



ANTIVIRALI

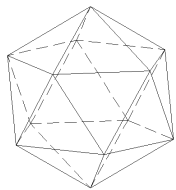
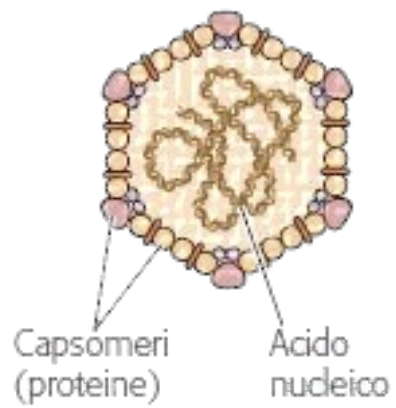
Virus

- **Parassiti intracellulari obbligati**
- Possibile produzione di virioni sfruttando la cellula ospite per progenie
- Piccole dimensioni (0.02-0.4 μm)
- Costituiti da **materiale genetico** formato da **un solo acido nucleico** (RNA o DNA)
- Rivestimento di natura proteica
 - Protezione del genoma virale
 - Mediazione della penetrazione virale intracellulare
- NO ribosomi
- NO sistemi enzimatici per la produzione di energia
- **Poche (anche due) proteine non strutturali** per la replicazione virale
- Sfruttamento delle proteine cellulari

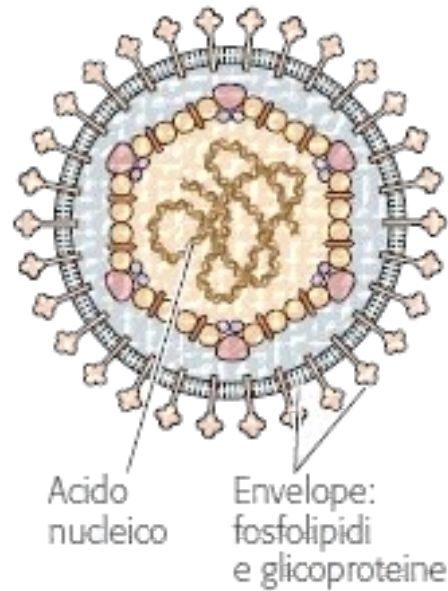
- **Agenti infettivi responsabili di numerose patologie umane e animali**

Virus

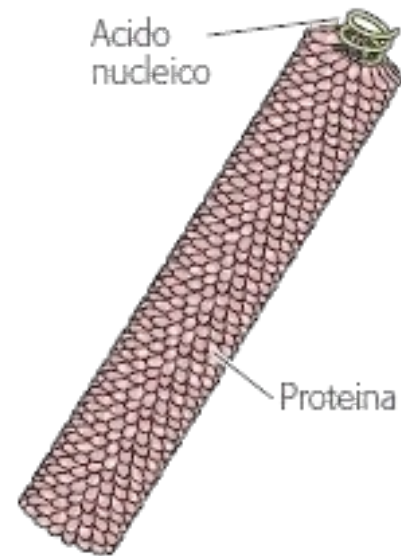
Nucleocapside icosaedrico



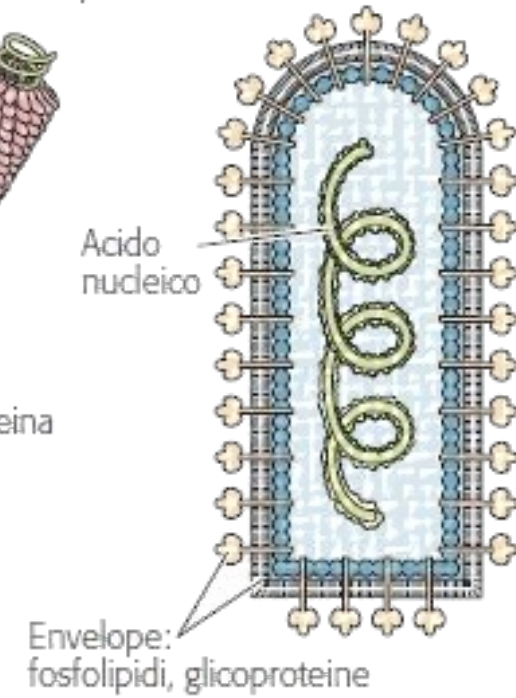
Icosaedrico con envelope



Elicoidale senza envelope



Elicoidale con envelope



Virus

Core

- Acido nucleico più ogni molecola che ne determina la stabilità

Capside

- Struttura proteica che racchiude l'acido nucleico o il core

Capsomero

- Unità proteica che, ripetuta, forma il capsidico icosaedrico (simmetria icosaedrica a forma sferica)

Nucleocapside

- Acido nucleico più capsidico

Envelope

- Involucro lipoproteico esterno (pericapsidico o peplos)

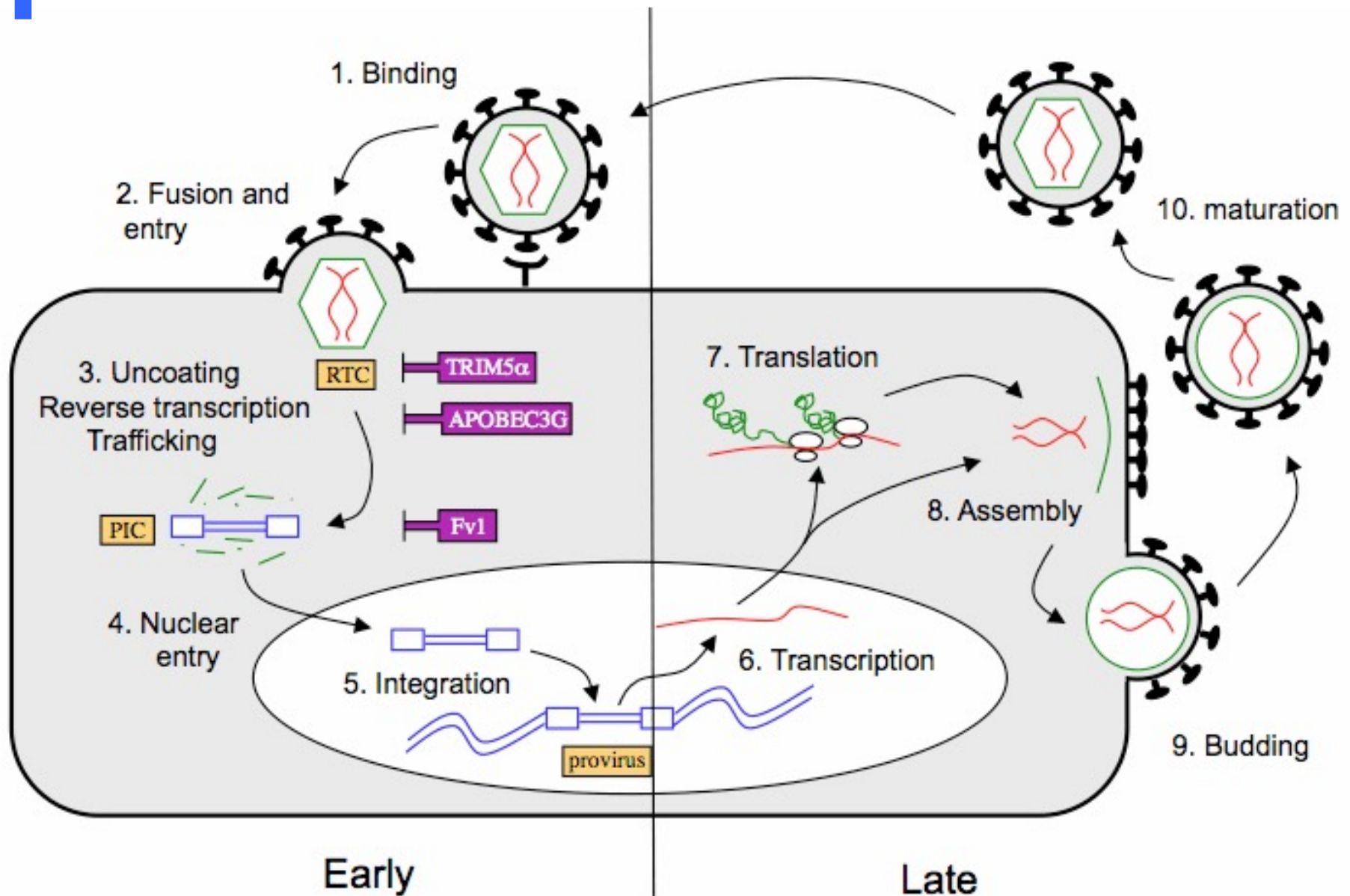
Peplomeri

- Proiezioni superficiali che protrudono dall'-envelope

Virione

- Particella virale completa liberata al di fuori della cellula

Replicazione virale



Virus

- **DNA a doppio filamento:**
 - Replicazione nel nucleo - Trascrizione (polimerasi cellulare o virale)
- **DNA a singolo filamento:**
 - Sintesi del filamento complementare (polimerasi cellulare).
Replicazione acido nucleico virale. Trascrizione del genoma.
Sintesi componenti virali
- **RNA a doppio filamento:**
 - RNA segmentato – Trascrizione (polimerasi virale) in mRNA separati. mRNA: tradotto (proteine strutturali). Assemblaggio parziale (stampo per la sintesi di filamenti complementari)
- **RNA a singolo filamento con polarità (+):**
 - RNA (stessa polarità dell'mRNA). Sintesi di un'unica poliproteina - processata in proteine virali strutturali. Polimerasi per formazione di RNA genomico

Virus

- **RNA a singolo filamento con polarità (+):**
 - RNA (stessa polarità dell'mRNA). Sintesi di un'unica poliproteina - processata in proteine virali strutturali. Polimerasi per formazione di RNA genomico
- **RNA a singolo filamento con polarità (-):**
 - RNA (NO messaggero). Trascrizione in mRNA (polimerasi virale). RNA: stampo per trascrizione e replicazione (genoma segmentato)
- **Retrovirus:**
 - trascrizione RNA virale in DNA virale (**DNA-polimerasi RNA dipendente o trascrittasi inversa**). DNA stampo per filamento complementare. DNA a doppio filamento integrato nel genoma virale (provirus). Segue poi la ritrascrizione del DNA virale integrato (polimerasi cellulare). Produzione di RNA genomico e di mRNA più piccoli, traduzione per poliproteine strutturali

Antivirali

- Trattamento delle infezioni virali
- Trattamento **effettuato agli inizi dell'infezione**
- NO certezza di efficacia verso forme dormienti e/o non replicanti
- **NO alternativa all'immunizzazione profilattica** a lungo termine (vaccini)
- Antivirali, in associazione con trattamento sintomi, efficaci in un certo numero di infezioni, tra cui
 - * Influenza – Orthomyxoviridae (influenza dell'uomo A e B)
 - * Raffreddore comune – Picornaviridae (rhinovirus)
 - * Infezioni erpetiche – Herpesviridae (herpes simplex, varicella-zoster, citomegalovirus, *Epstein-Barr*)
 - * Epatiti – Picornaviridae (epatite A e C,) Hepadnaviridae: epatite B
 - * AIDS – Retroviridae (HIV)

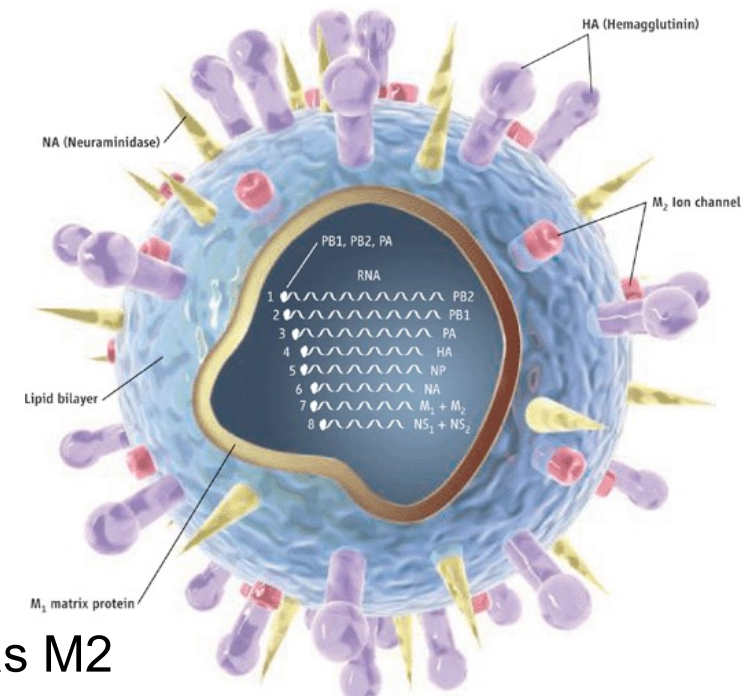
Antivirali

- Inibizione processi replicativi specifici
- *Blocco preferenziale della sintesi degli acidi nucleici virali*
- *Blocco preferenziale della sintesi di proteine virali*

- In genere **non attivi verso virus in FASE NON REPLICATIVA**
- Scarsa selettività in taluni casi (effetti tossici)
- Problemi di resistenza (variazione strutturale del target)

Orthomyxovirus (ssRNA-)

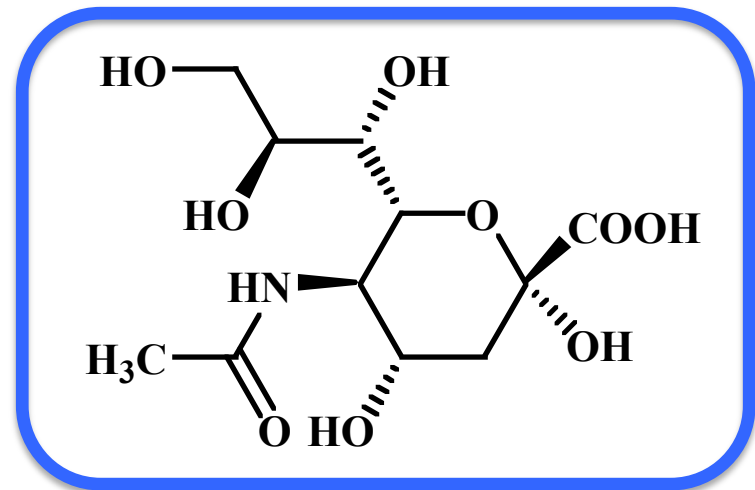
- Virus dell'**influenza** A (agente patogeno umano associato a epidemie e pandemie)
- Virus dell'influenza B (malattia nell'uomo, ma non grave come tipo A)
- Virus dell'influenza C (esclusivamente l'uomo)
- **RNA a singolo filamento (-)**, in 8 segmenti (7 nell'influenza C)
- Ingresso nella cellula
- Virus inglobato per endocitosi



“Conserved” proteins, such as M2

Orthomyxovirus

- Ingresso nella cellula: facilitato dal legame
 - di **emoagglutinina** (HA, glicoproteina della membrana lipidica virale)
 - con **mucoproteine** della membrana cellulare contenenti l'acido **N-acetilneuraminico** (acido sialico) nella loro porzione terminale



- **Neuraminidasi** (NA): glicoproteina della membrana virale
- Scissione del legame tra particelle virali e membrana cellulare tramite l'acido sialico

Orthomyxovirus

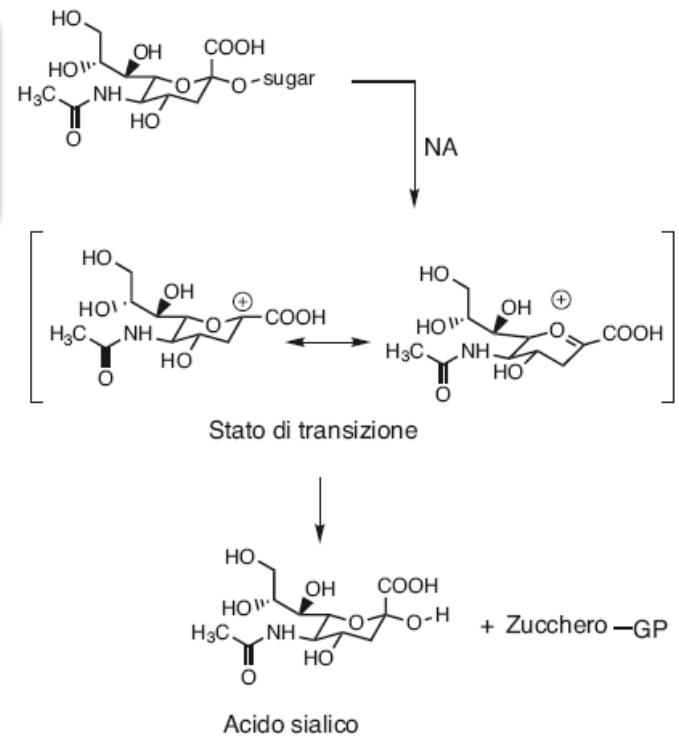
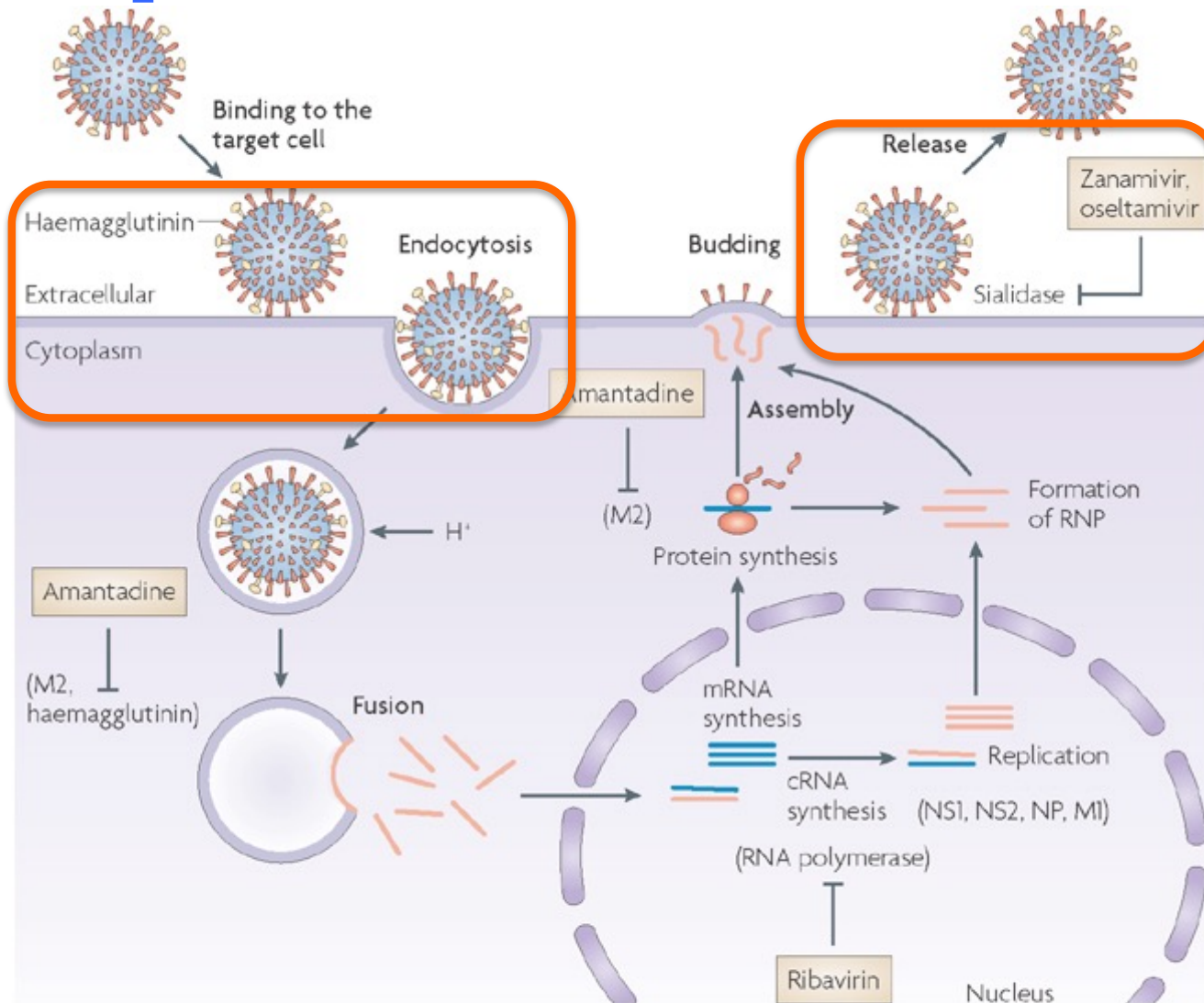
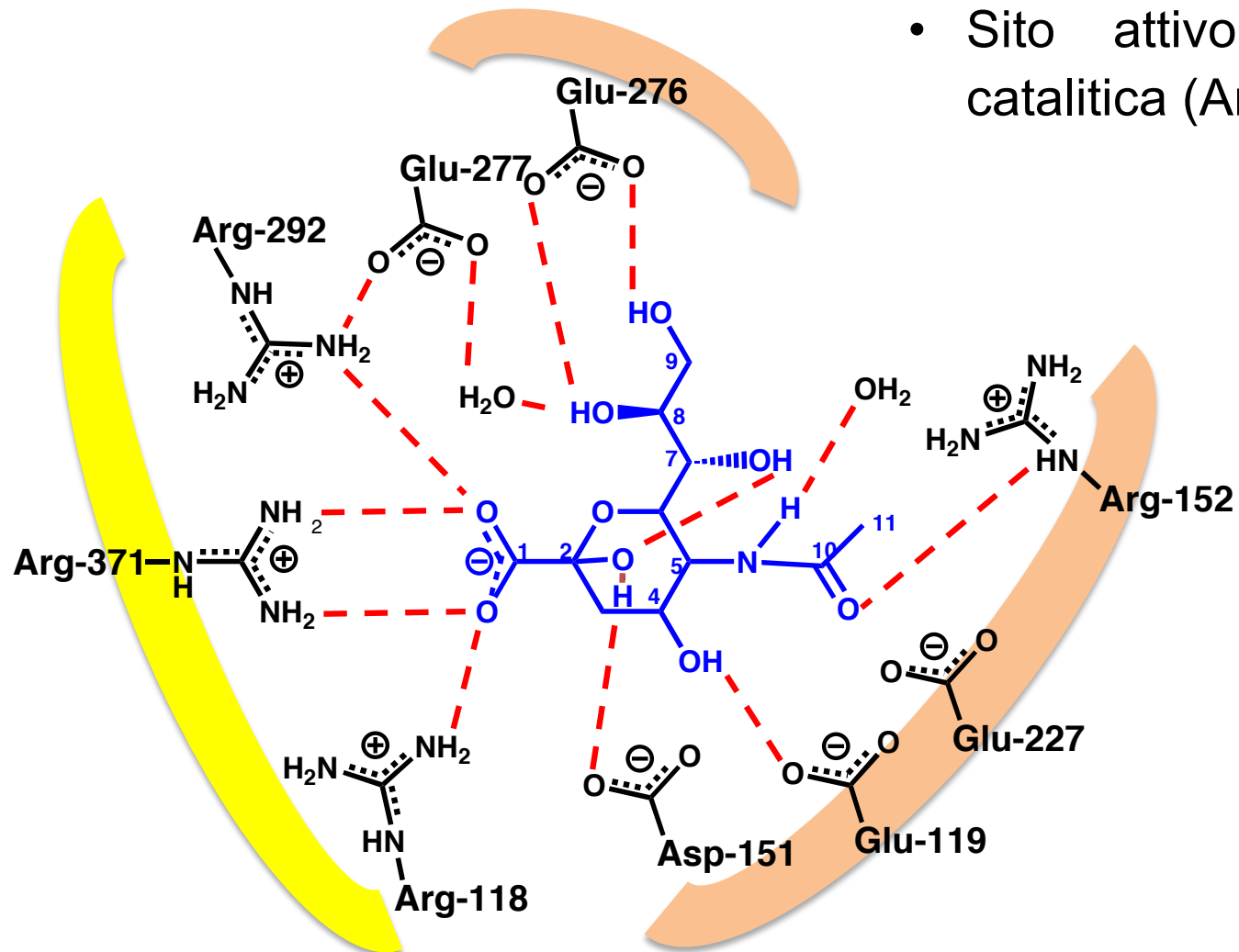


Fig. 43.3. Rimozione catalizzata dalla neuraminidasi (NA) del residuo di acido sialico dalla catena della glicoproteina (GP).

