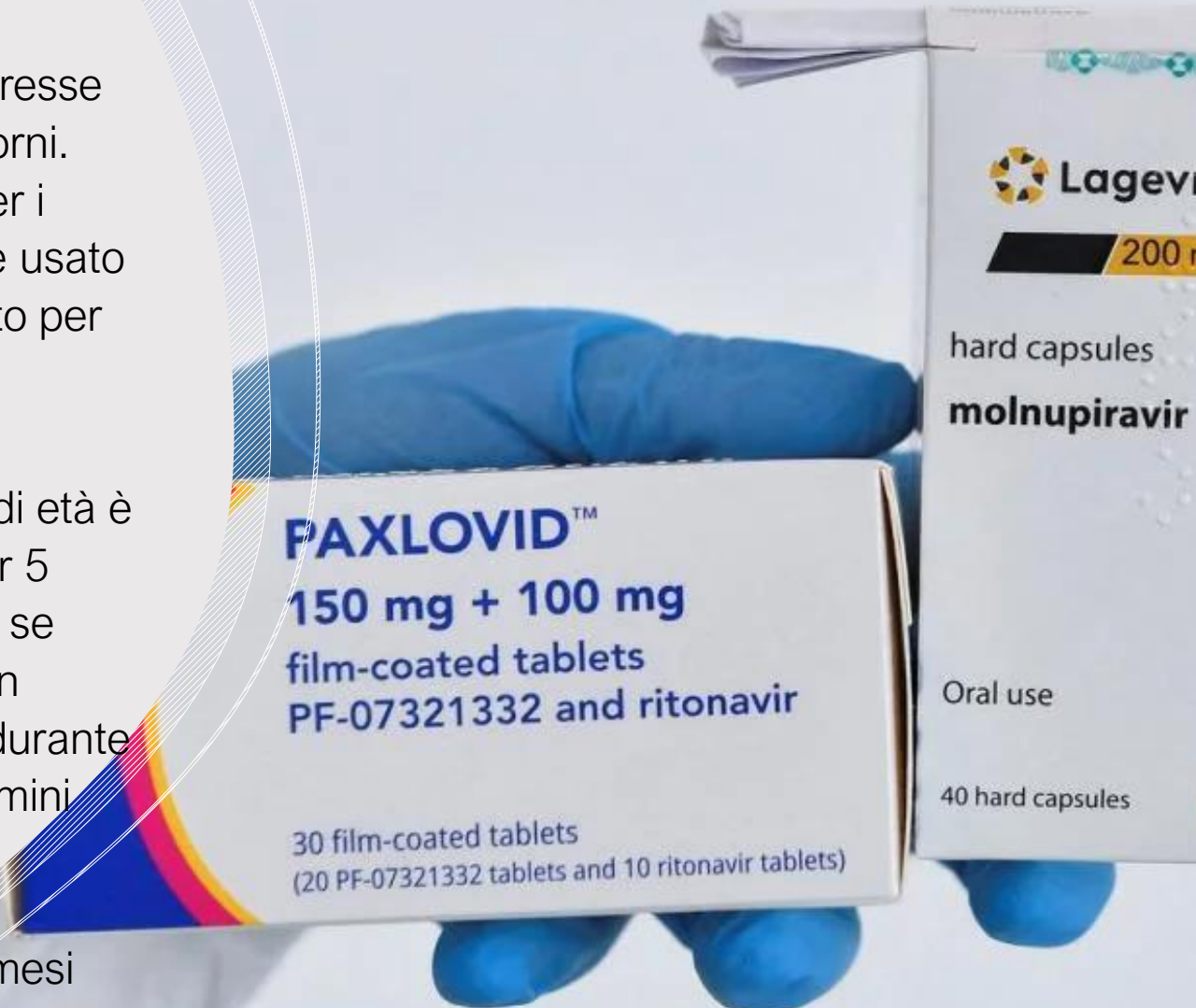
- I criceti siriani possono essere infettati con SARS-CoV-2, ma presentano una scarsa sintomatologia clinica, pertanto fungono da ulteriore modello in vivo di replicazione virale. Il Molnupiravir ha ridotto significativamente i titoli virali nel polmone al quarto giorno di studio, quando è stato somministrato 12 ore prima (a scopo profilattico) o 12 ore dopo (a scopo terapeutico). Effetti antivirali simili sono stati osservati quando la terapia con Molnupiravir è stata iniziata 1 ora prima dell'inoculo con le varianti alfa e beta.

- I furetti presentano sintomi clinici minimi con l'infezione da SARS-CoV-2, a parte una transitoria perdita di peso, per cui anch'essi sono utilizzati come modello in vivo di replicazione virale. Il Molnupiravir, somministrato a partire da 12 ore dopo l'inoculazione con il ceppo Wa-1, ha soppresso completamente la diffusione del virus infettivo entro 24 ore dal trattamento. Inoltre, ha impedito la trasmissione del virus ad altri furetti coabitanti con il furetto infettato e trattato; al contrario, i contatti dei furetti non trattati sono stati tutti infettati.