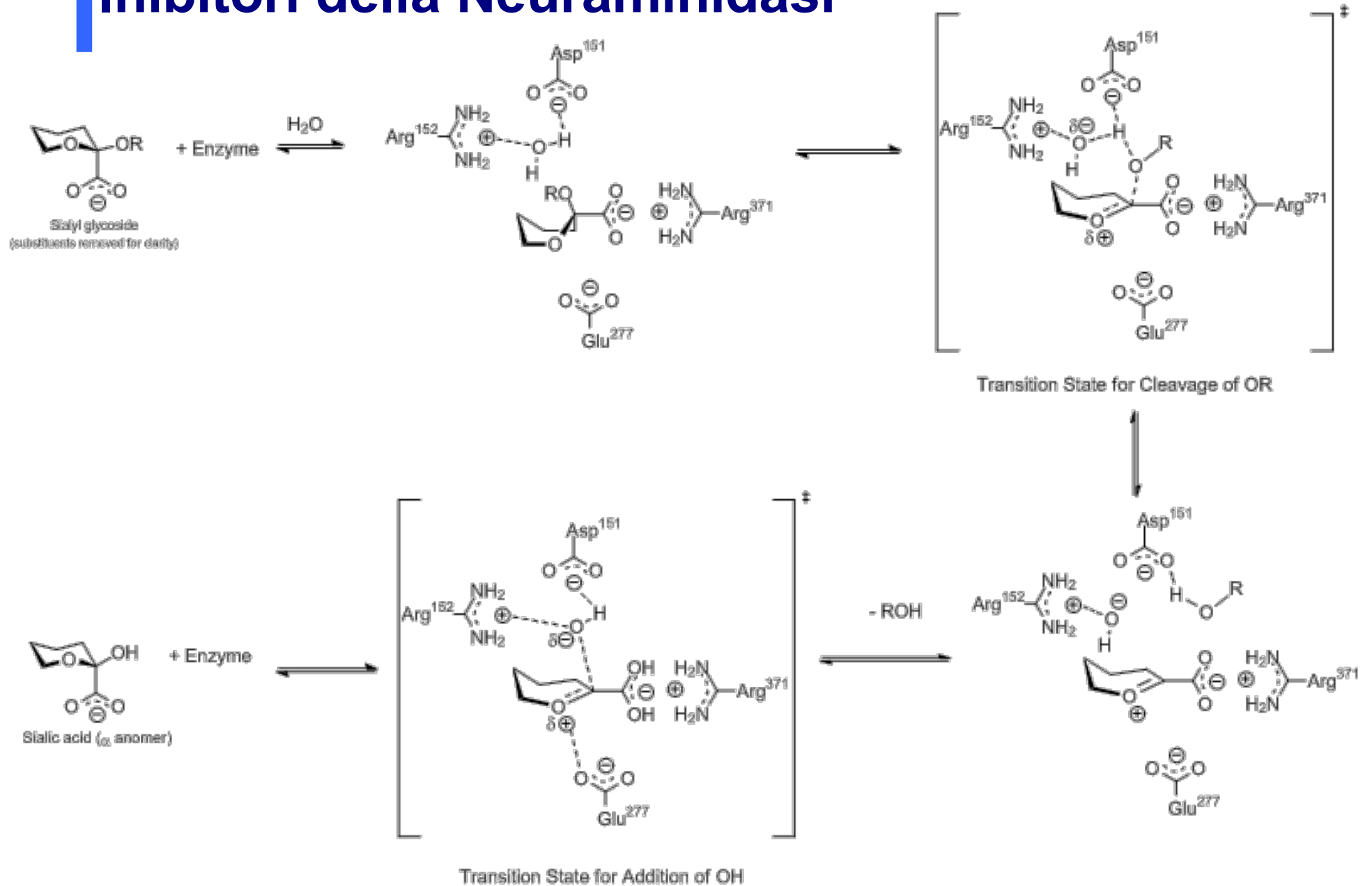
From Foye

Inibitori della Neuraminidasi

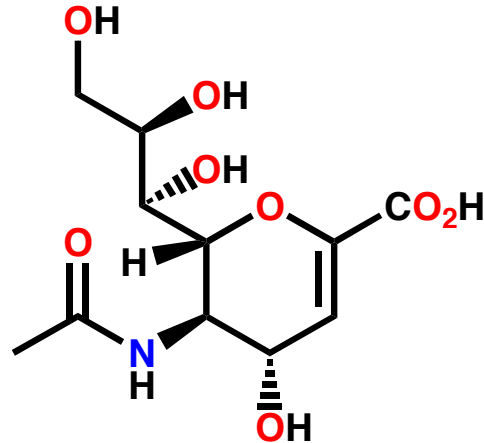
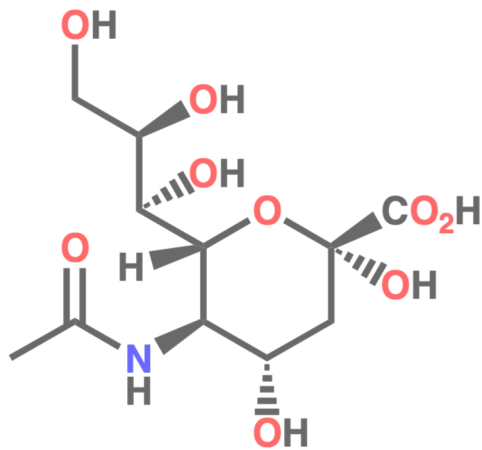
- Idrolasi
- Sito attivo con la triade catalitica (Arg 118, 292, 371)



Inibitori della Neuraminidasi

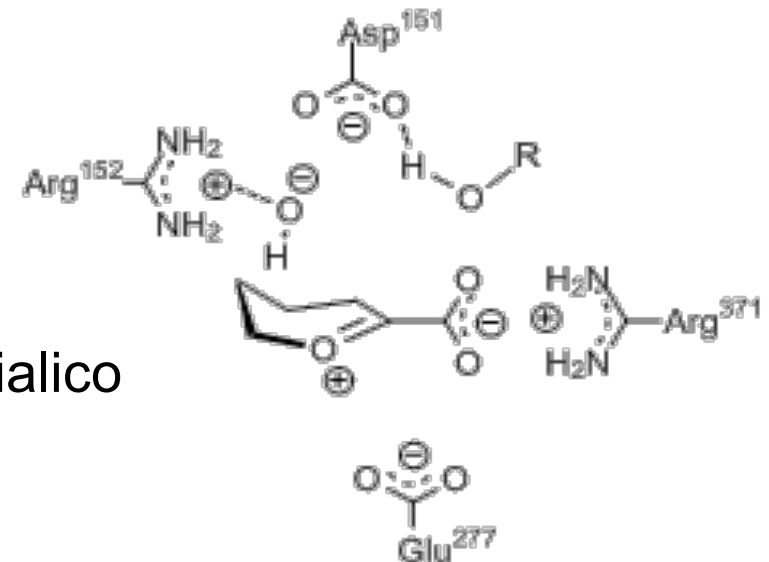


Inibitori della Neuraminidasi

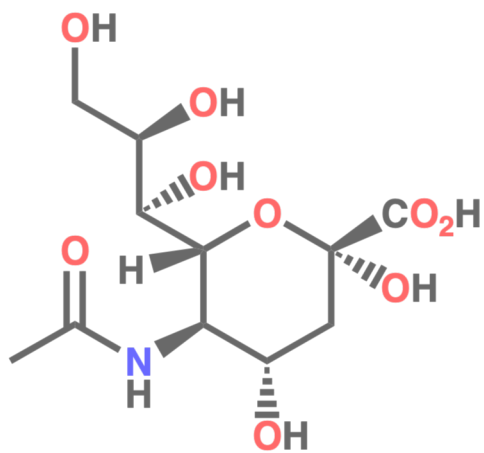


Neu5Ac2en
 $K_i(M) 4 \times 10^{-6}$
 $IC_{50} 5-10 \mu M$

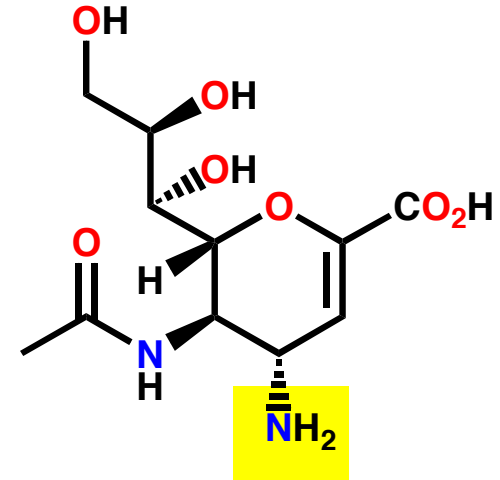
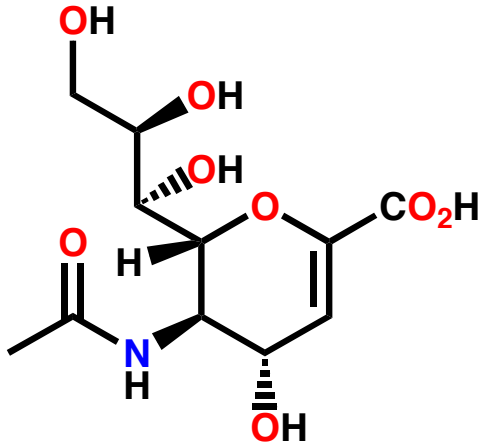
- Disidratazione
- Analogo dello stato di transizione dell'a. sialico



Inibitori della Neuraminidasi

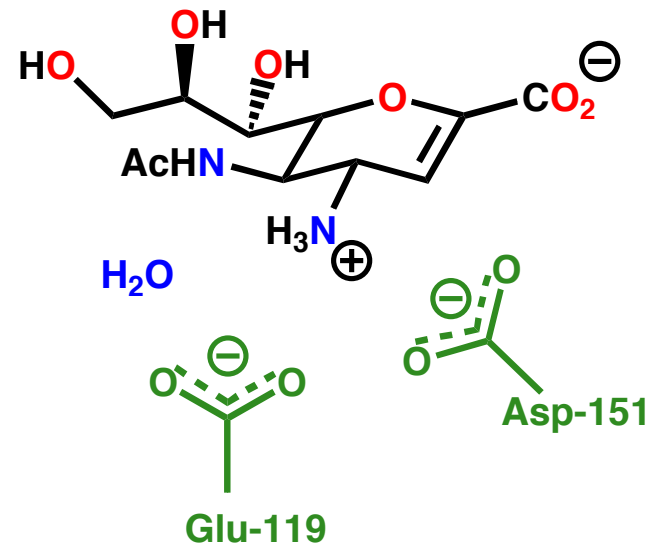


Neu5Ac2en
 $K_i(M) 4 \times 10^{-6}$
 $IC_{50} 5-10 \mu M$

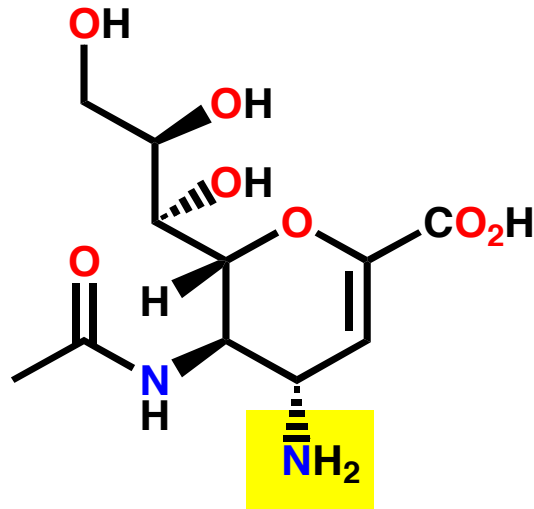


4-Amino-Neu5Ac2en
 $K_i(M) 4 \times 10^{-8}$

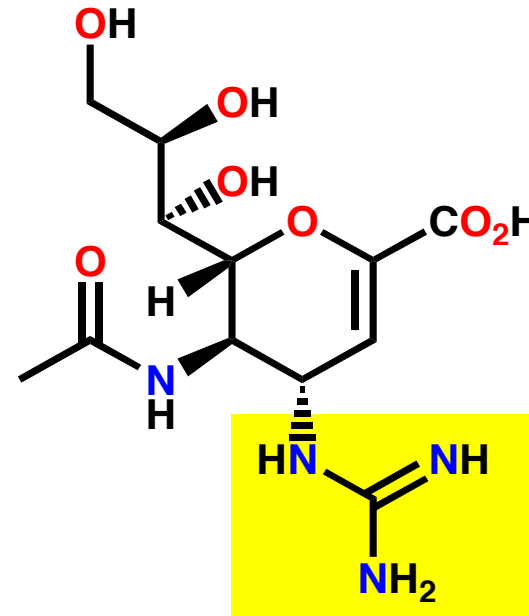
- 4-OH: sostituito con un'ammina
- N protonato
- Forma ionica: legame con il sito attivo
- 4-Amino-Neu5Ac2en: selettivo e attivo *in vivo*



Inibitori della Neuraminidasi

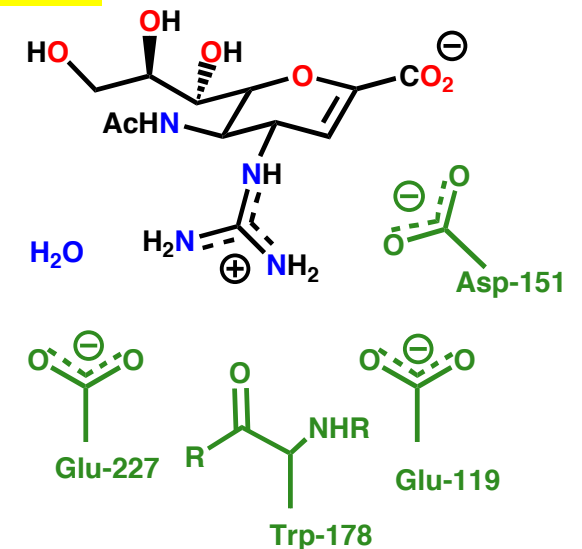


4-Amino-Neu5Ac2en
 $K_i(M) 4 \times 10^{-8}$

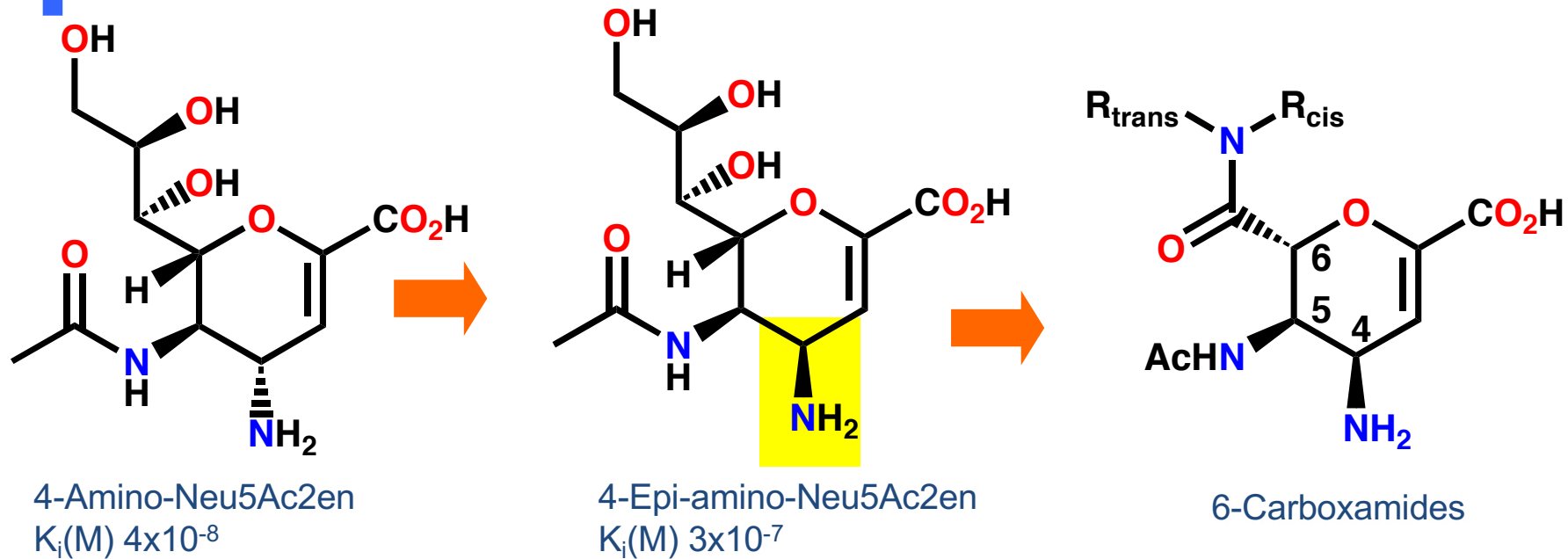


Zanamivir
 $K_i(M) 3 \times 10^{-11}$

- Gruppo basico più ingombrante
- Gruppo guanidinico in 4
- Maggior n di legami H e interazione vdw
- Aumento di attività (100 volte)
- 1999
- Alta polarità, scarsa biodisponibilità
- Somministrazione per inalazione

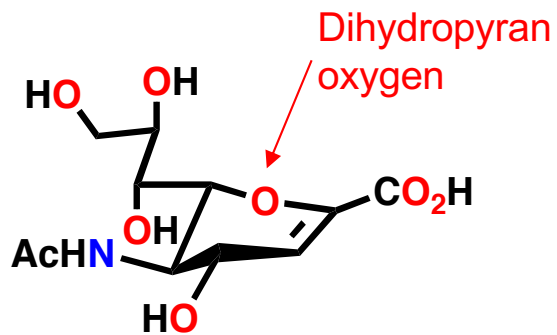


Inibitori della Neuraminidasi

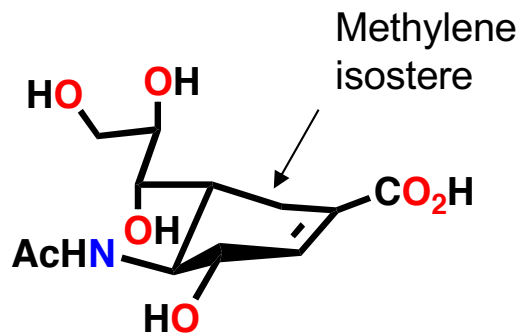


- Cambio di stereochimica del C-4
- Rimozione del glicerolo
- Diminuzione di polarità
- Meno interazioni
- Introduzione di catena carbossamidica: mantenimento dell'attività
- Amidi terziarie con selettività per la forma A dell'enzima
- R_{trans} : variable; R_{cis} : etile o *n*-propile

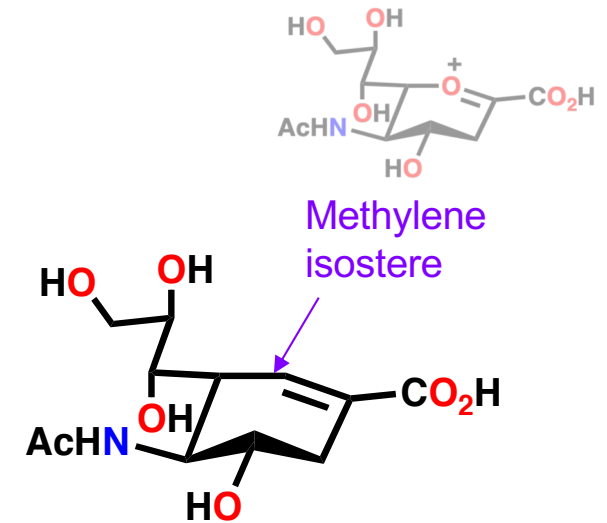
Inibitori della Neuraminidasi



Neu5Ac2en



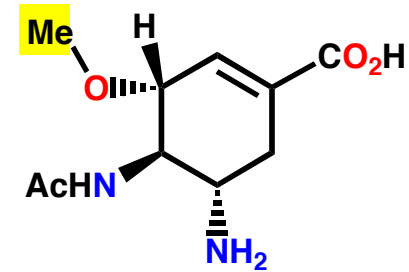
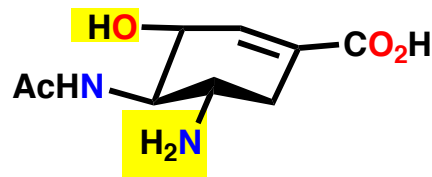
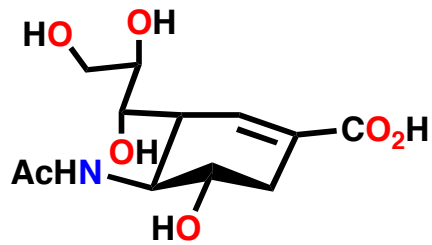
Structure I
IC₅₀ 850 nM



Structure II
IC₅₀ 20 nM

- Ossigeno dell'anello diidropirano: nessun ruolo di binding
- Analogo carbociclico
- Diminuzione della polarità
- Struttura II: 40 volte più potente di I
- Conformazione dell'anello (importante per la potenza)

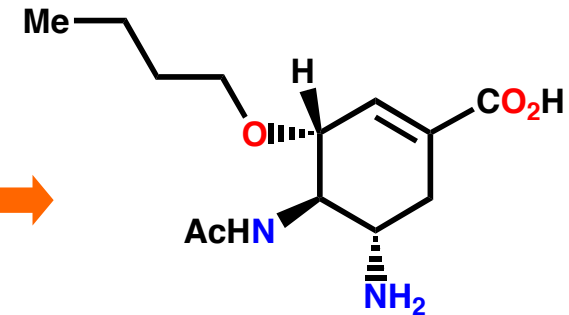
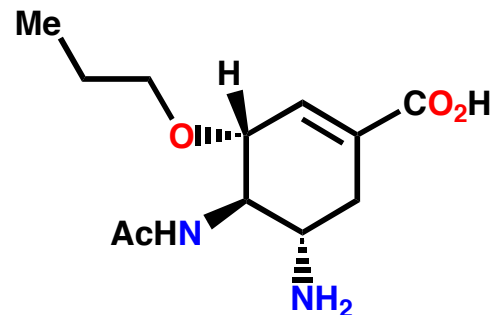
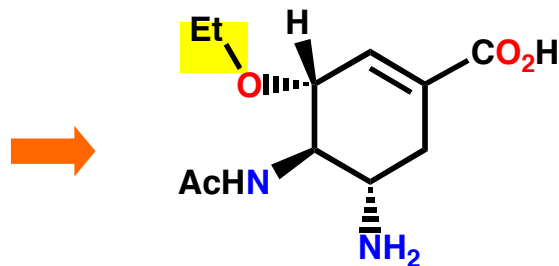
Inibitori della Neuraminidasi



Structure II
 IC_{50} 20 nM

Structure III
 IC_{50} 6.3 μ M

Methyl ether
 IC_{50} 3.7 μ M



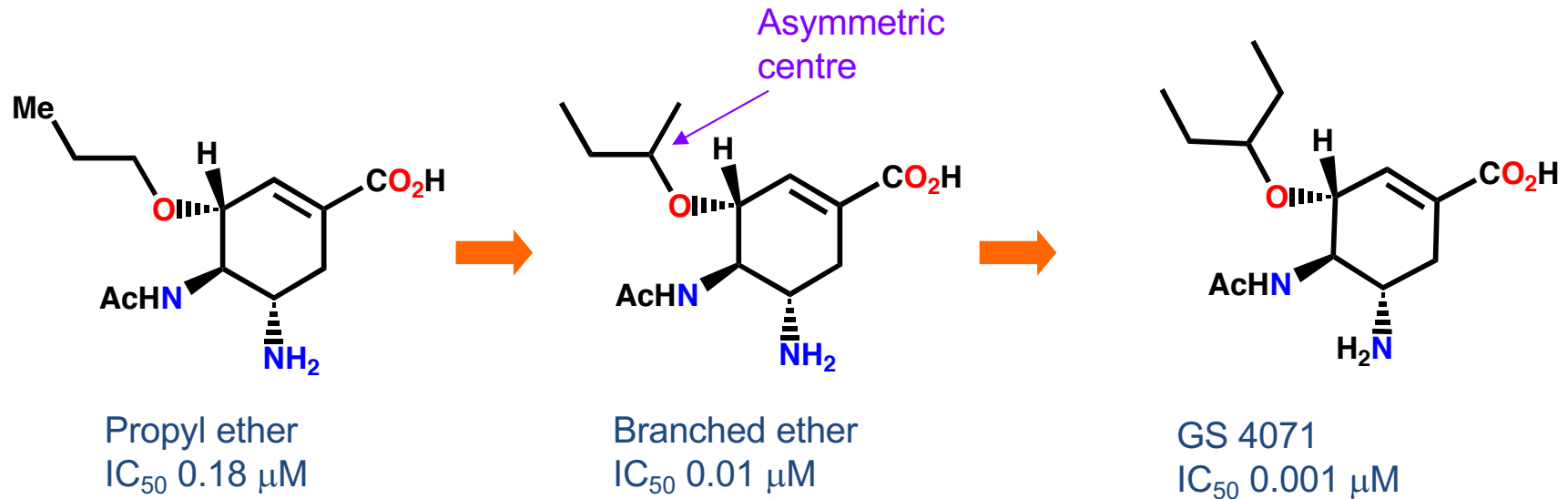
Ethyl ether
 IC_{50} 2.0 μ M

Propyl ether
 IC_{50} 0.18 μ M

Butyl ether
 IC_{50} 0.30 μ M

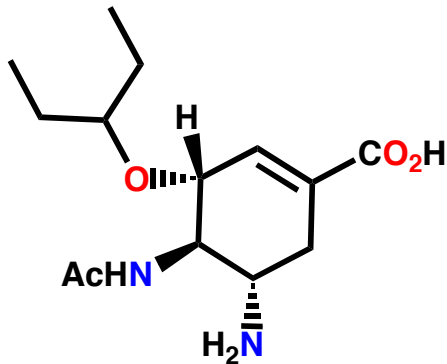
- Alchil eteri: occupazione di una regione idrofobica
- Aumento di attività con aumento di interazioni idrofobiche

Inibitori della Neuraminidasi

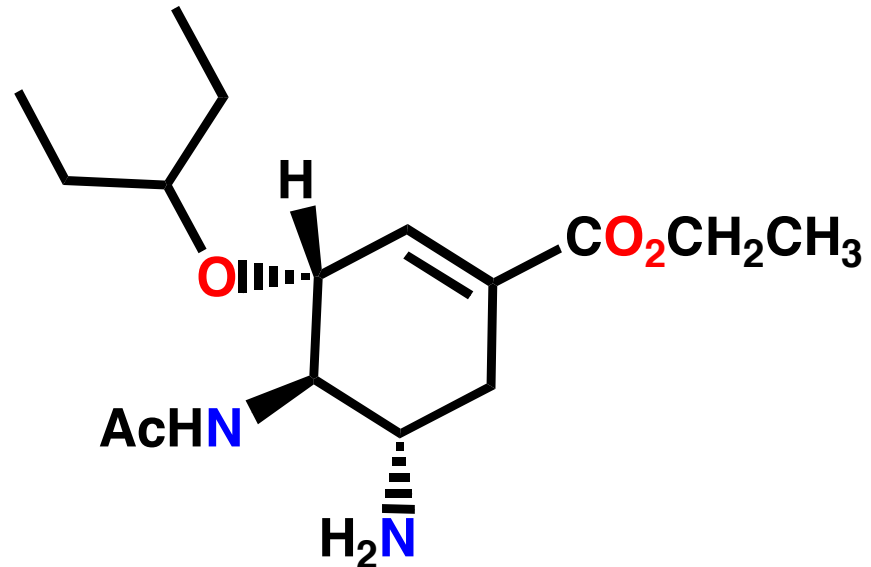


- Ramificazione: aumento delle interazioni e dell'attività
- Attività migliore: catena pentil-3-ossi
- Interazione con la porzione legata dal glicerolo dell'a. sialico

Inibitori della Neuraminidasi



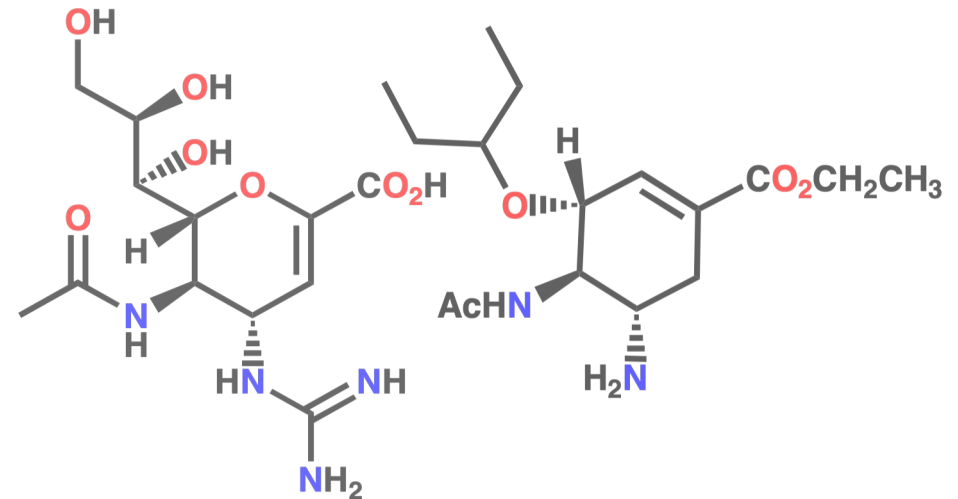
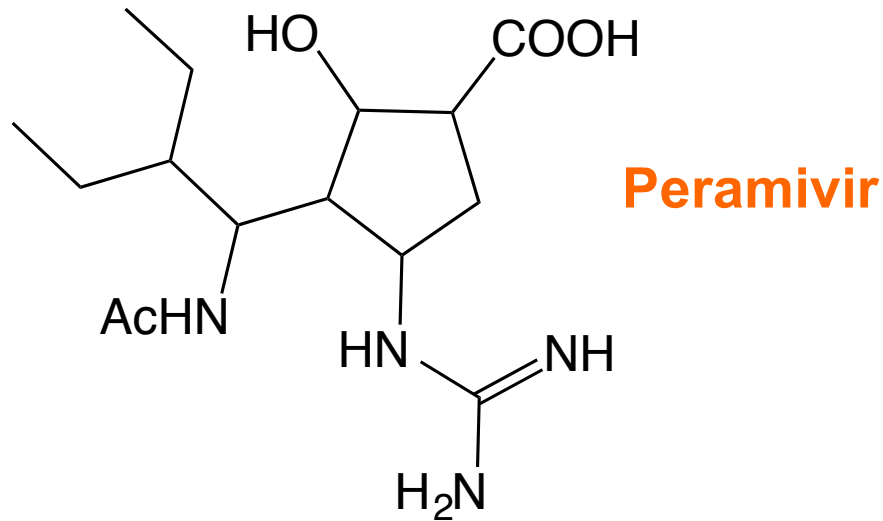
GS 4071
IC₅₀ 0.001 μM



Oseltamivir (Tamiflu[®])

- Etil estere
- PROFARMACO
- 1999 (influenza A e B)
- Somministrazione orale
- Convertito in GS4071 (Farmaco) dalle esterasi del tratto gastrointestinale

Inibitori della Neuraminidasi



- Derivato del ciclopentano
- Migliore adattamento in entrambe le porzioni idrofobiche del sito attivo
- Resistenza per mutazioni di emoagglutinina e neuraminidasi
- Attualmente indicati 12 trials clinici (5 completati, gli altri 7 interrotti o ritirati)

Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)

- 1981: insolita comparsa di casi di polmonite da *Pneumocystis carinii* e di sarcoma di Kaposi, associati ad altre forme gravi di infezioni opportunistiche
- Deficit immunitario: caratteristica comune da cui il Sindrome da Immunodeficienza Acquisita, AIDS (Acquired Immuno Deficiency Syndrome)
- 1983 – Montagnier, 1984 – Gallo: identificazione di virus (LAV e HTLV-III)
- Un solo virus, dal 1986 chiamato HIV (Human Immunodeficiency Virus) o virus dell'immunodeficienza umana
- Retrovirus
- Genoma trascritto in una copia di DNA (provirus) utilizzando il proprio RNA come stampo
- Trascrizione inversa, catalizzata dalla trascrittasi inversa (RT) contenuta nel virus

Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)

Gag

- proteina del “core” p55, precursore delle proteine p17, p24, p7 e p6
- Formazione del capsid, rivestimento proteico (p24 per copertura RNA)
- Capsid: protezione del genoma

Pol

- **enzimi proteasi, trascrittasi inversa e integrasi**

Env

- glicoproteina 160, precursore delle proteine del rivestimento gp120 e gp41

Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)

Proteine regolatrici:

- modulazione (positiva e negativa) dei processi di replicazione e maturazione del virus
- Interferenza sulle normali funzioni delle cellule infettate

Tat

- Proteina tat: induttore (forse) della replicazione del virus

Nef

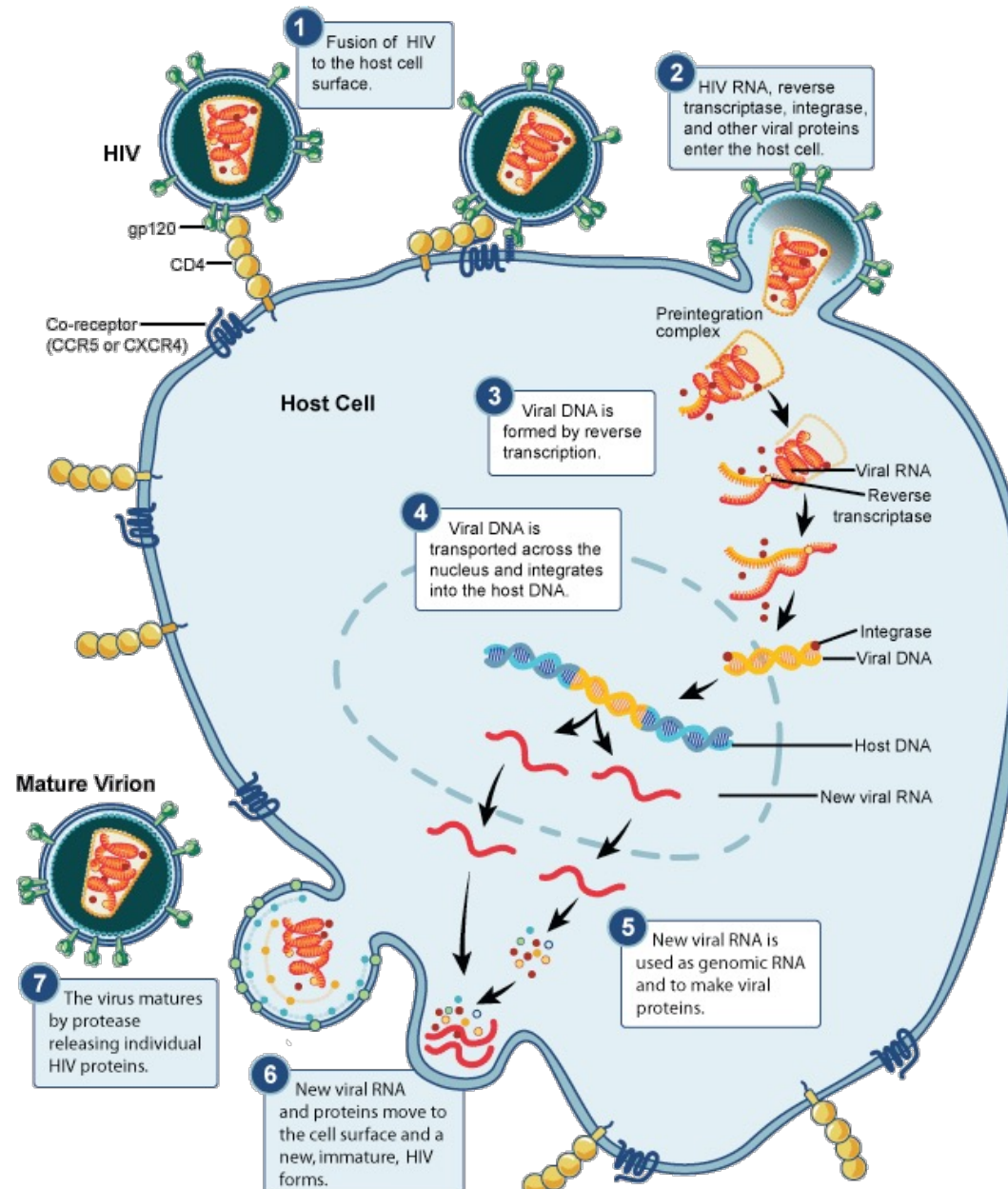
- fattore negativo

Rev

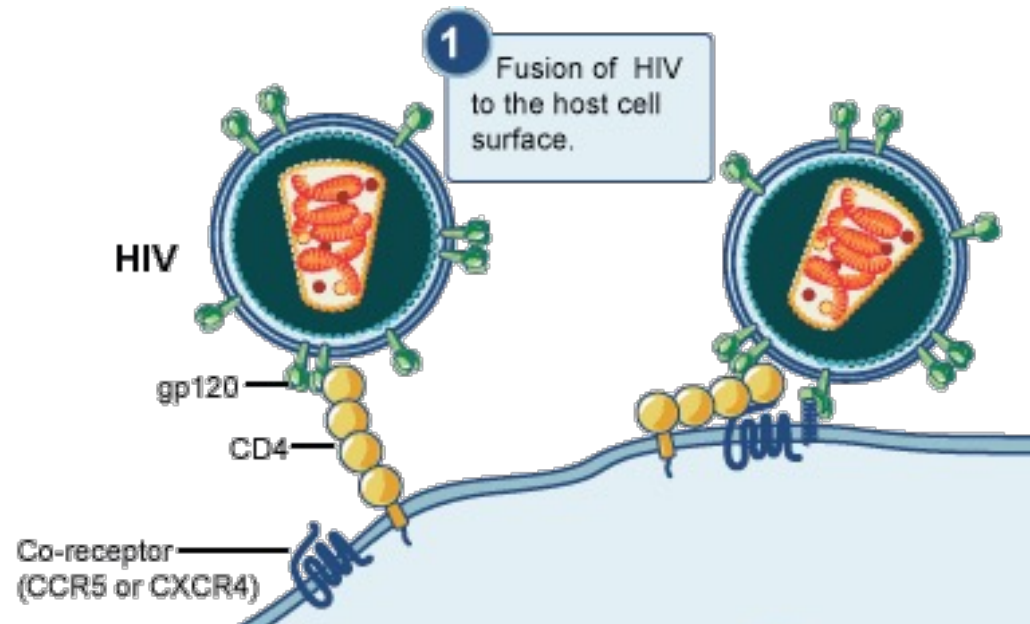
- fattore di controllo per tat e nef
- Atri geni “ausiliari” per la produzione di proteine di controllo
- Sequenze LTR (Long Terminal Repeat Sequence) - alle estremità del genoma: indispensabili per la trascrizione dei geni virali

Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)

HIV

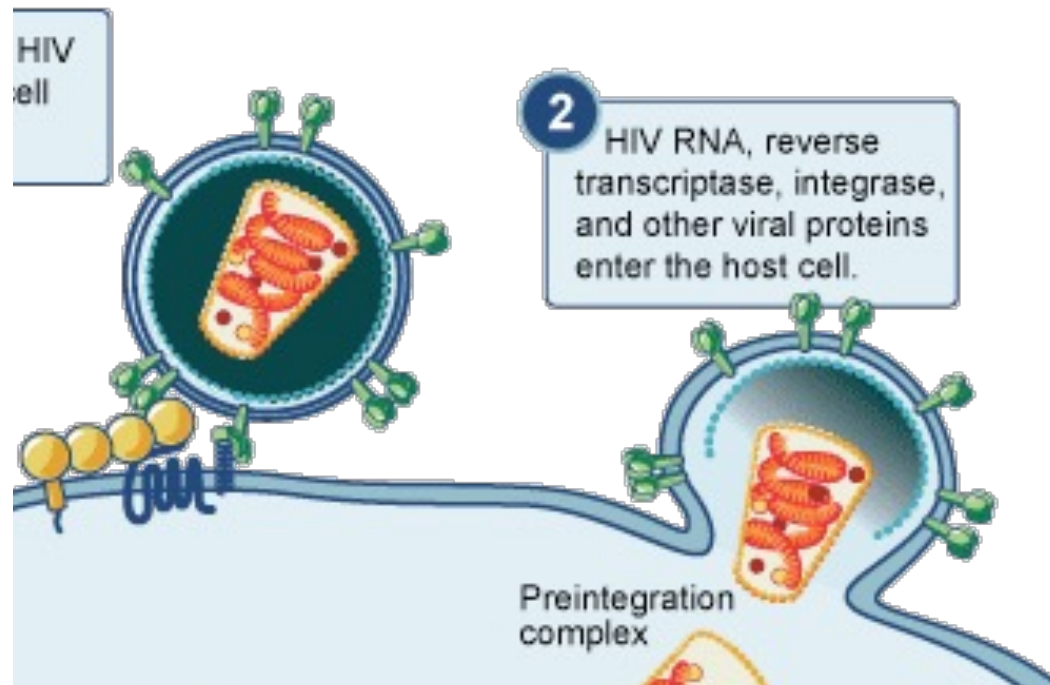


Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)



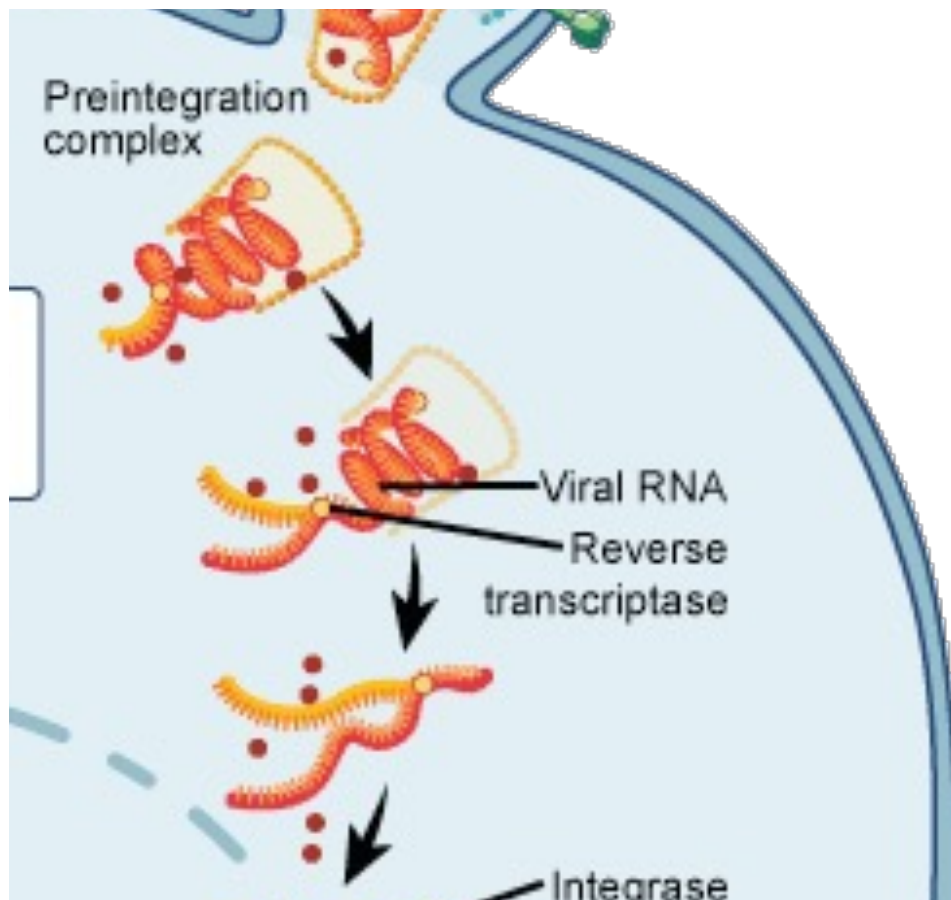
- Gp120: glicoproteina virale di superficie
- Legame con il recettore specifico CD4 (superficie esterna delle cellule bersaglio)
- CD4: recettore di superficie su linfociti T Helper e altre cellule
- Ricognizione di peptidi estranei
- Simultanea presenza di uno o più recettori delle **chemochine** (CCR5, CXCR4) necessarie per il legame e la fusione con l'HIV

Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)



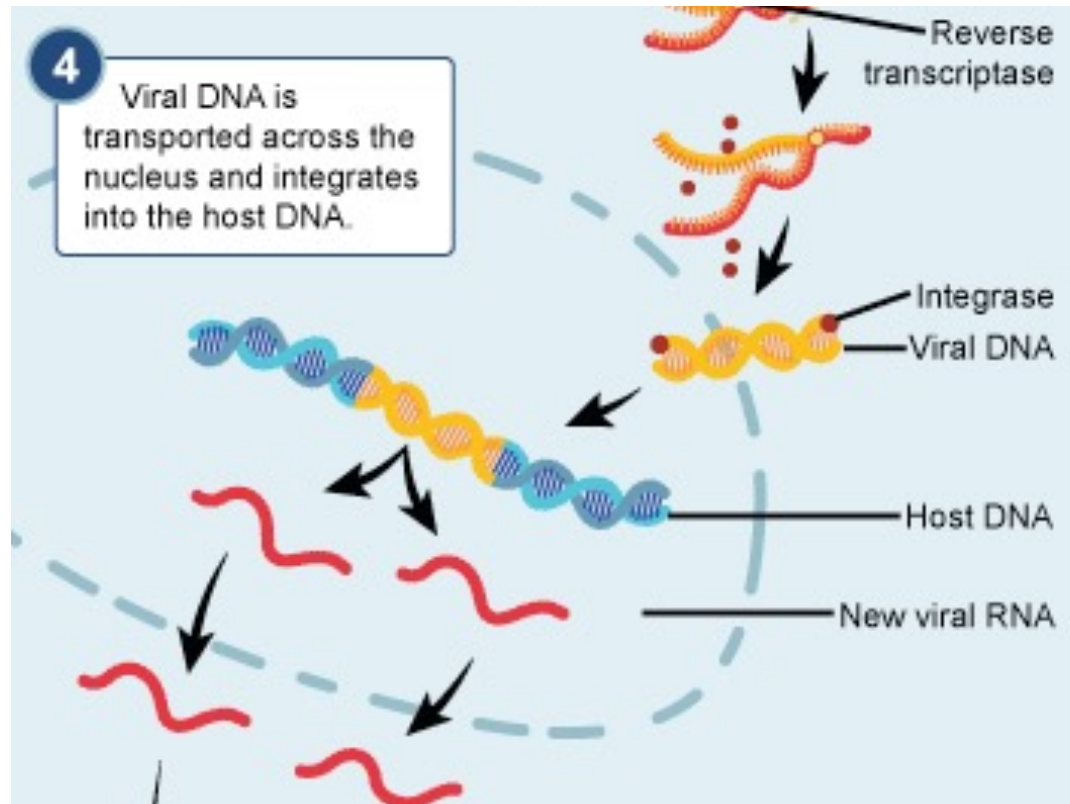
- Fusione della membrana virale
- Disassemblaggio delle proteine della matrice e del capsid virali
- Rilascio del materiale genetico nella cellula

Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)



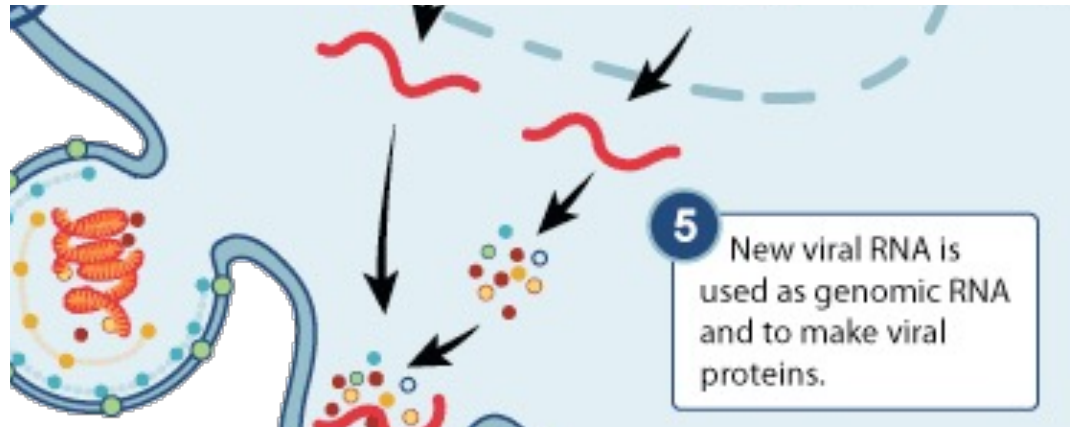
- Trascrizione dell'RNA virale in DNA
- Azione catalitica della **trascrittasi inversa** (RT)
- Generazione di un provirus

Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)