Dosaggio dei farmaci e popolazioni specifiche

Paxlovid è costituito da compresse di Nirmatrelvir da 150 mg combinate con compresse di Ritonavir da 100 mg. L'attuale dosaggio raccomandato per le persone di almeno 12 anni di età e con un peso di almeno 40 kg è di 300 mg di Nirmatrelvir (2 compresse) con 100 mg (una compressa); tutte e tre le compresse devono essere assunte per via orale 2 volte al giorno per 5 giorni. Nirmatrelvir/Ritonavir richiede un aggiustamento della dose per i pazienti con moderata insufficienza renale, ma non dev'essere usato in persone con grave disfunzione renale e non è raccomandato per le persone con malattia epatica grave.

Molnupiravir viene fornito come capsula da 200 mg. La dose attualmente raccomandata per gli adulti a partire dai 18 anni di età è di 800 mg (4 capsule) da assumere per bocca ogni 12 ore per 5 giorni. Molnupiravir può comportare un rischio di danno fetale se somministrato durante la gravidanza, pertanto nelle donne con potenziale fertile si deve usare una contraccezione affidabile durante il trattamento e per 4 giorni dopo la fine della terapia; negli uomini sessualmente attivi con potenziale riproduttivo e partner con potenziale fertile, si raccomanda l'uso di metodi contraccettivi affidabili durante l'assunzione di Molnupiravir e per almeno 3 mesi dopo la dose finale del trattamento.



Dati clinici

L'efficacia di Nirmatrelvir/Ritonavir è stata valutata in adulti non ospedalizzati in uno studio di fase 2/3 randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo. I pazienti avevano una diagnosi di COVID-19 confermata con insorgenza dei sintomi entro 5 giorni e avevano almeno un fattore di rischio per la progressione a malattia grave. Si sono verificati 12 decessi tra i pazienti che hanno ricevuto il placebo e nessun decesso nel gruppo Nirmatrelvir/Ritonavir.

Sicurezza ed efficacia di Molnupiravir sono state valutate in uno studio clinico randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo e condotto su una popolazione adulta non ospedalizzata con COVID-19 da lieve a moderata. I partecipanti sono stati randomizzati a ricevere 200 mg, 400 mg o 800 mg di Molnupiravir o placebo per 2 volte al giorno per 5 giorni. 7 delle 225 persone randomizzate a uno dei gruppi di Molnupiravir sono state ricoverate in ospedale rispetto a 4 ricoverati su 74 destinatari di placebo. Le frequenze di ospedalizzazione erano simili tra i gruppi di dosaggio di Molnupiravir. Uno studio di fase 2 randomizzato, controllato con placebo e in doppio cieco su Molnupiravir è stato condotto anche su pazienti ospedalizzati non in condizioni critiche. Lo studio ha valutato gli stessi gruppi di dosaggio del farmaco dello studio precedente. Non è stato osservato alcun beneficio clinico di Molnupiravir, con un tempo mediano di guarigione di 9 giorni in tutti i gruppi di trattamento. Poiché $\frac{3}{4}$ dei partecipanti erano malati da più di 5 giorni, il team dello studio ha concluso che la mancanza di un chiaro effetto terapeutico era dovuta all'inizio della terapia in una fase più avanzata della malattia.

Conclusioni

L'utilità di Molnupiravir è limitata dalla minore efficacia riportata nel prevenire l'ospedalizzazione rispetto ad altre terapie ambulatoriali e dalla sua potenziale tossicità nei bambini e nelle donne in gravidanza. Nirmatrelvir/Ritonavir ha un'efficacia maggiore nel prevenire le ospedalizzazioni, ma presenta caratteristiche per le quali alcuni pazienti non possono assumerlo. Tuttavia, la disponibilità di questi nuovi farmaci dovrebbe facilitare la gestione dei pazienti ad alto rischio con COVID-19 precoce. Studi futuri dovranno valutare l'eventuale utilità di questi farmaci in popolazioni pediatriche e altamente immunocompromesse e in quelle che hanno una certa immunità alla SARS-CoV-2 attraverso una precedente vaccinazione o infezione. Gli studi valuteranno anche l'efficacia dei farmaci per il trattamento della malattia in persone non a rischio di progressione a malattia grave e come agenti profilattici, ad esempio dopo esposizioni ad alto rischio a persone con infezione da SARS-CoV-2. Infine, è necessario sviluppare ulteriori farmaci orali che non presentino le limitazioni di questi, per farne un uso più diffuso.