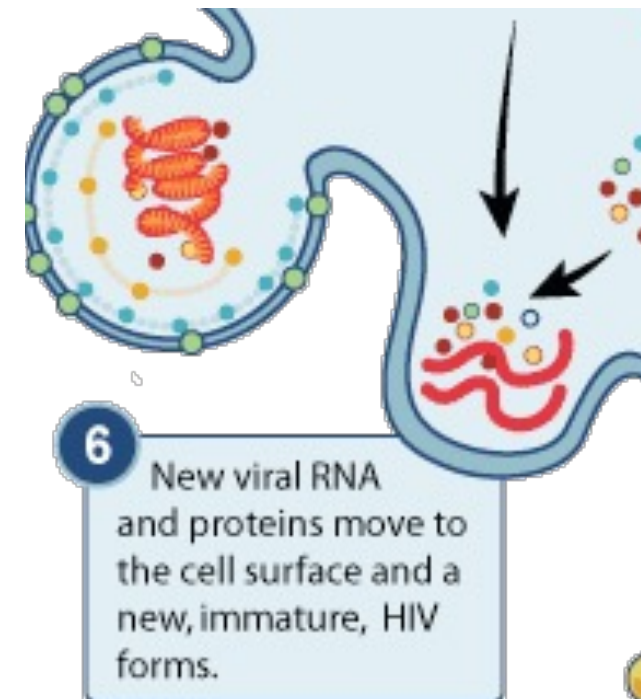
- DNA virale: incorporato nei cromosomi della cellula ospite ad opera dell'**integrasi**
- **Trascrizione** del DNA provirale in RNA
- RNA polimerasi della cellula ospite
- Regolazione da un gene codificato dal virus HIV (**Tat**)

Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)

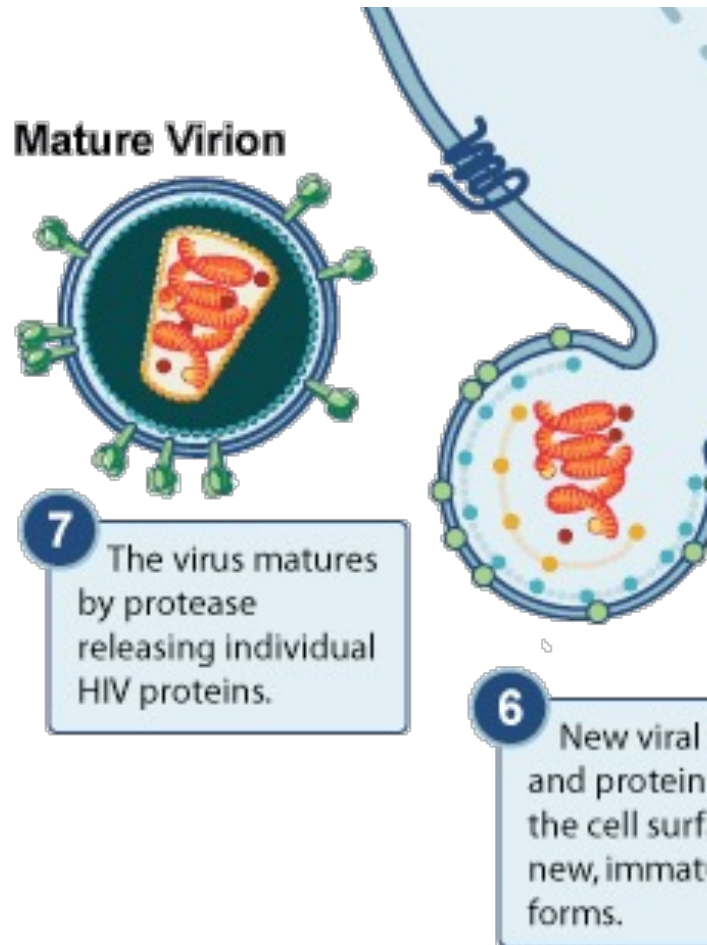


- Migrazione RNA genomico e proteine virali verso la parte interna della membrana citoplasmatica
- Aggregazione
- Assemblaggio della nuova particella virale
- Estrusione della nuova particella virale che presenta un rivestimento lipidico contenente le glicoproteine gp 120 e gp 41

- Sintesi proteica



Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)

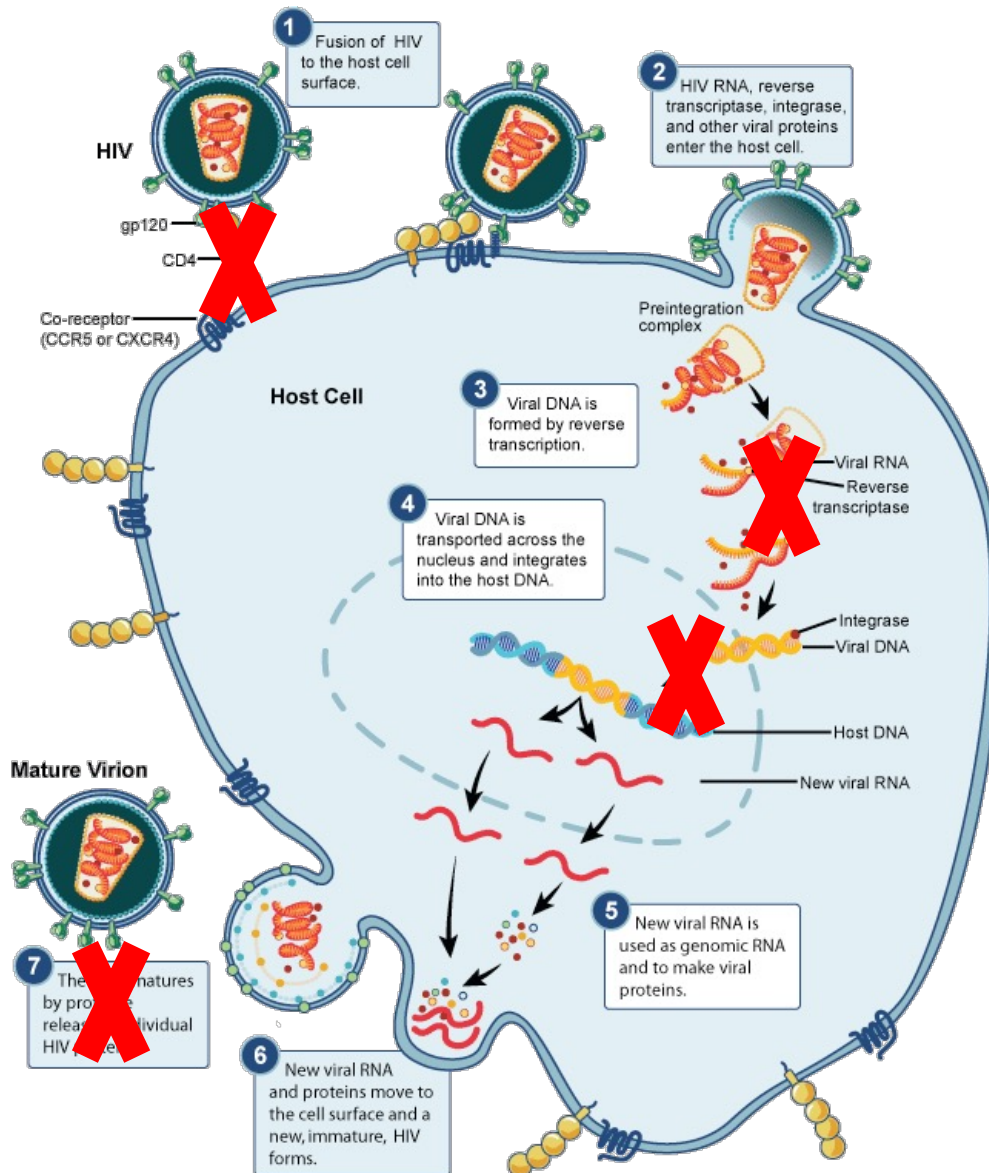


- Maturazione dei virioni
- Dipendente dall'azione di una **proteasi aspartica** codificata dal gene pol virale, responsabile della frammentazione dei precursori gag e gag-pol in proteine funzionali

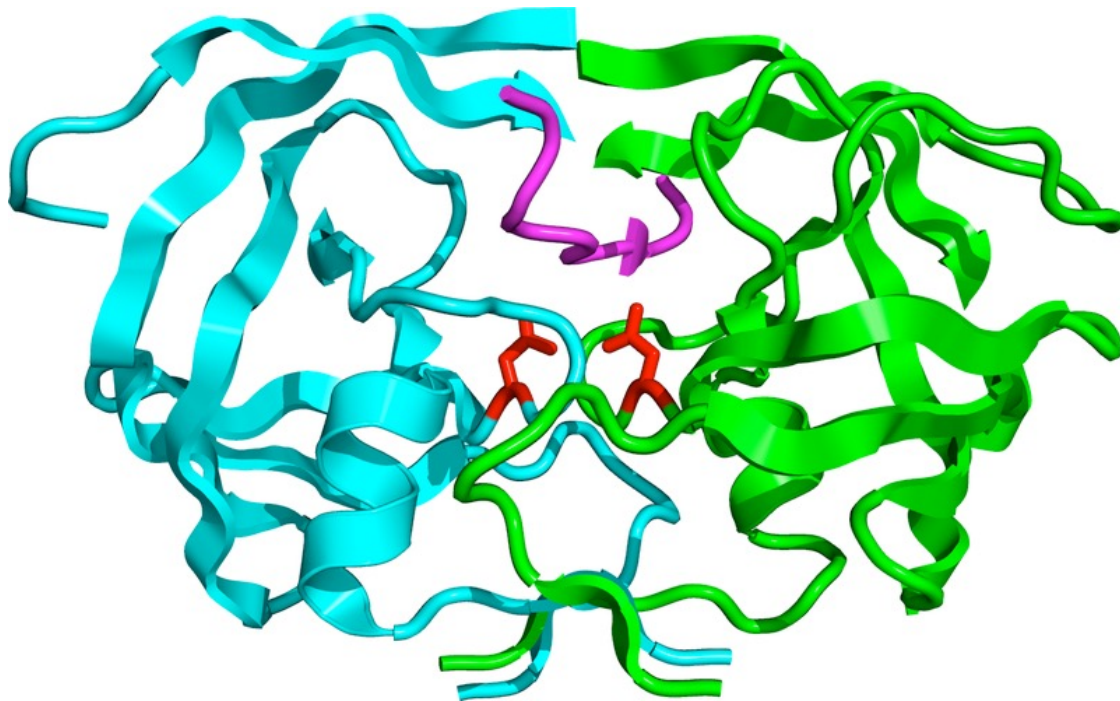
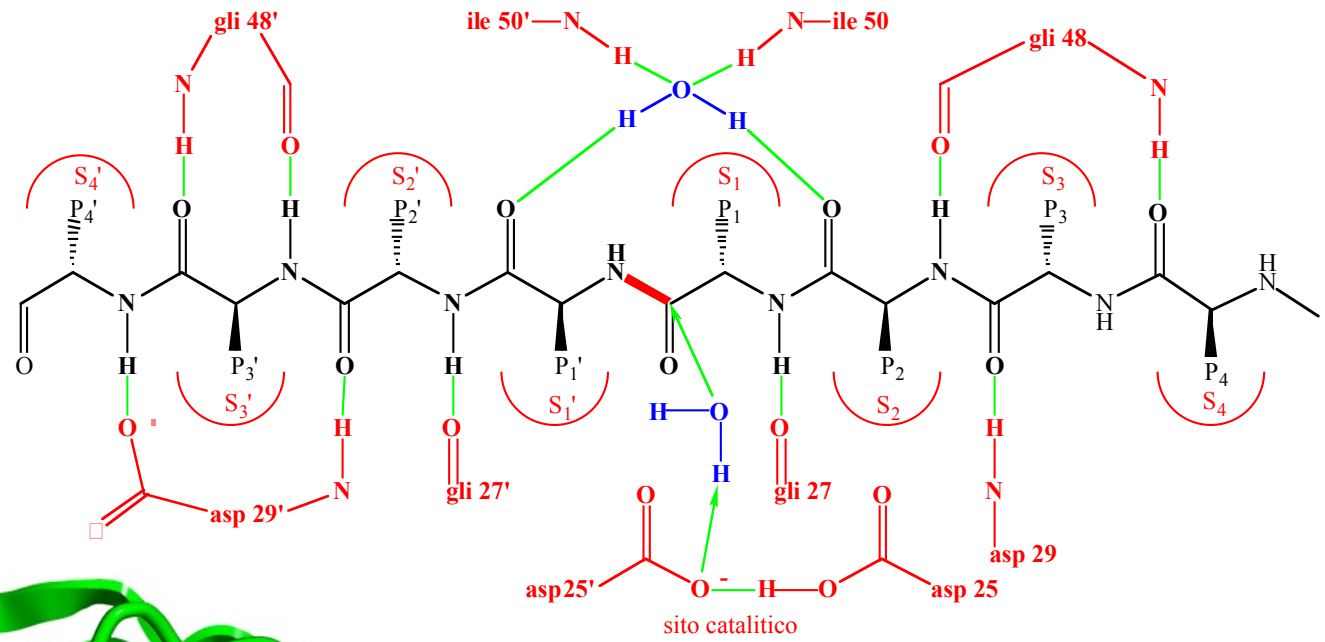
Retrovirus (RNA singolo filamento + con DNA intermediario)

Strategia antivirale

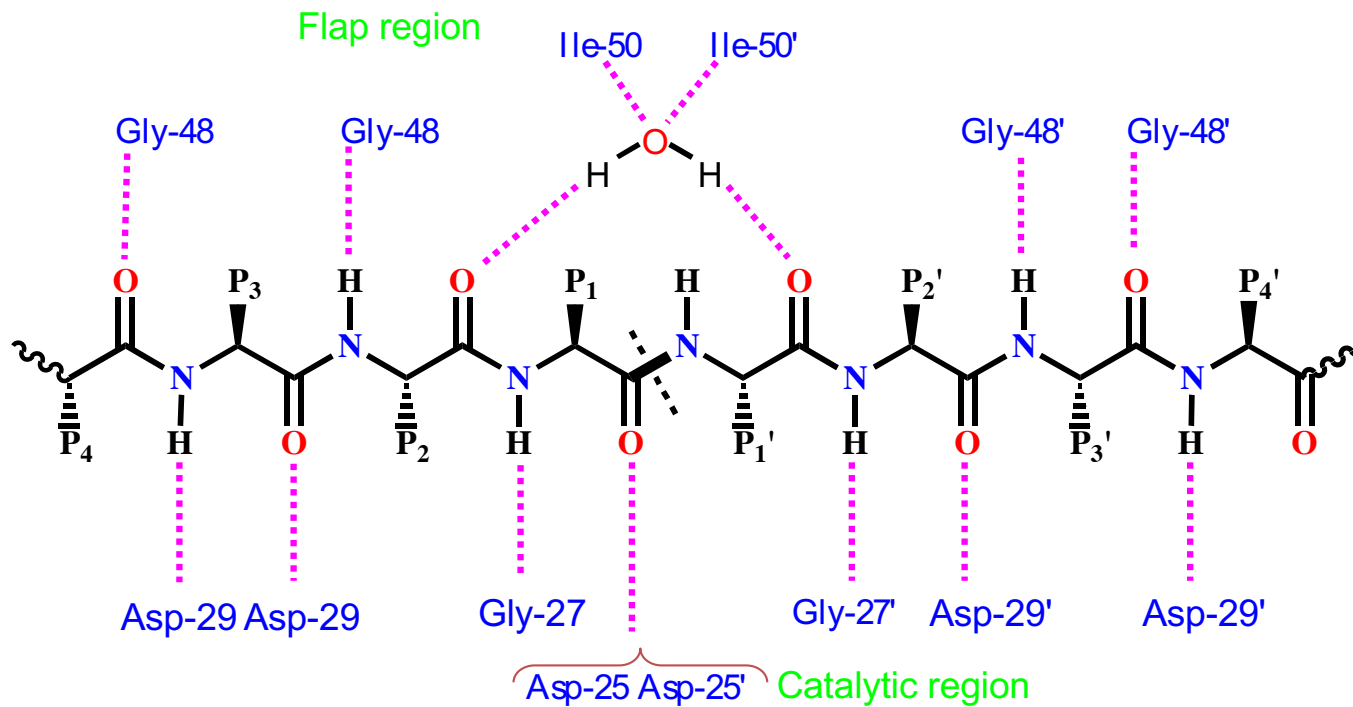
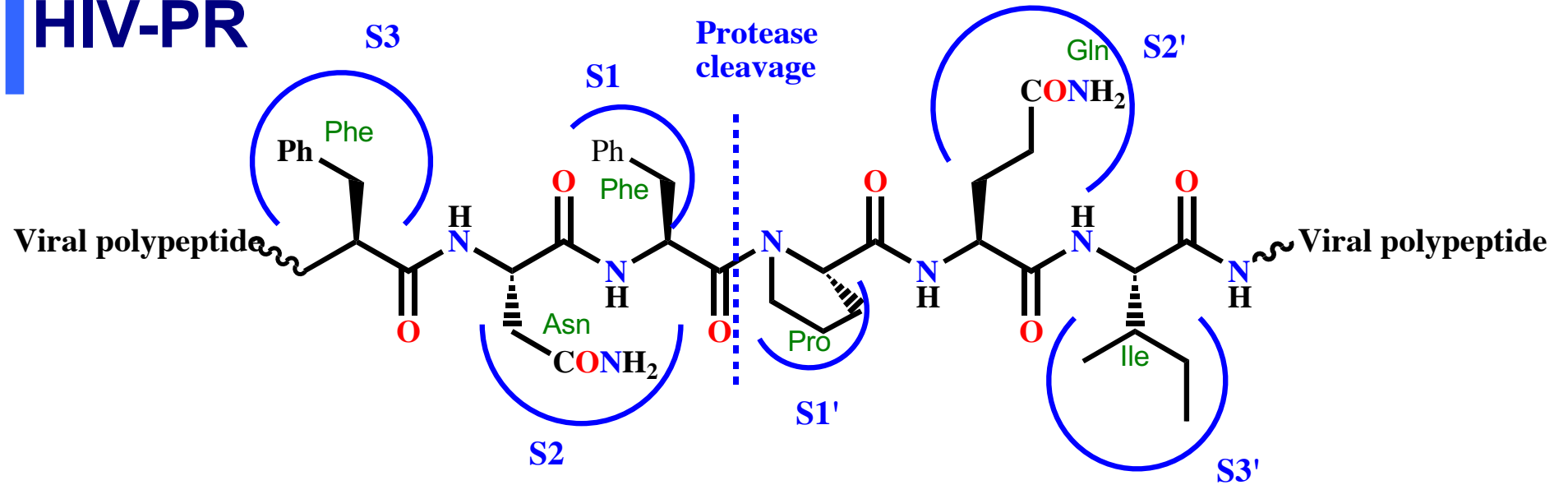
- Blocco dell'adesione
- Inibizione della trascrittasi inversa
- Inibizione dell'integrasi
- Inibizione della proteasi



Inibitori della proteasi

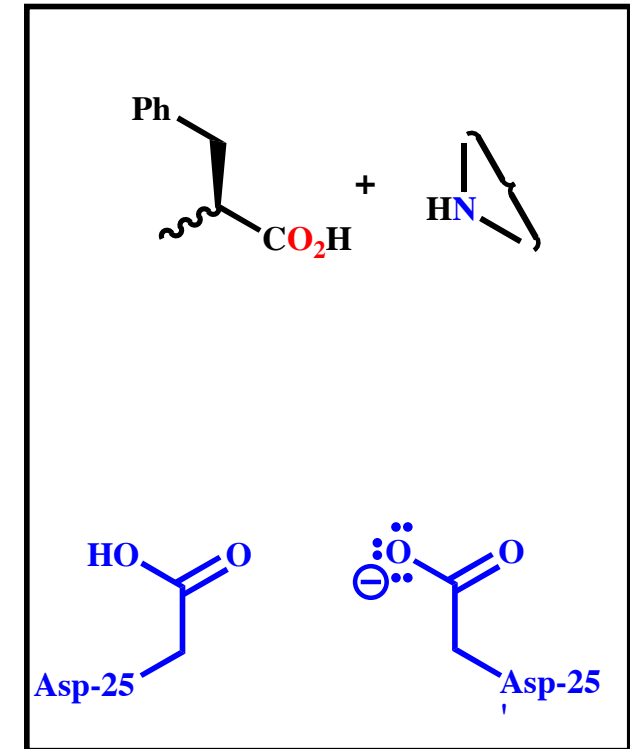
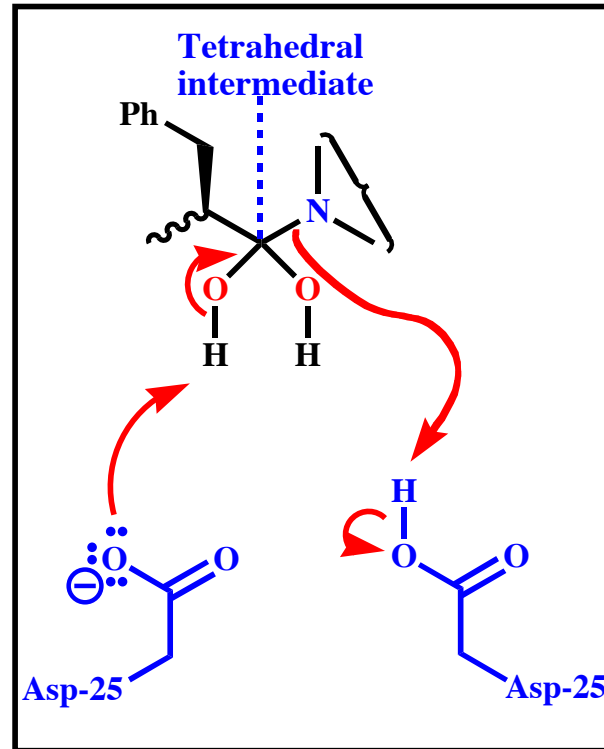
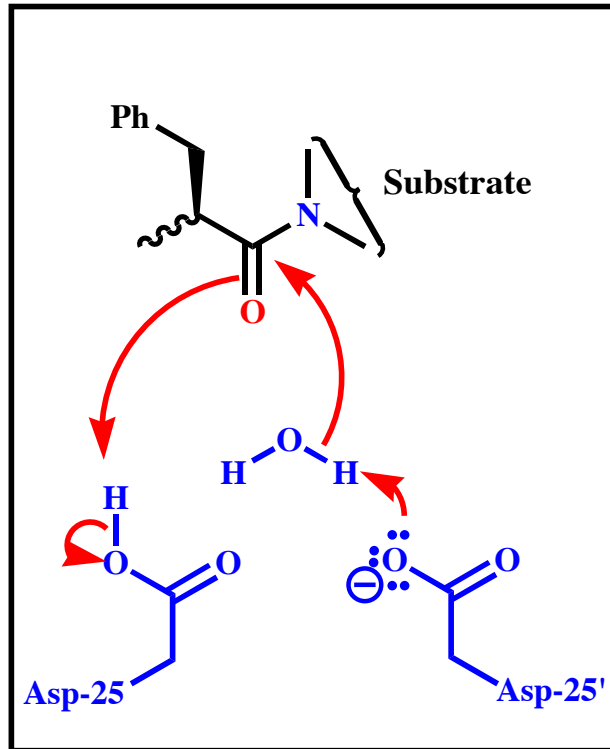


HIV-PR



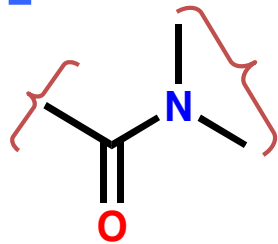
HIV-PR

Meccanismo di reazione

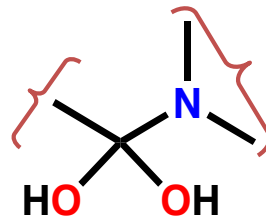


- Asp-25 and Asp-25': cruciali per il meccanismo
- Coinvolgimento di una molecola d'acqua

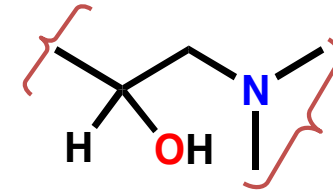
HIV-PR



Amide

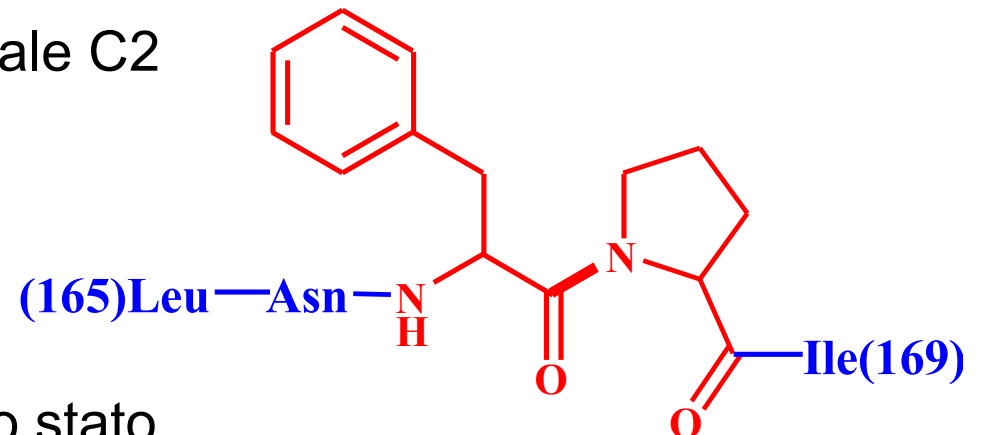


Tetrahedral intermediate



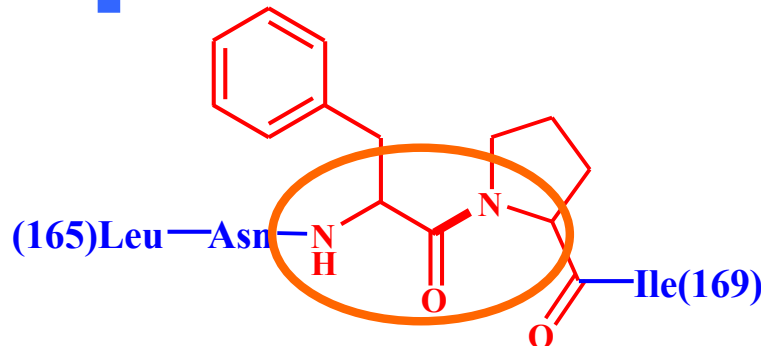
Hydroxyethylamine
transition-state isostere

- Inibitori: formazione di specifici legami idrogeno e interazioni idrofobiche con aa coinvolti nella stabilizzazione del dimero
- Alterazione della simmetria rotazionale C2
- Destabilizzazione del dimero
- Inibitori di natura peptidica

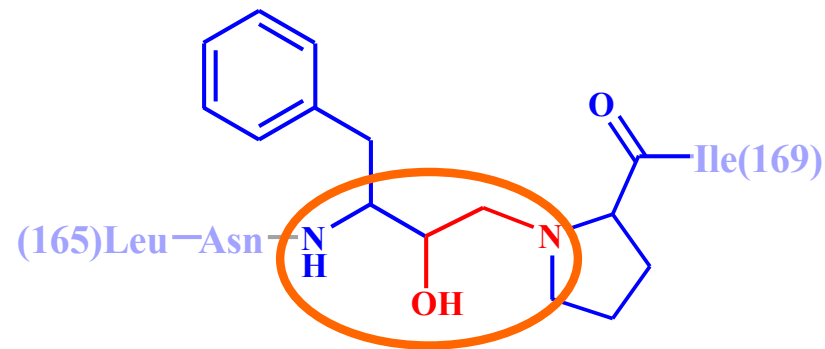


- Approccio mimetico transizione dallo stato
- Inibitori competitivi per il substrato naturale (il precursore poliproteina)
- Inibitori di natura peptidica
- Classe di inibitori con diminuite caratteristiche peptidiche

Inibitori della Proteasi



Substrato (frammento pol)



Inibitore IDROSSIETILAMMINICO
(IC₅₀ = 6.5 μM)

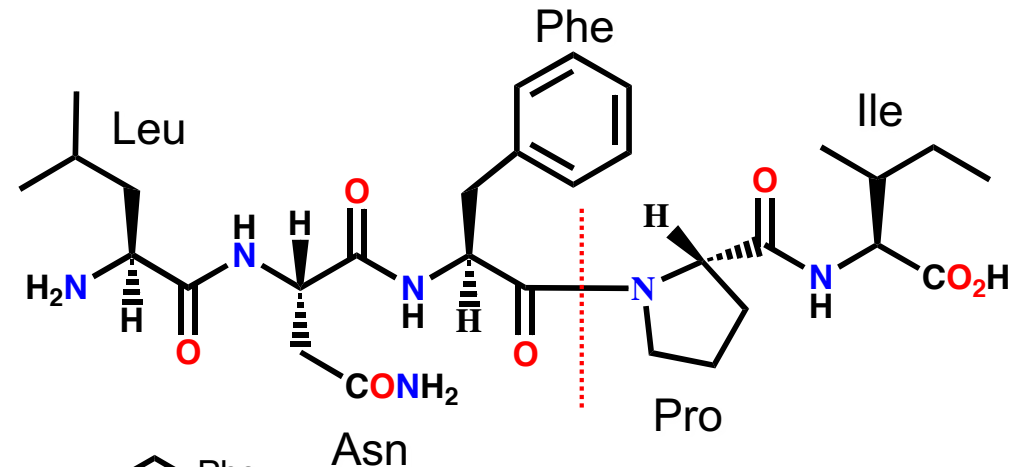
- **Differenti proprietà steriche ed elettroniche** della catena laterale e dei sostituenti terminali
- Evidenza di una larga **sacca idrofobica S₃/P₃**
- Necessità di configurazione "R" dell'OH nel raggruppamento idrossietilaminico

Inibitori della Proteasi

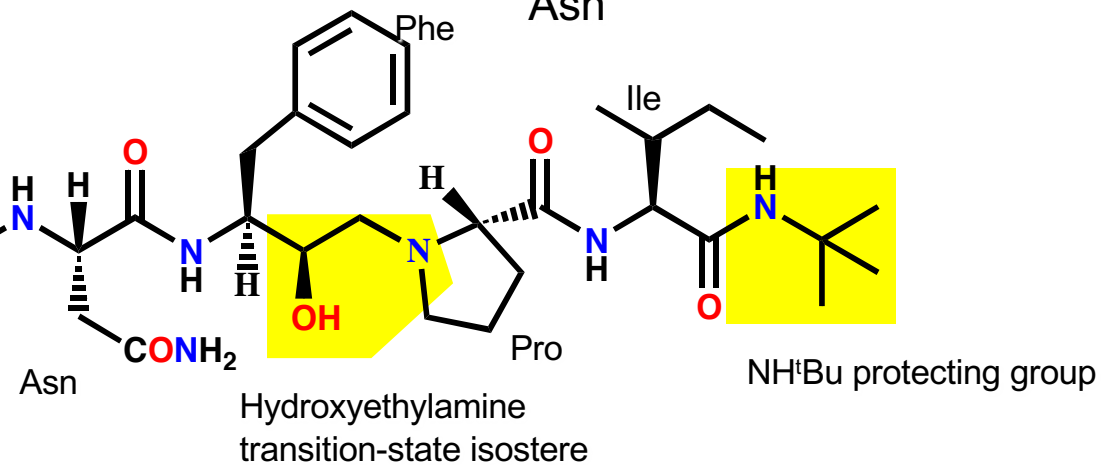
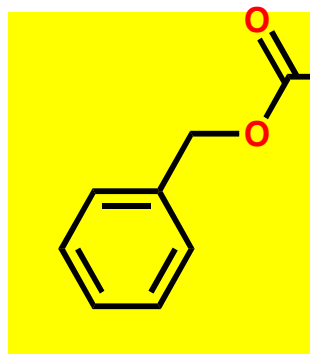
Lead compound

- Pol: polipeptide virale substrato della HIV proteasi
- Pentapeptide contenente il legame Phe-Pro

Leu—Asn—Phe—Pro—Ile

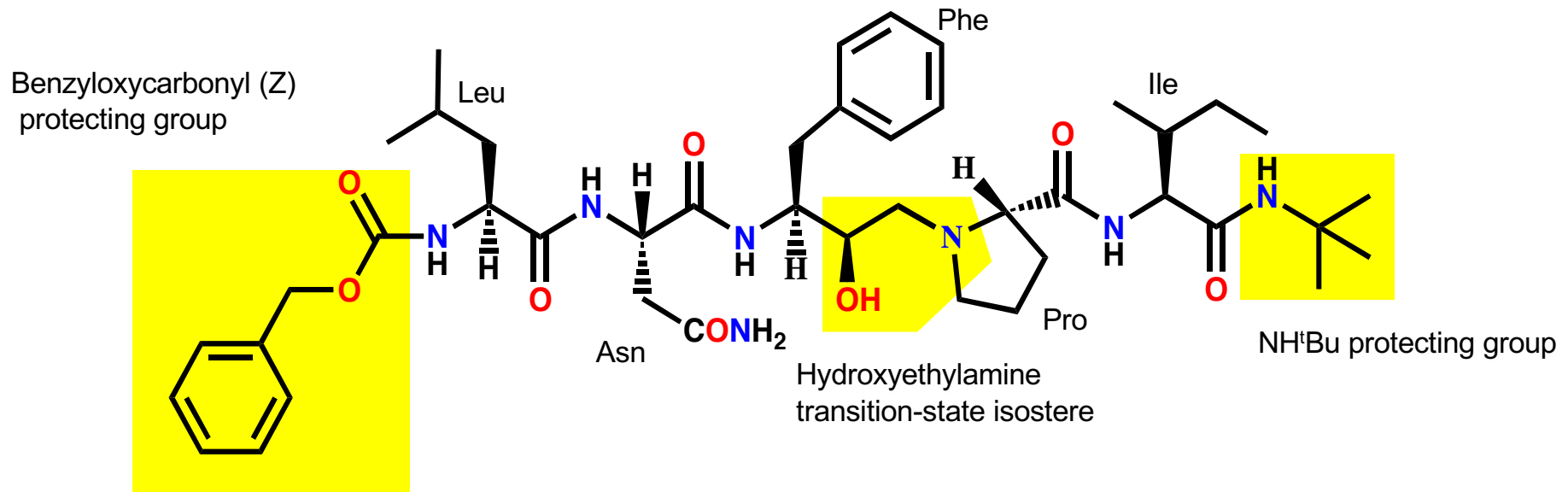


Benzyloxycarbonyl (Z)
protecting group



Inibitori della Proteasi

Lead compound



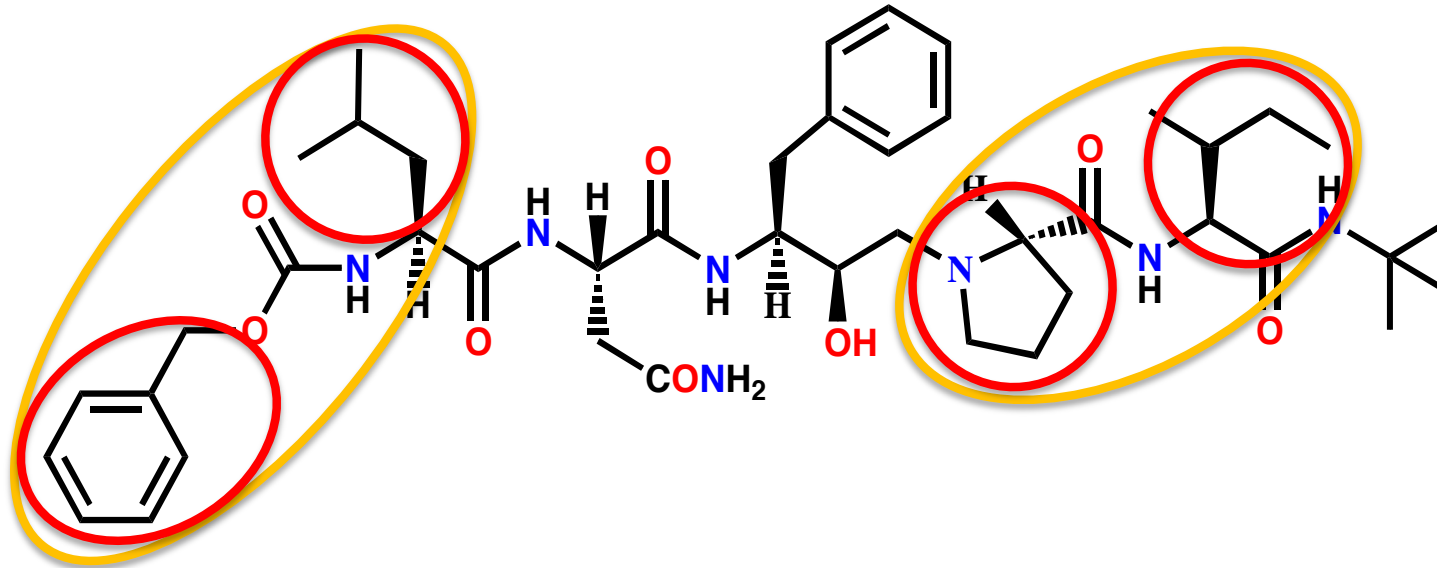
- Debole inibitore (IC_{50} 750 nM)
- Stabile alla reazione
- 5 residui: nei subsiti S3-S2'

Svantaggi

- Alto peso molecolare
- Forte carattere peptidico
- Scarsa biodisponibilità

Inibitori della Proteasi

Lead compound

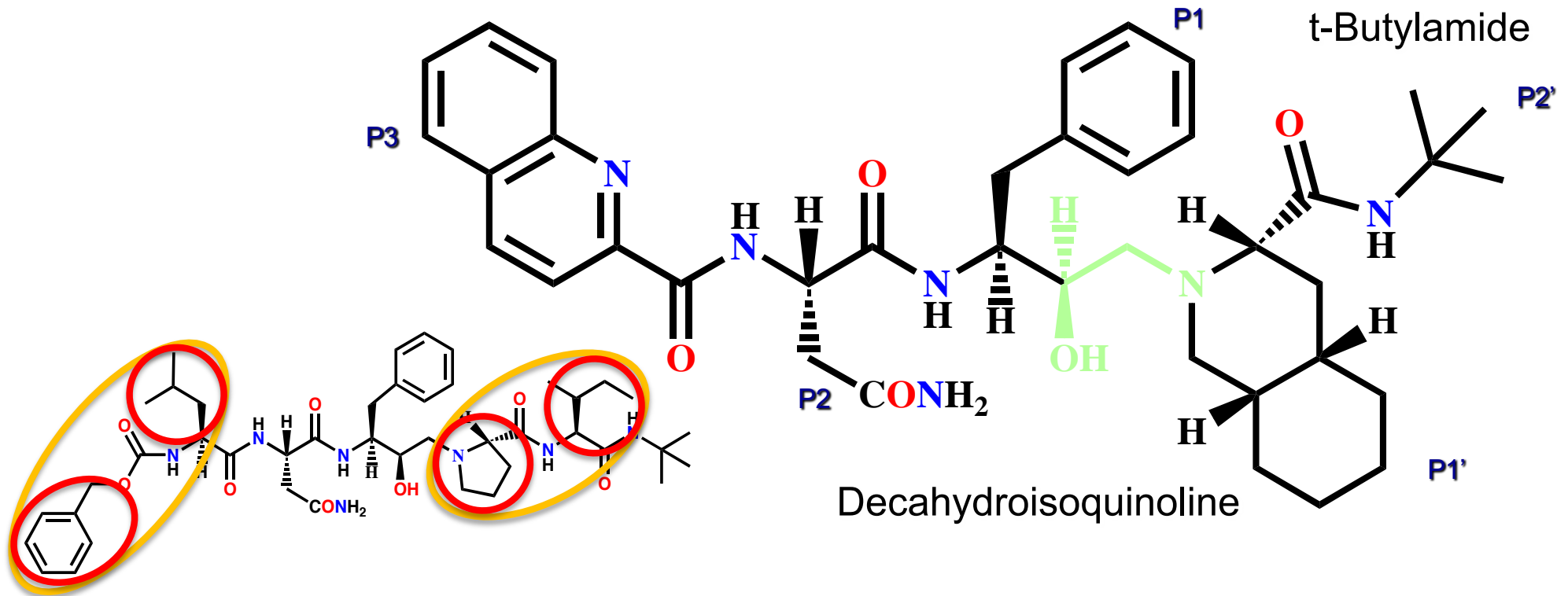


- Debole inibitore (IC_{50} 750 nM)
- Stabile alla reazione
- 5 residui: nei subsiti S3-S2'

Svantaggi

- Alto peso molecolare
- Forte carattere peptidico
- Scarsa biodisponibilità

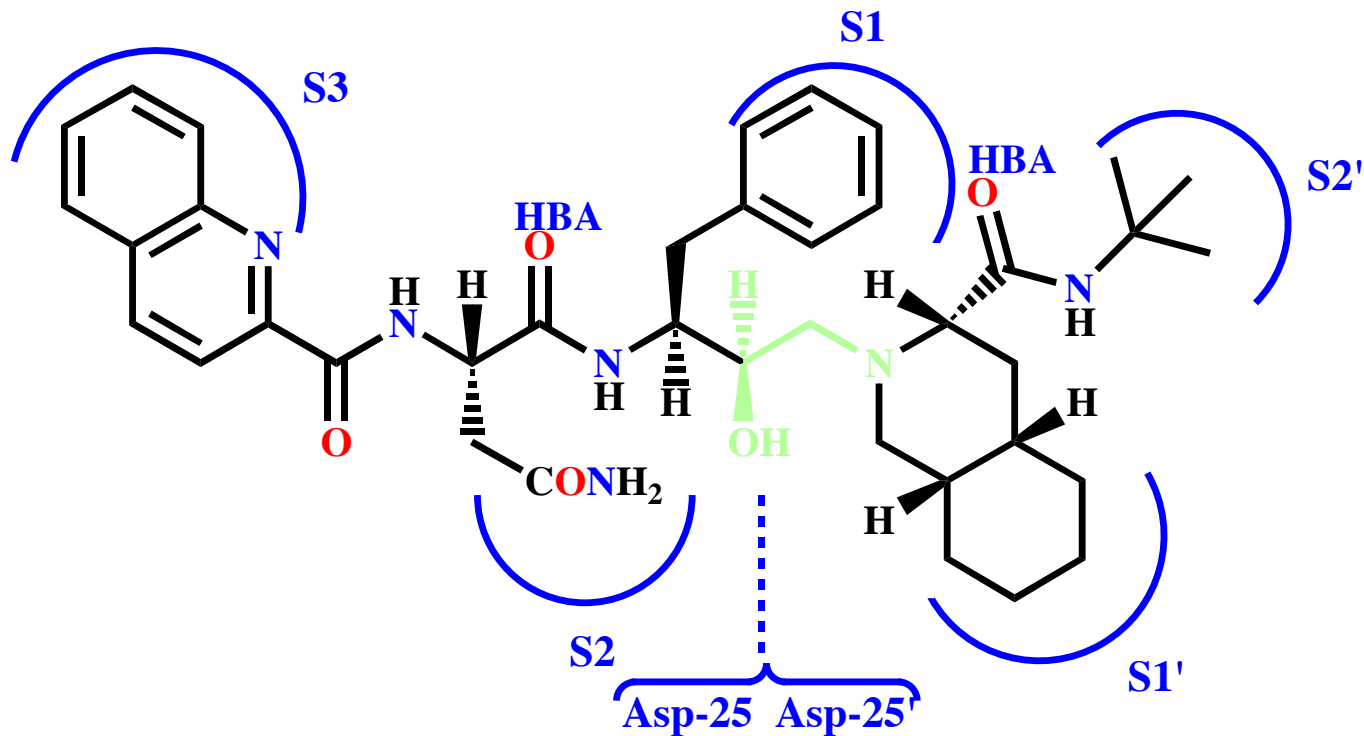
Saquinavir



- Aumento di attività di 60 volte (IC_{50} 0.4 nM)
- Stereochimica: *R* essenziale per l'isostere dello stato di transizione
- **Saquinavir** : primo inibitore della proteasi in clinica

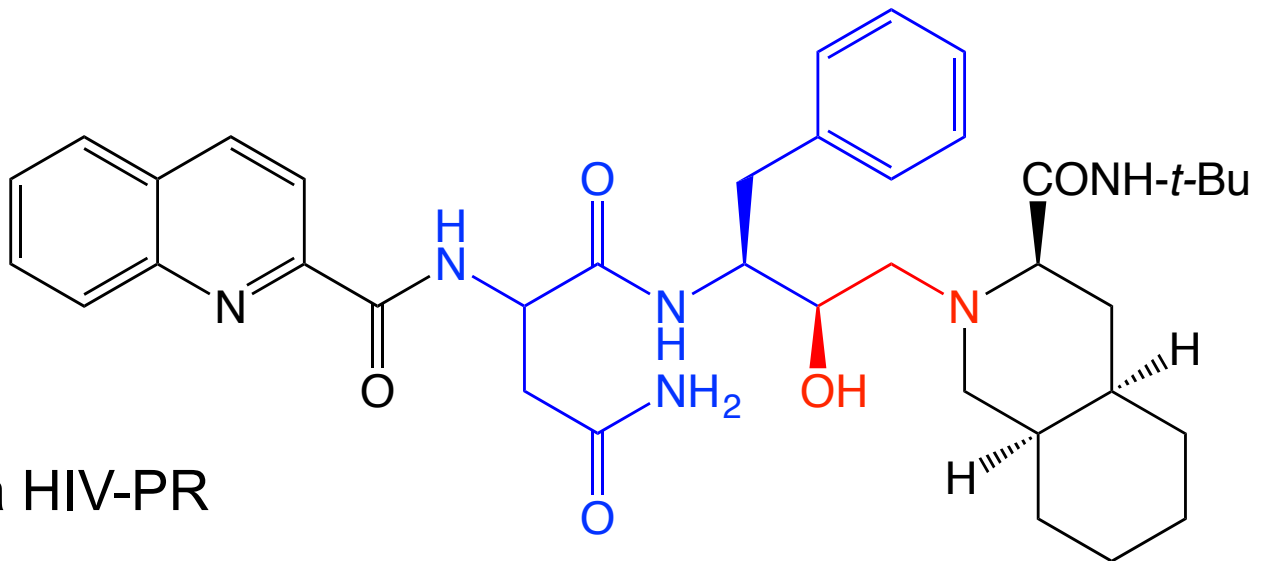
Saquinavir

- Studi mediante cristallografia raggi X
- 5 subsiti occupati (S3-S2')
- S3': inaccessibile
- Isostere dello stato di transizione, interazione con gli Asp catalitici
- Carbonili: HBA con la molecola d'acqua che interagisce con i flap



Saquinavir

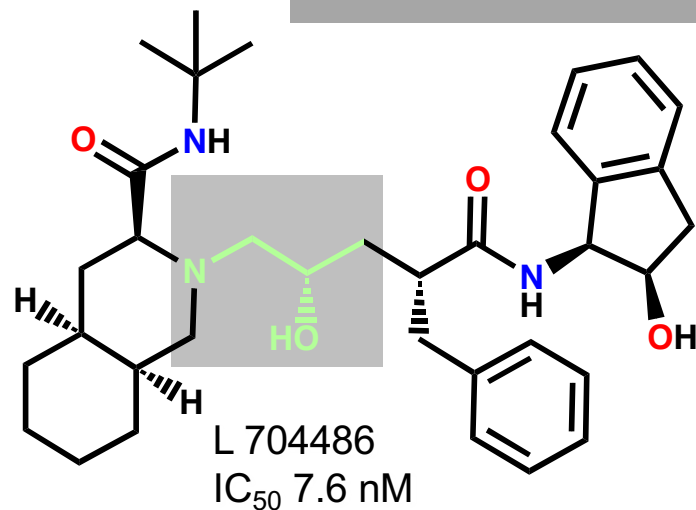
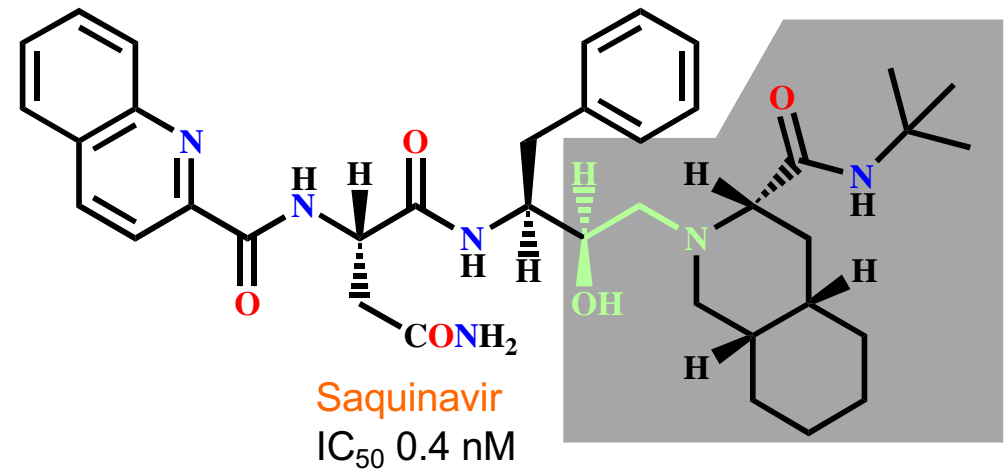
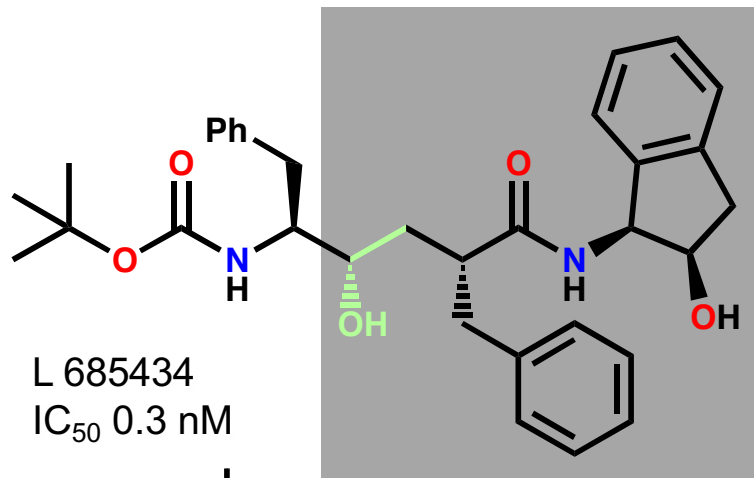
Saquinavir



- Attivo nei confronti della HIV-PR
- Saquinavir mesilato
- Scarsa solubilità in acqua
- **Assorbimento orale scarso**
- Rapido metabolismo di “first pass”
- [Ritonavir: inibizione dell’enzima responsabile del metabolismo del saquinavir nel “first pass” (CytP450 CYP 3A4)]
- Resistenza: dovuta a mutazioni Glu48/Val e Leu90/Met

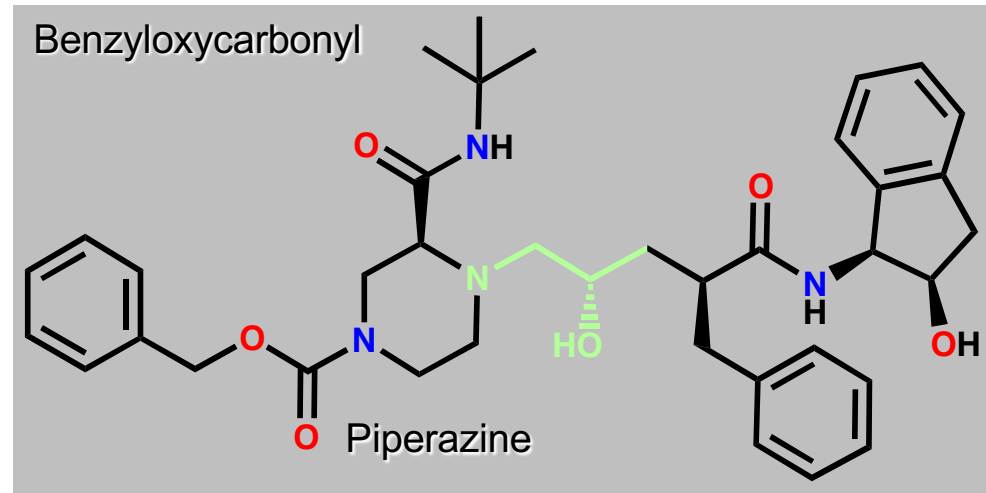
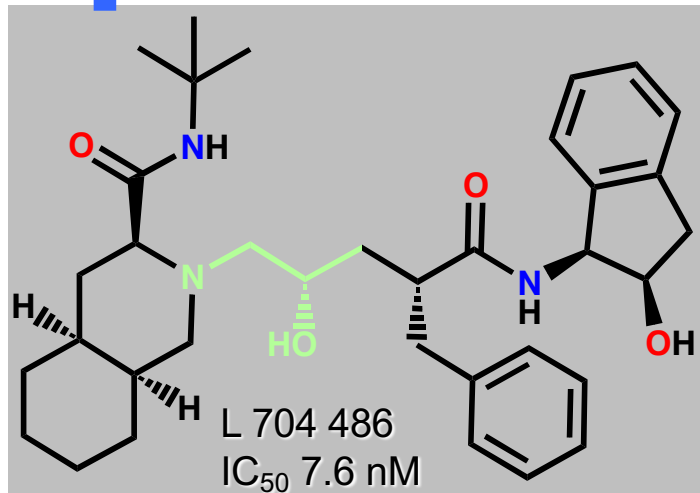
Inibitori della Proteasi

- Merck: strategia di ibridazione molecolare
- Utilizzo di due porzioni provenienti da due derivati diversi
- Sfruttamento della simmetria del sito attivo



- P' del saquinavir: buona idrosolubilità
- P' dell'L685434: no carattere peptidico
- L 704486: meno attivo ma potente

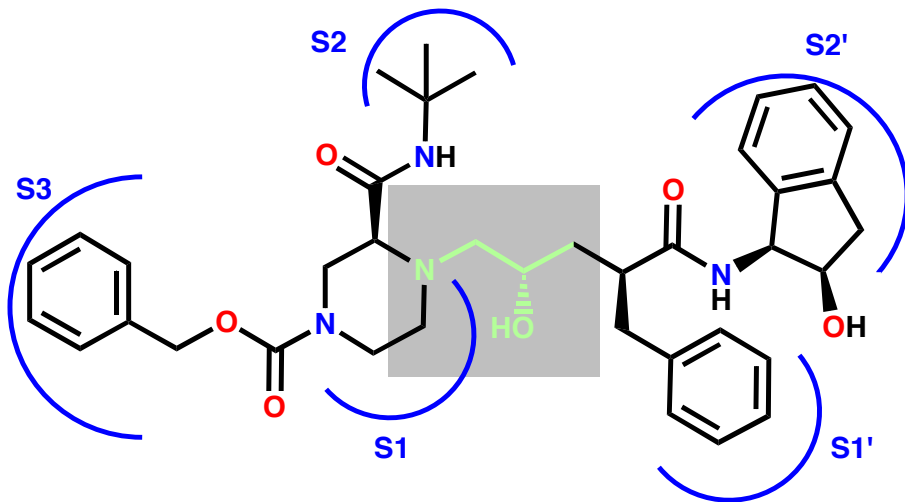
Inibitori della Proteasi



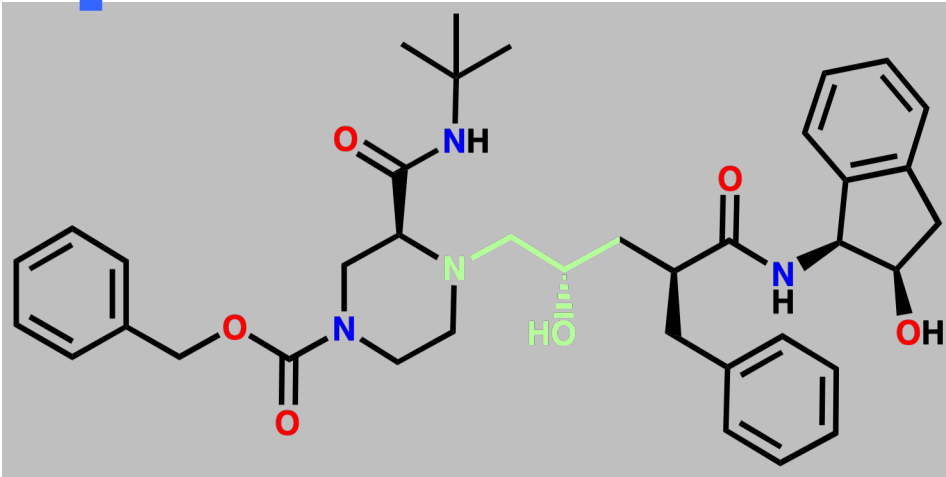
IC₅₀ 0.5 nM

Vantaggi rispetto alle decaidroisochinoline

- Facile funzionalizzazione dell'N₄
- Secondo atomo di azoto: migliore solubilità in acqua e biodisponibilità orale

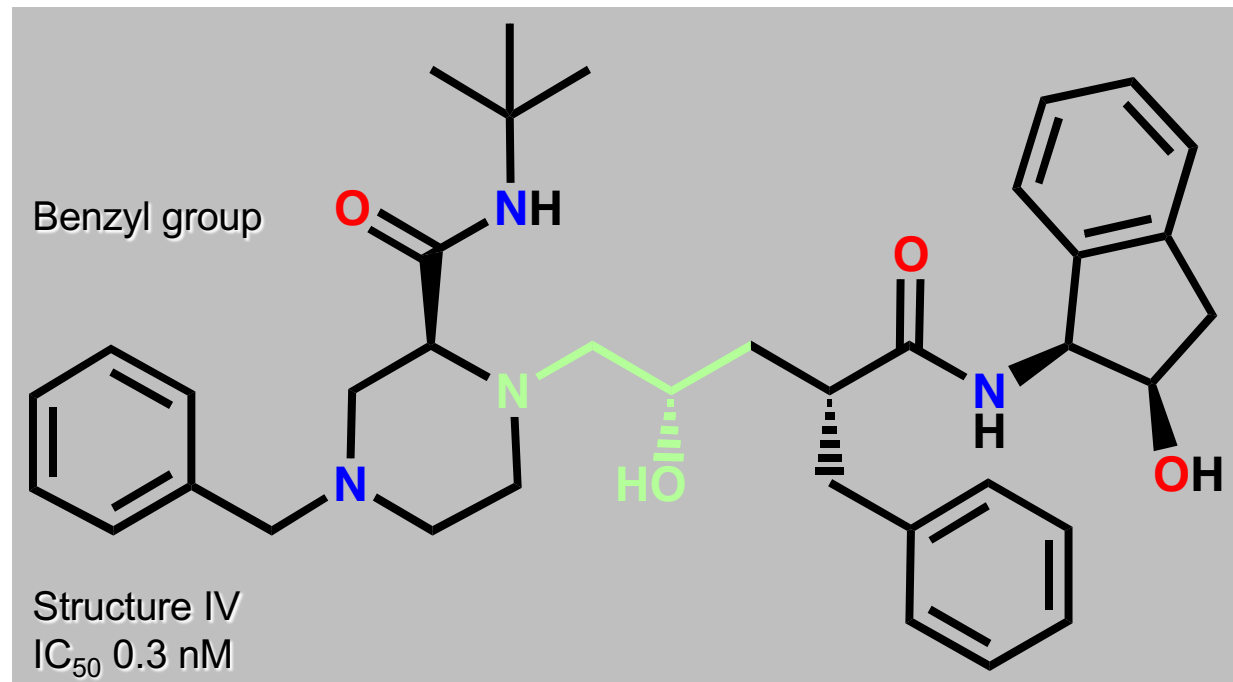


Inibitori della Proteasi



Gruppo benzilico

- Aumento attività
- Diminuzione solubilità



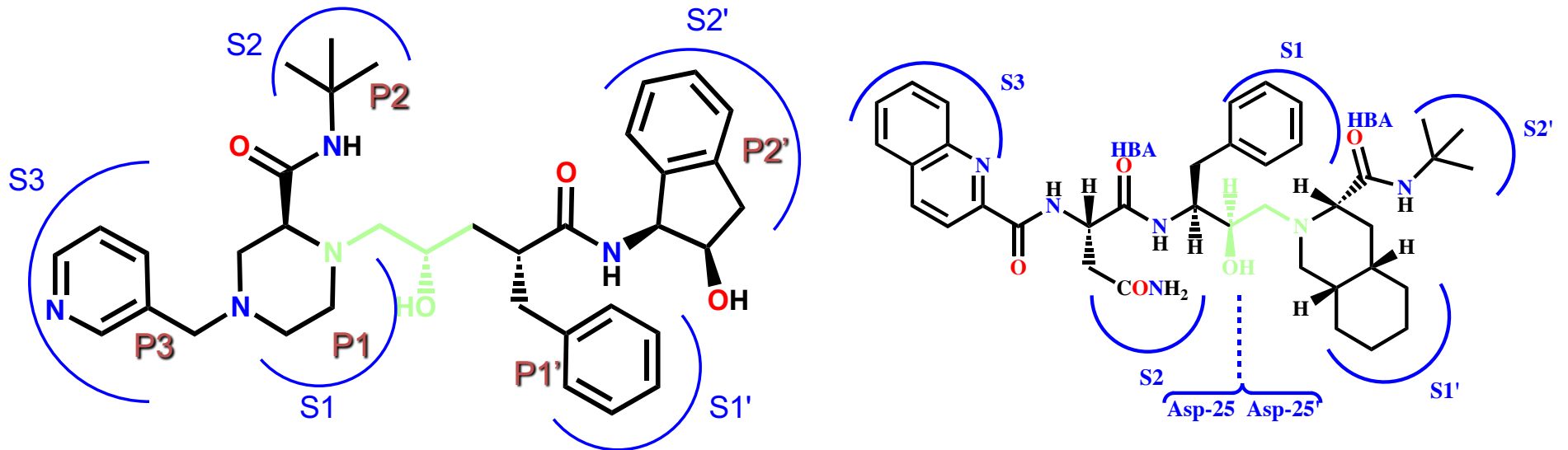
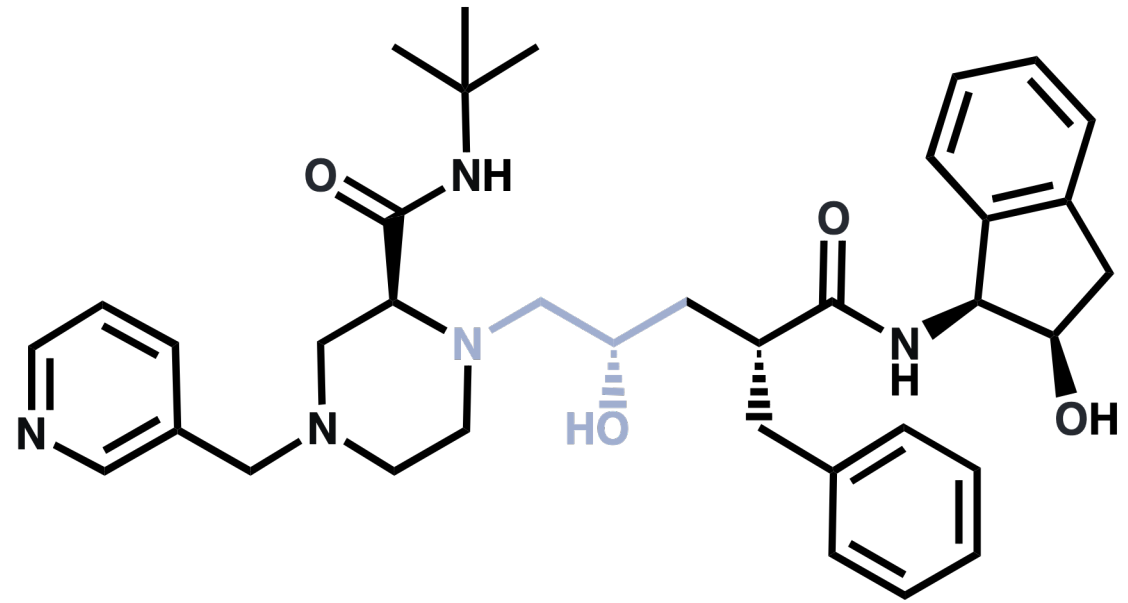
Indinavir

Indinavir

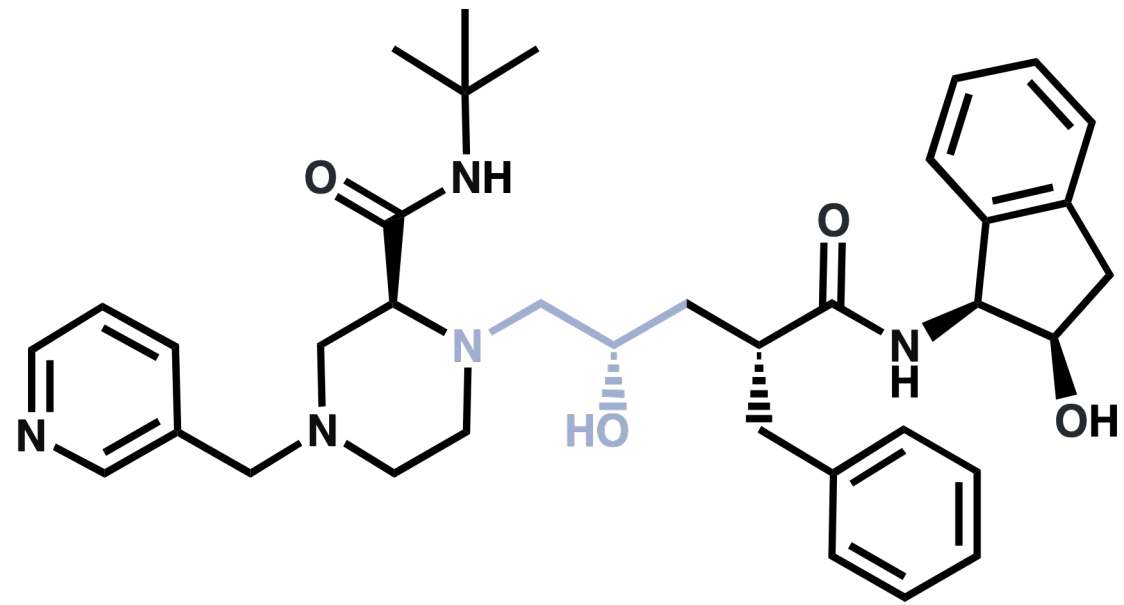
IC₅₀ 0.56 nM

K_i 0.34 nM

EC₉₅ 0.10 μM

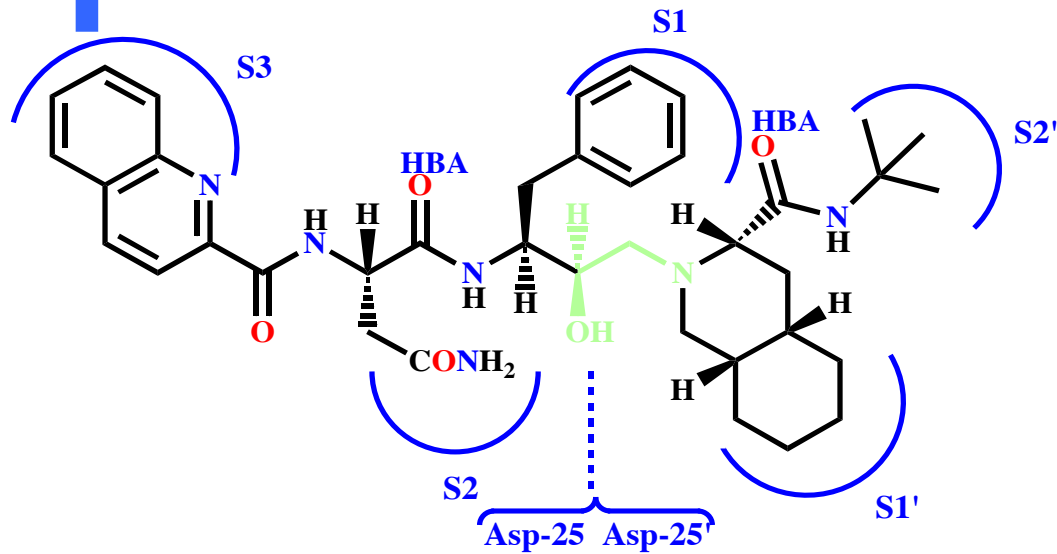


Indinavir

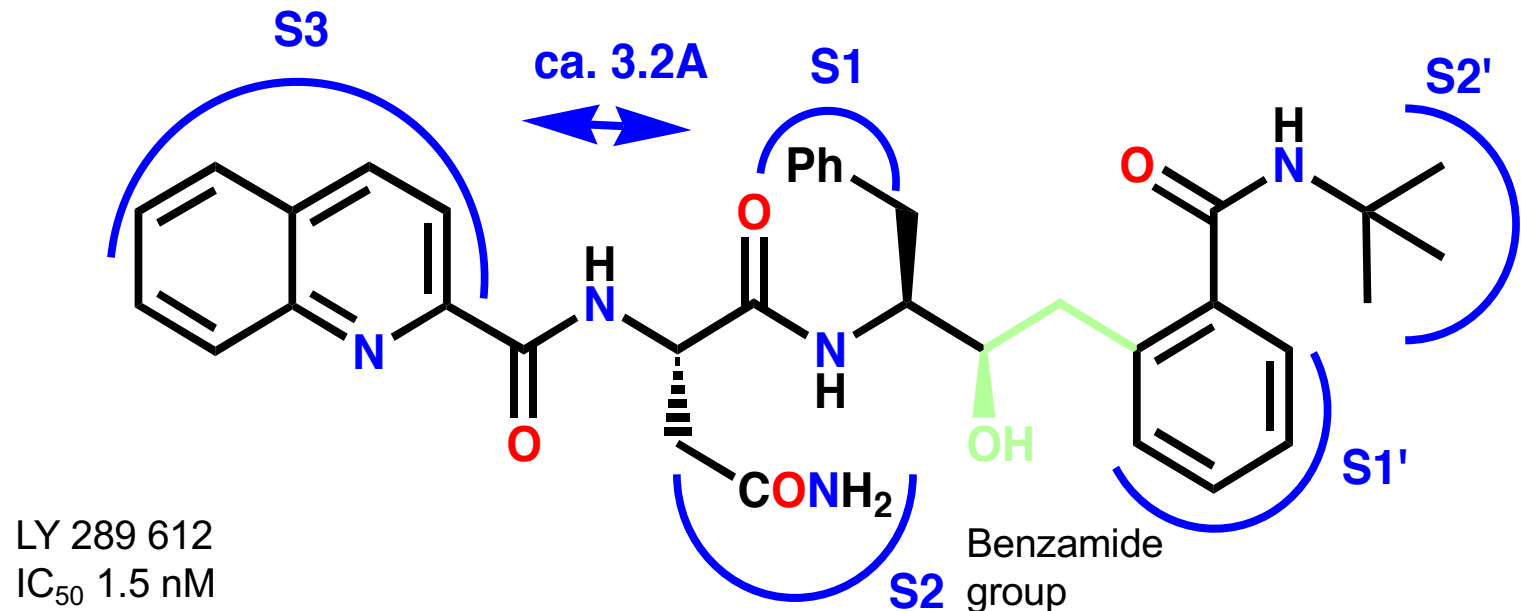


- Inibitore potente e selettivo della PR virale
- $IC_{50} = 0.56 \text{ nM}$
- Blocco della proliferazione dell'infezione virale in culture di linfociti umani a concentrazioni 50 nM
- Biodisponibilità orale: sino al 70% di quella ottenuta per ev

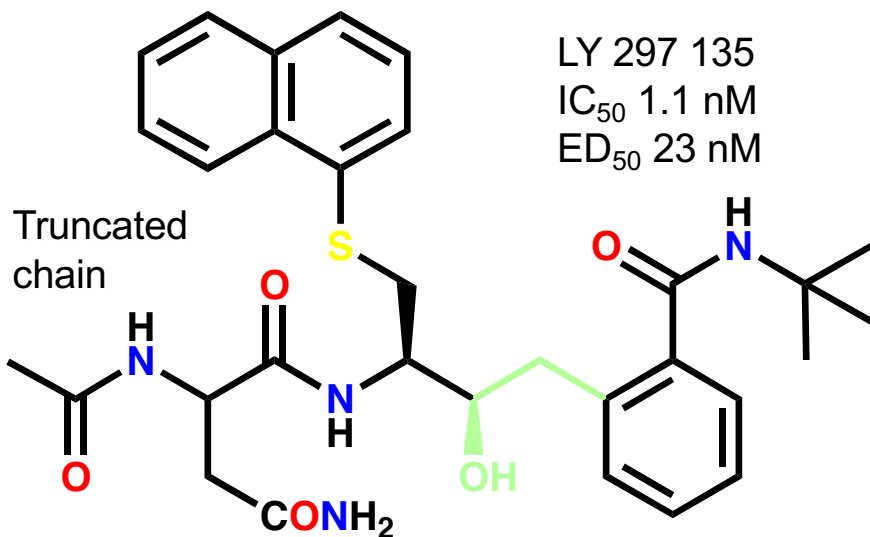
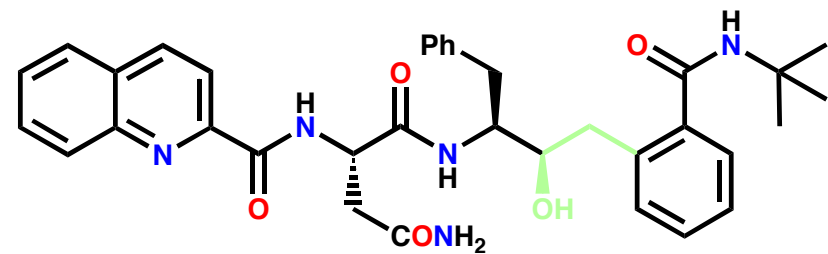
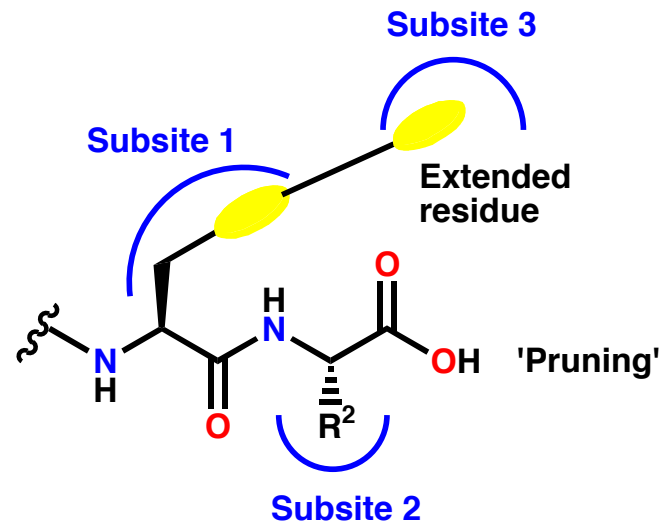
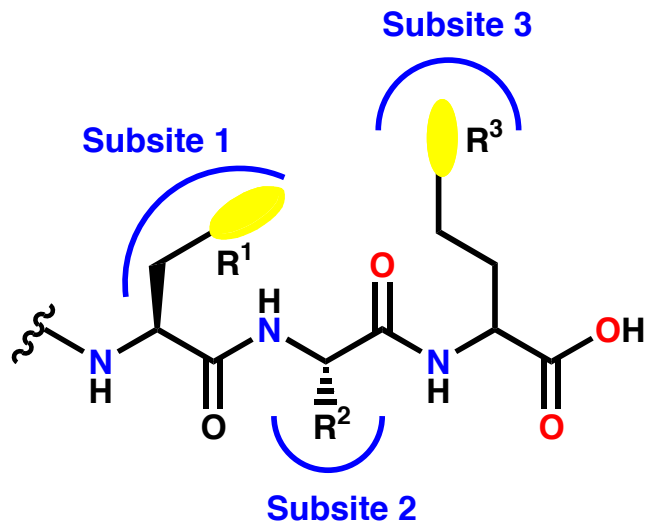
Inibitori della Proteasi



- Gruppo benzilico (P1) e chinolinico (P3) vicini
- Possibilità di estendere P1 per occupare sia S1 and S3
- Eliminazione di P3
- Minore MW
- Minore carattere peptidico



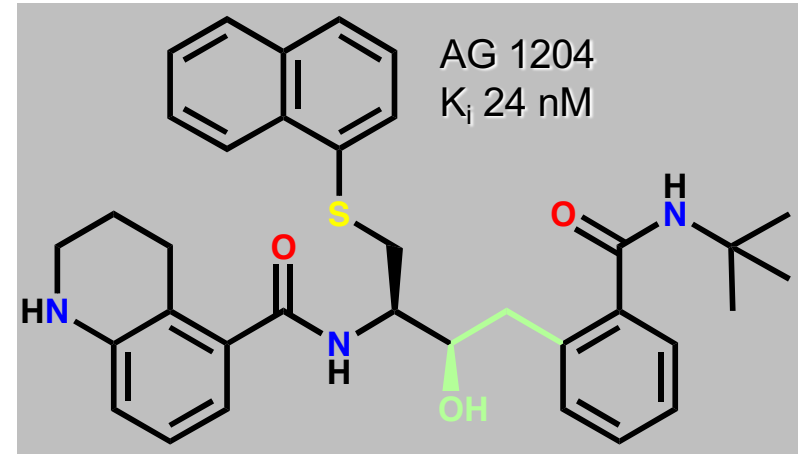
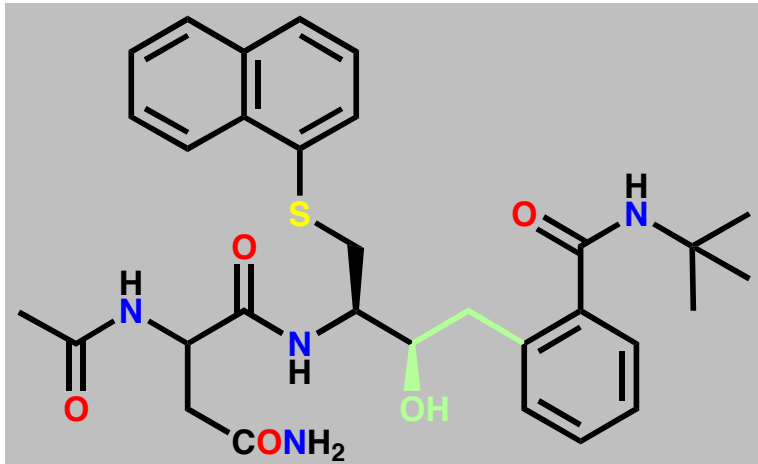
Inibitori della Proteasi



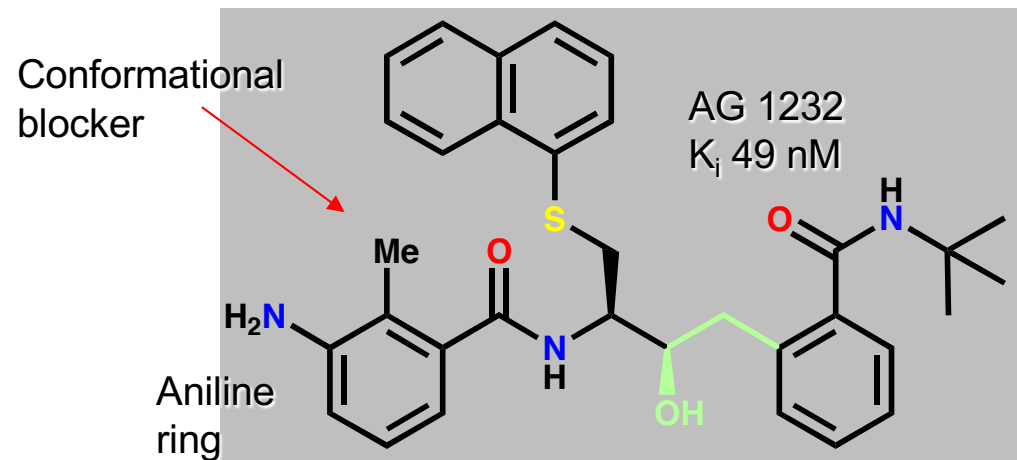
LY 297 135
 IC_{50} 1.1 nM
 ED_{50} 23 nM

- P3 eliminato
- Fenile rimpiazzato da gruppo S-naftilico
- Buona inibizione enzimatica
- Attività a livello cellulare scarsa
- Asparagina: da eliminare

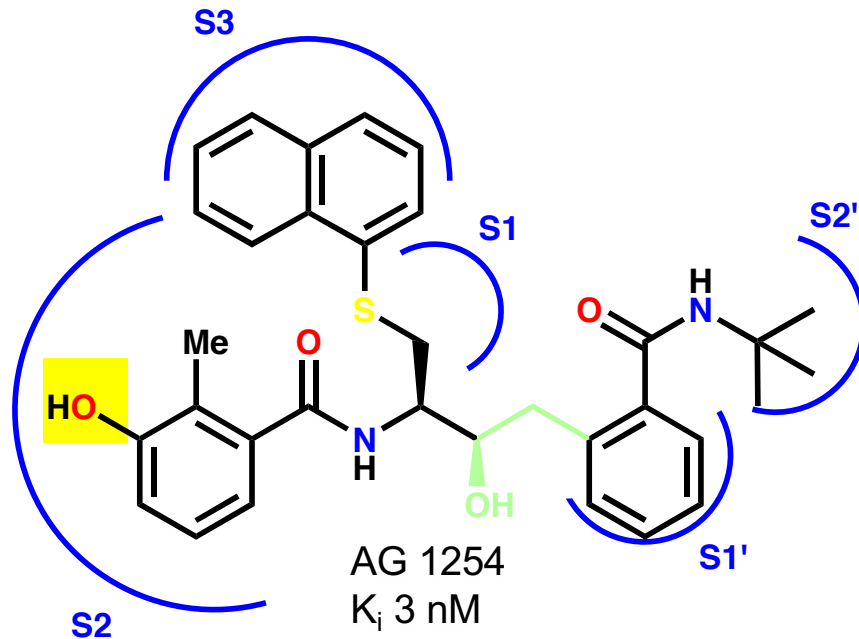
Inibitori della Proteasi



- Asparagina: rimpiazzata da una tetraidrochinolina
- Diminuzione del carattere peptidico

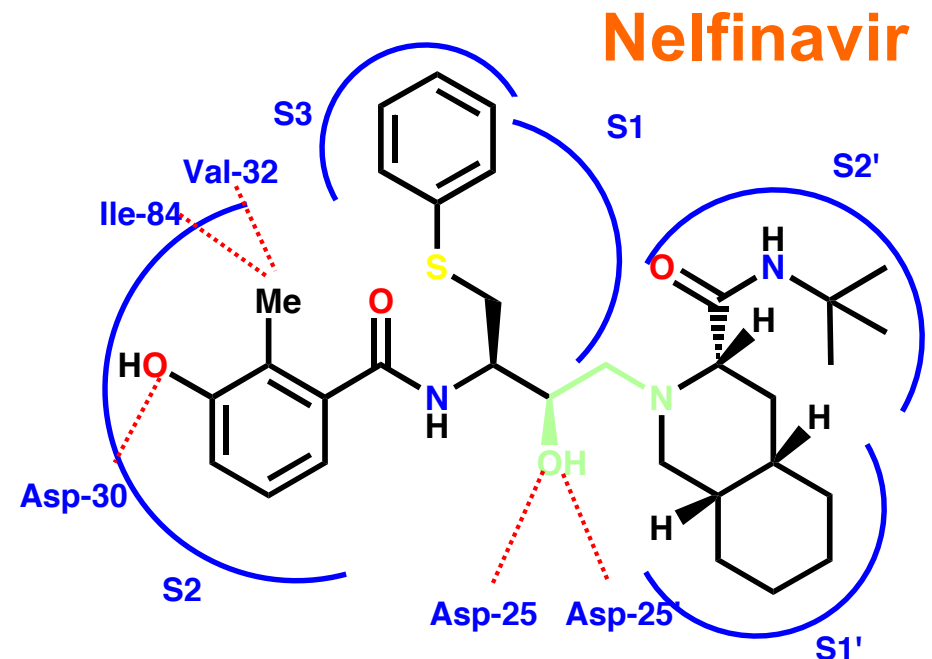


Nelfinavir



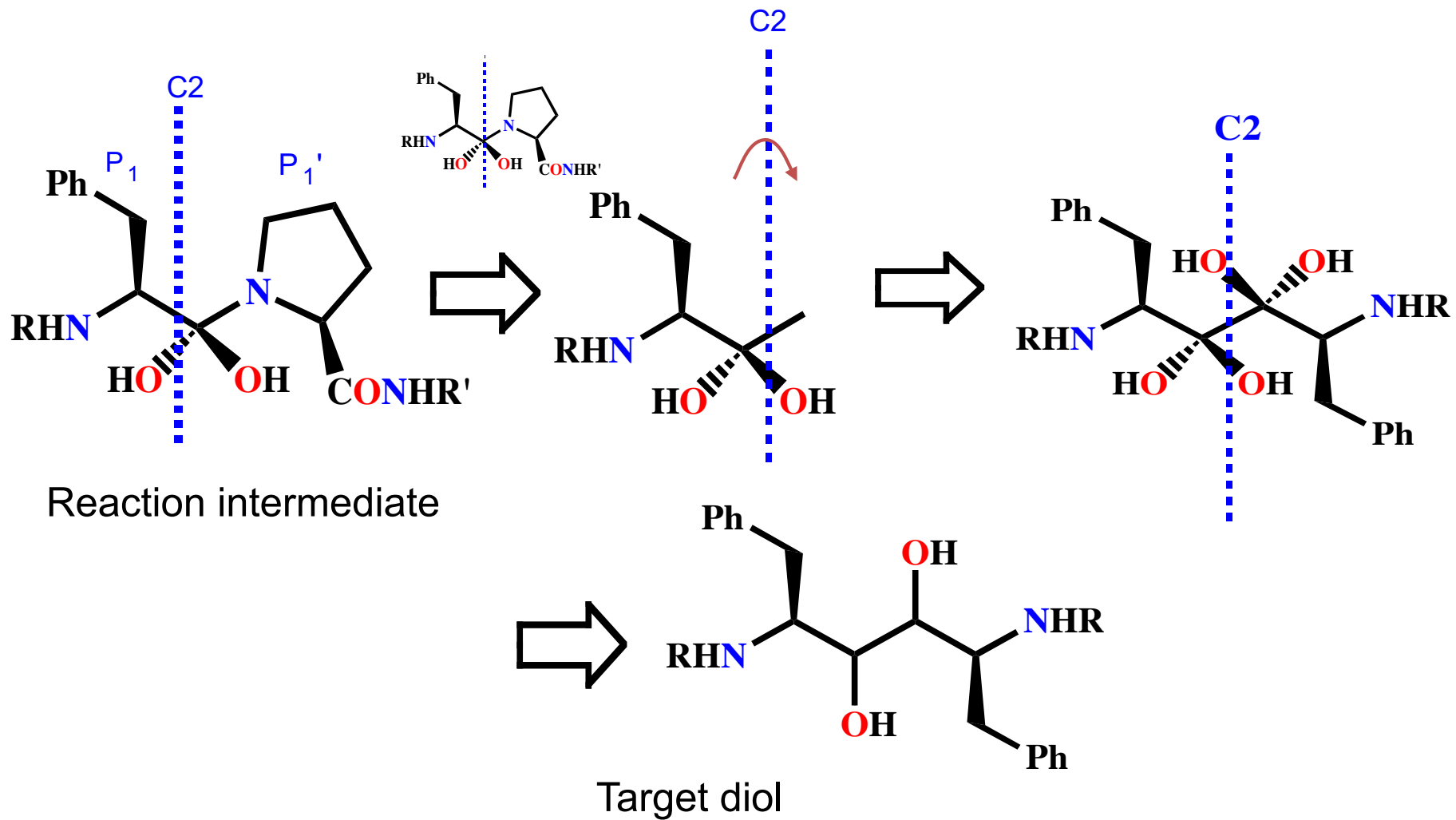
- OH anzichè NH_2
- Aumento dell'inibizione enzimatica (10 volte)
- Scarsa idrofilia

- Semplificazione molecolare del saquinavir
- Migliore biodisponibilità orale



Inibitori della Proteasi

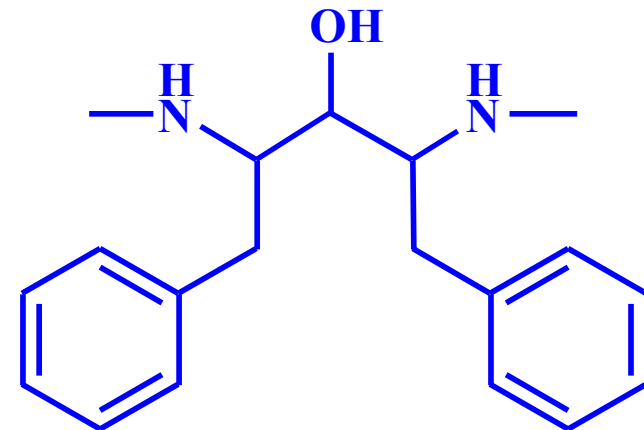
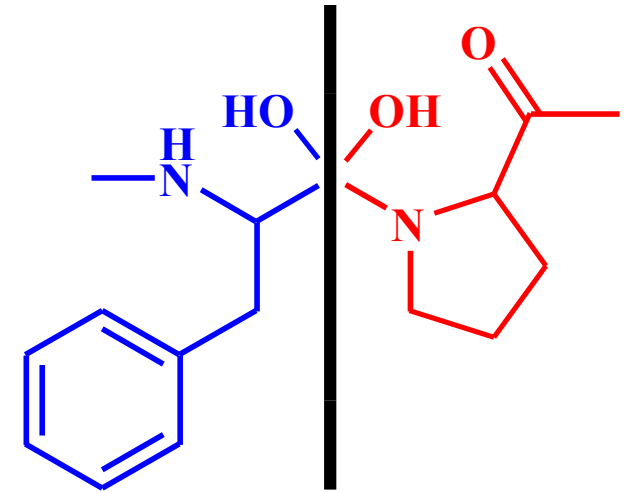
De novo design of symmetrical lead compound II



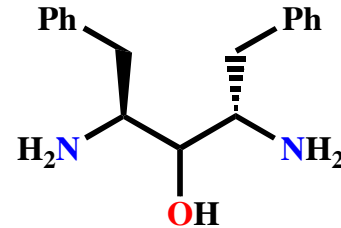
Inibitori della Proteasi

Inibitori C₂-simmetrici

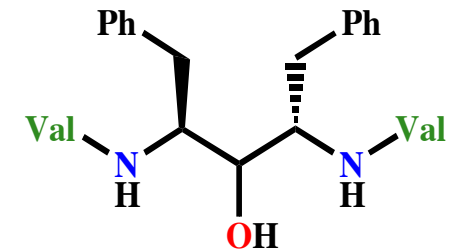
- Progettazione sfruttando la configurazione omodimera C₂-simmetrica dell'enzima
- Inibitori C₂-simmetrici
- Ridotto carattere peptidico
- Processo concettuale a tre stadi:
 - definizione di un asse di simmetria C₂
 - cancellazione della porzione C-terminale del substrato
 - duplicazione della porzione N-terminale



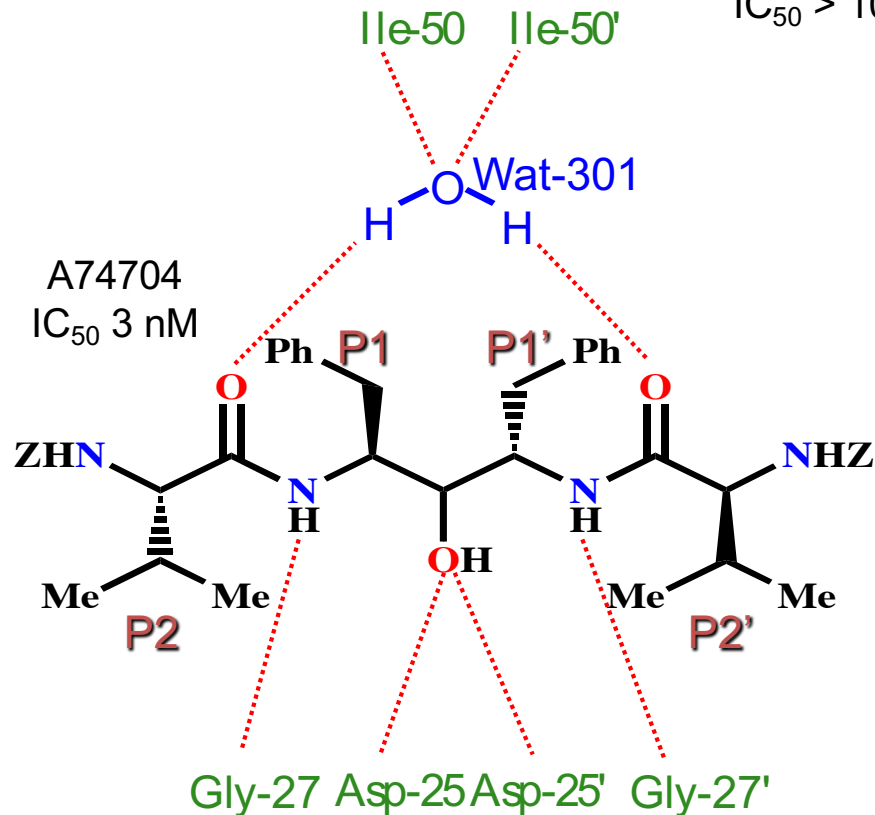
Ritonavir e Lopinavir



Target alcohol (I)
IC₅₀ > 10,000 nM

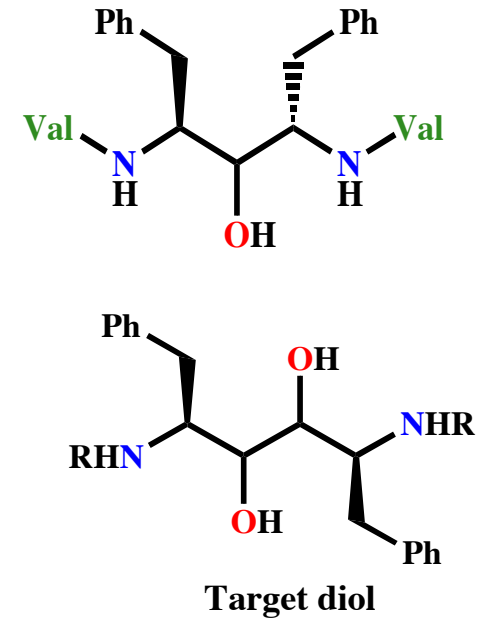
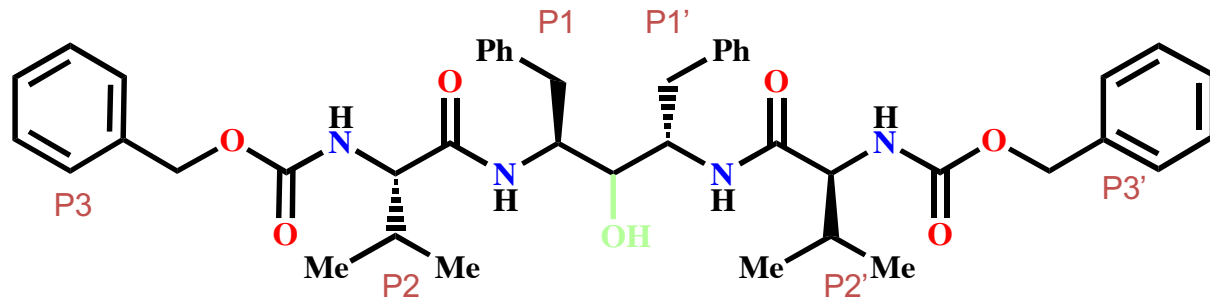


(II)
IC₅₀ 590 nM

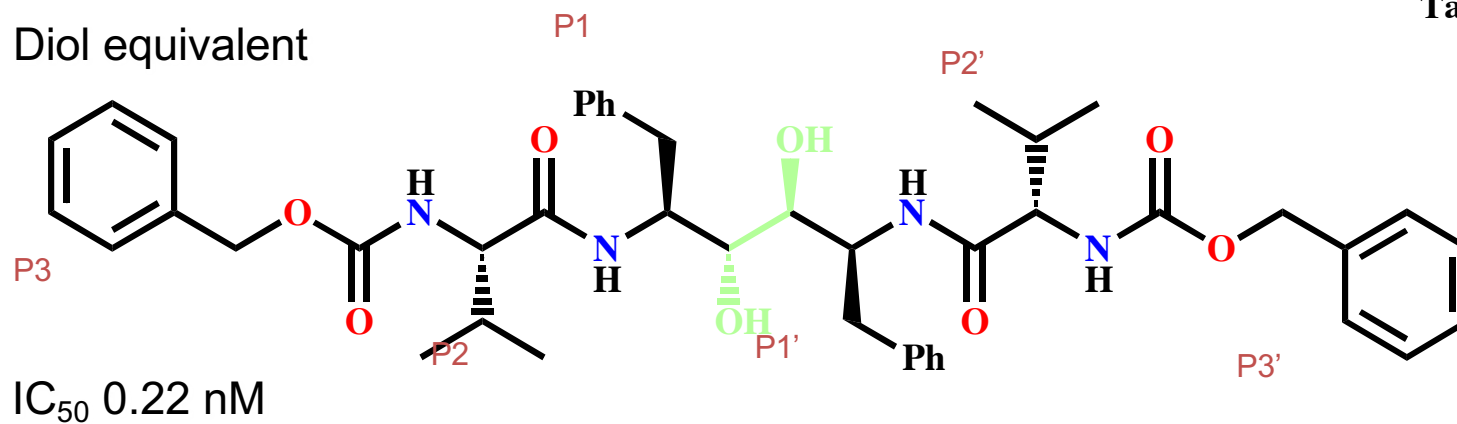


- Pattern di legame simmetrico
- Interazioni con Gly-27 e Gly-27' non ottimali
- Miglioramento aumentando la distanza tra gli NH?

Inibitori della Proteasi

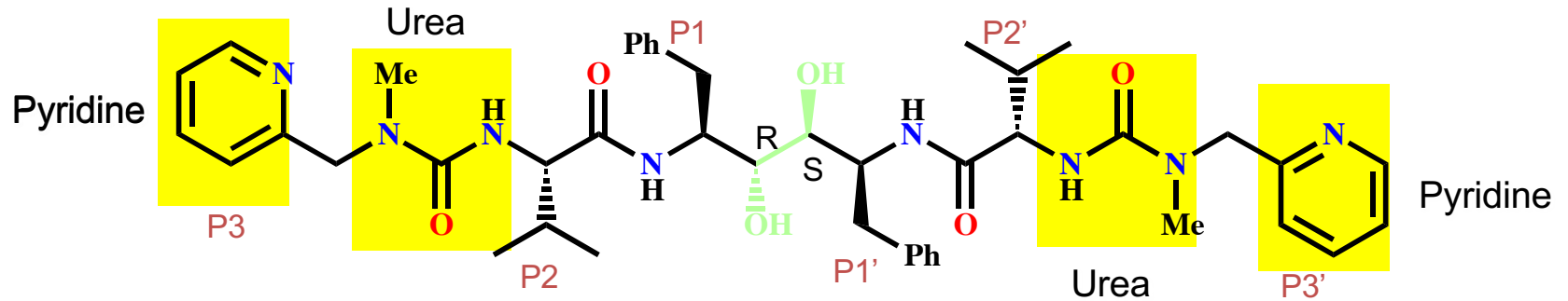


Diol equivalent



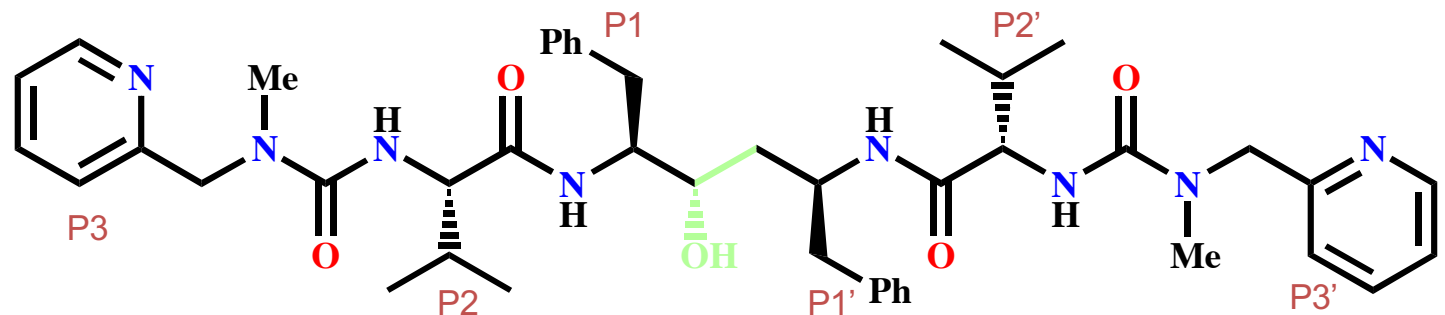
Inibitori della Proteasi

A77003



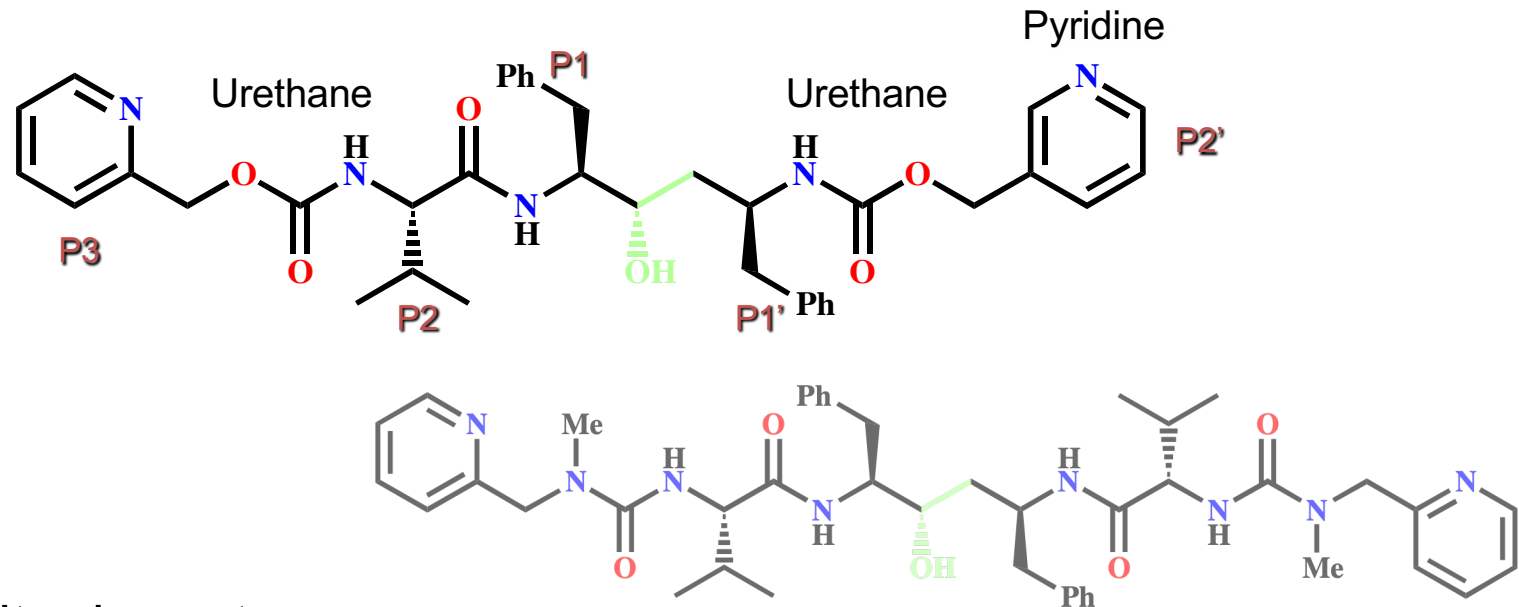
- EC_{50} 0.2 μ M; K_i 140 pM
- **Binding asimmetrico osservato nella struttura cristallografica**
- R-OH: 2 legami H con gli aspartati catalitici
- S-OH: 1 solo legame H
- Rimozione di S-OH per evitare penalizzazioni energetiche da desolvatazione

A78791



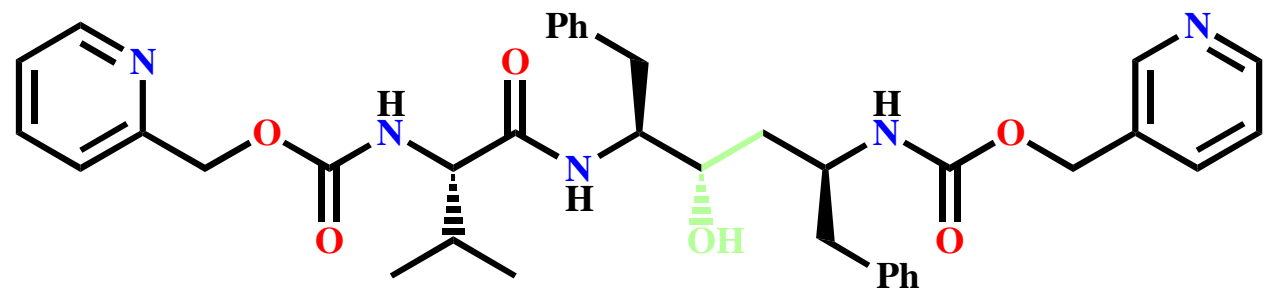
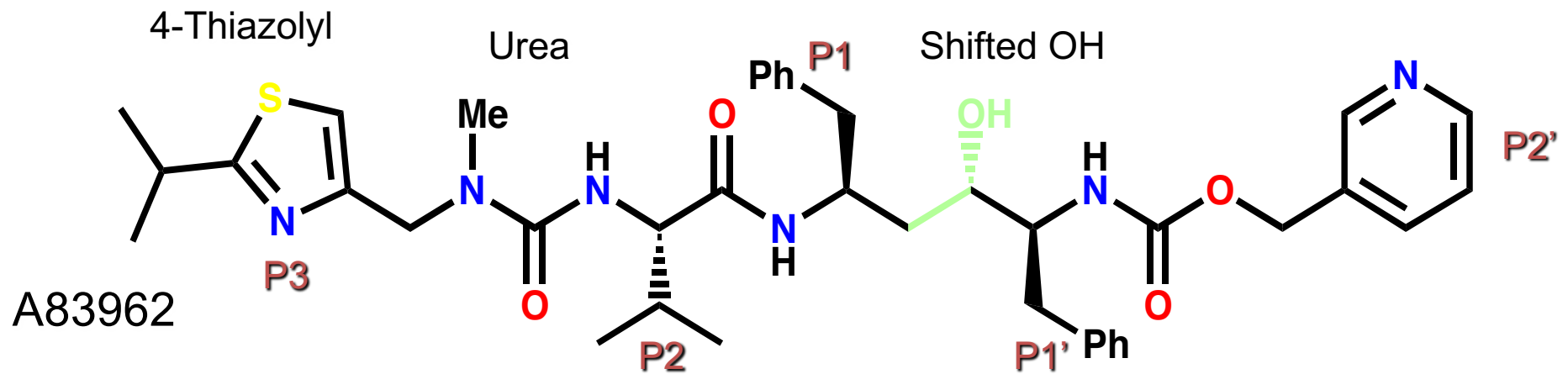
Inibitori della Proteasi

A80987



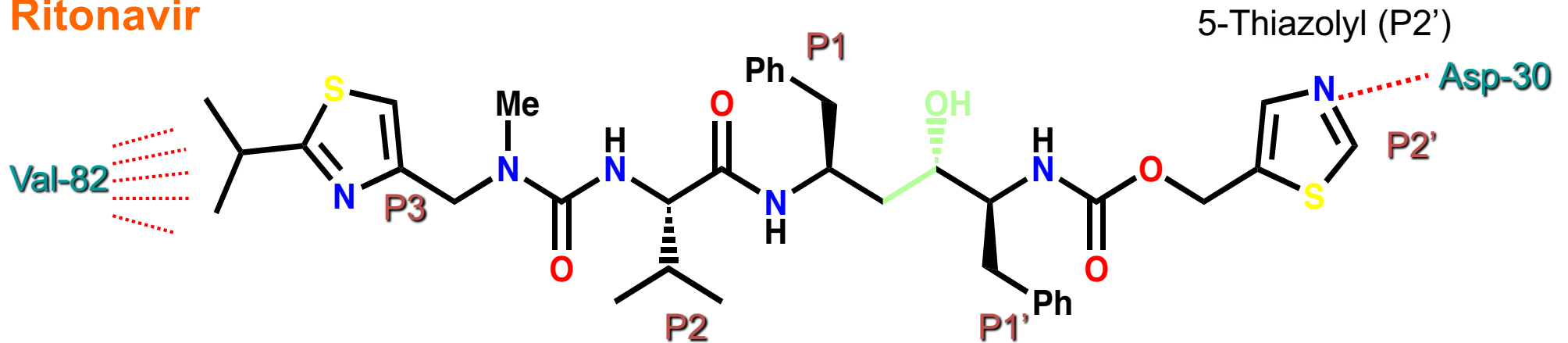
- Urea sostituita da uretano
- Valina: eliminata dalla porzione destra
- Molecola non più simmetrica, ma più piccola
- EC_{50} 0.13 μ M
- Piridine: suscettibile al metabolismo (*N*-oxidation)
- Ingombro sterico e sostuenti elettron attrattori per bloccare l'ossidazione
- Sostituzione dell'anello con altri eterocicli

Inibitori della Proteasi



Ritonavir

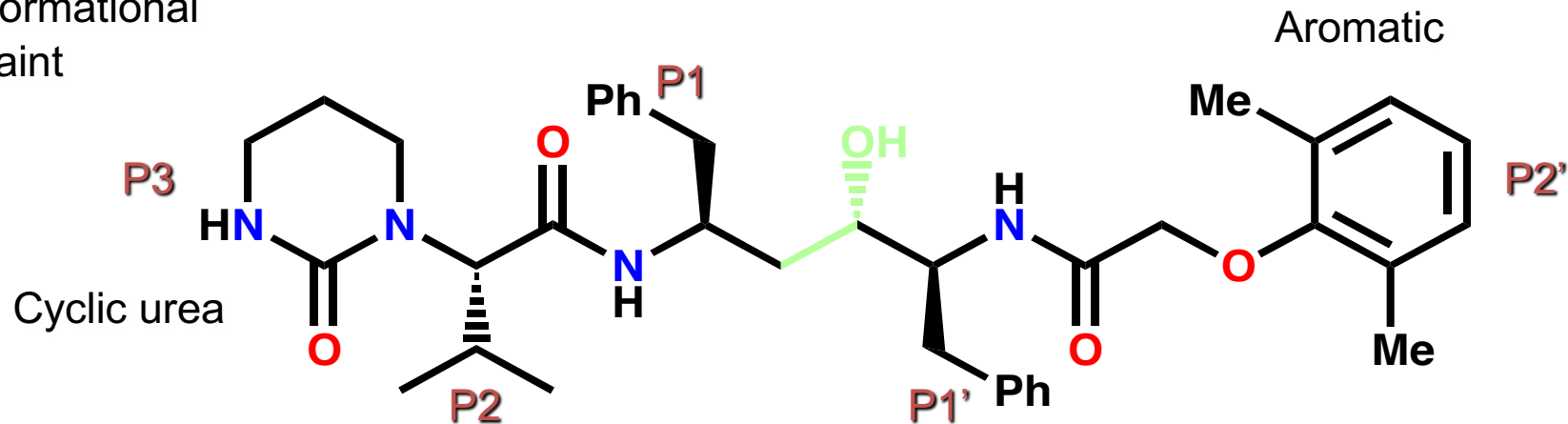
Ritonavir



- Anello tiazolico: bio-isostere della piridina (P2')
- Attività aumentata (EC_{50} 30 nM)
- Azoto tiazolico: Legami H con Asp-30
- Farmaco resistenza se usato da solo
- Mutazione di Val-82 in Ala, Thr in Phe
- Rottura di interazione idrofobiche tra Val-82 e isopropile

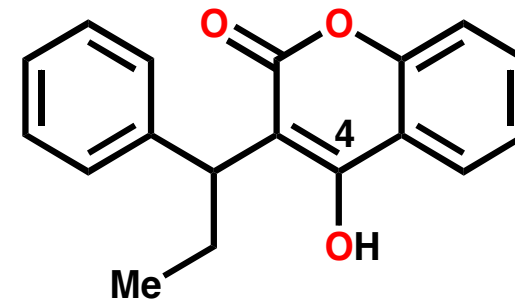
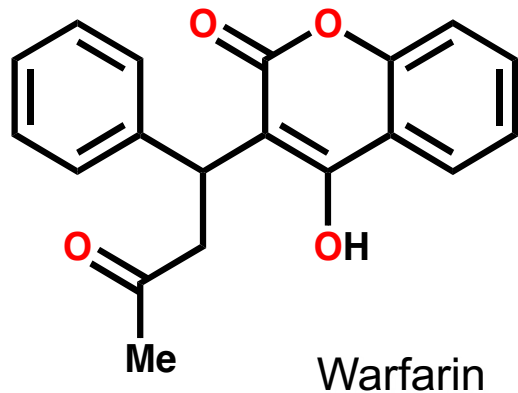
Lopinavir

Conformational
restraint



- Gruppo tiazolico P3 rimosso e sostituito con un'urea ciclica
- ➔ interazioni di legame idrogeno migliorate con il sito secondario S2
- Compensazione della perdita di interazioni di legame a causa della rimozione del gruppo tiazolico
- Nessuna interazione con Val-82
- Attivo contro i ceppi resistenti al ritonavir

Tipranavir

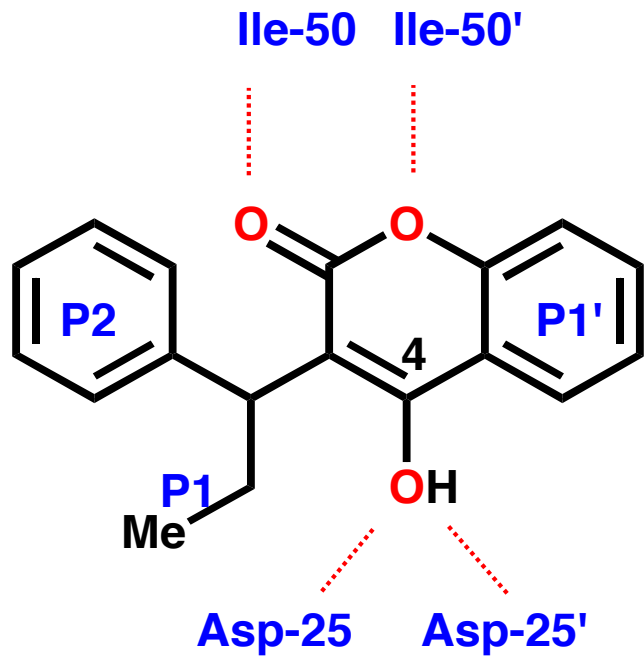


Phenprocoumon

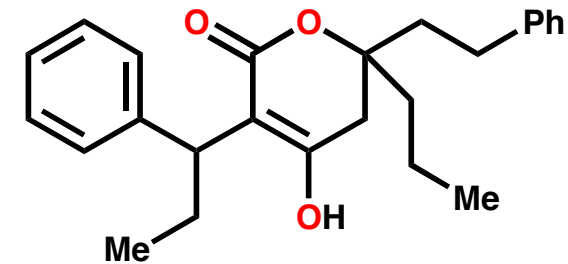
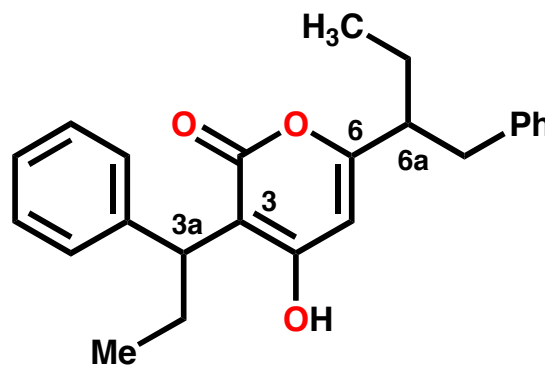
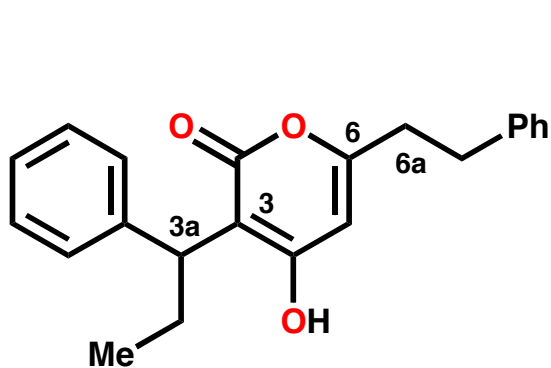
K_i 1 mM; ED_{50} 100-300 mM

- Inibitore della proteasi da un lead compound NON PEPTIDICO
- **High throughput screening** di 5000 composti per identificare un lead compound
- Warfarina: debole attività antiproteasica
- Analoghi della Warfarina
- Fenprocumone: più attivo e migliore biodisponibilità

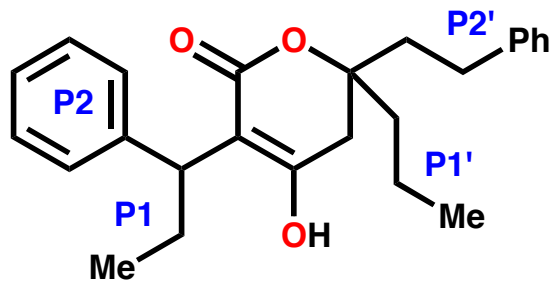
Tipranavir



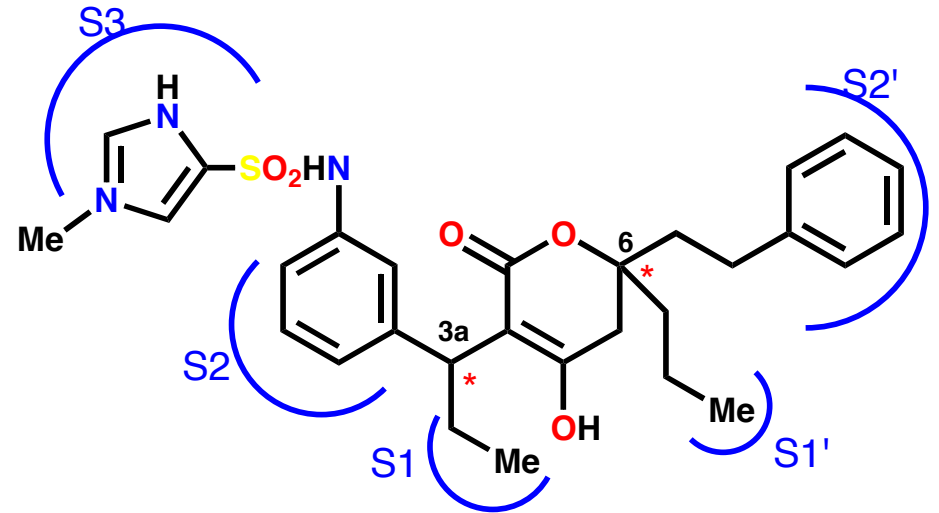
- Primo inibitore della proteasi con legame diretto ai flap
- No H₂O
- Occupazione dei sottositi S1', S1 e S2



Tipranavir

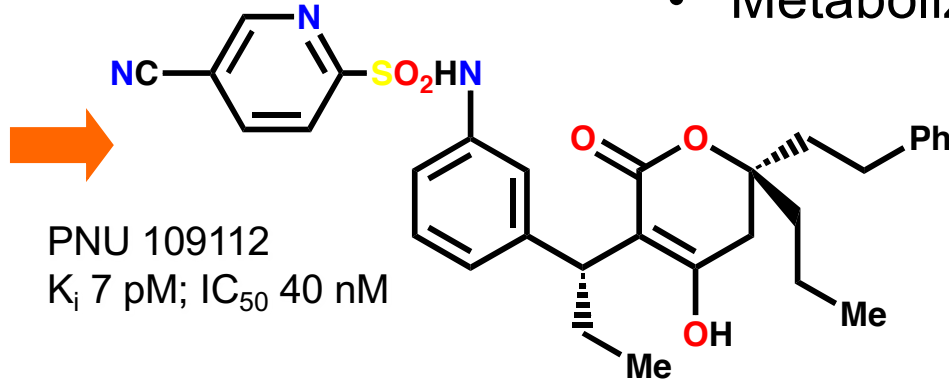


Structure I
 K_i 35 nM; ED_{50} 3 μ M



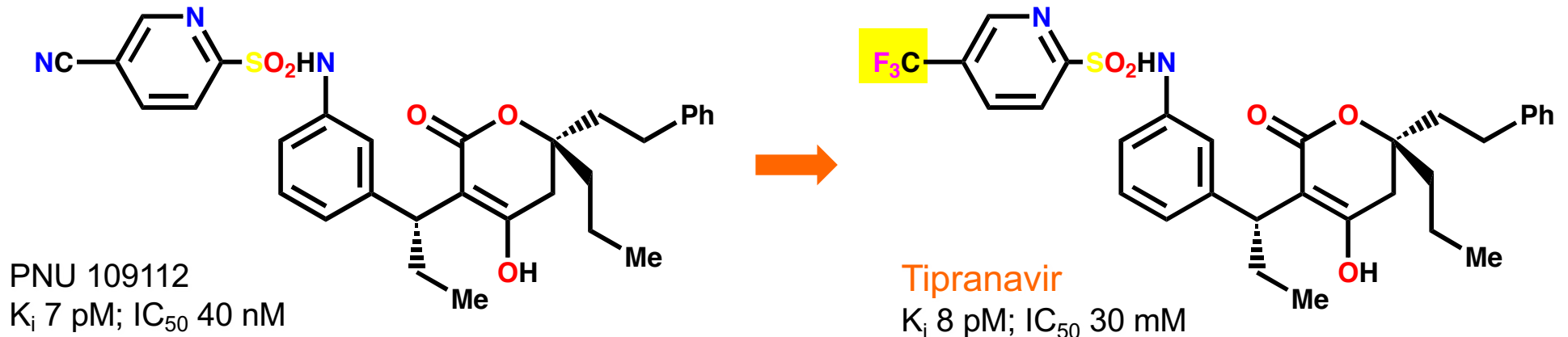
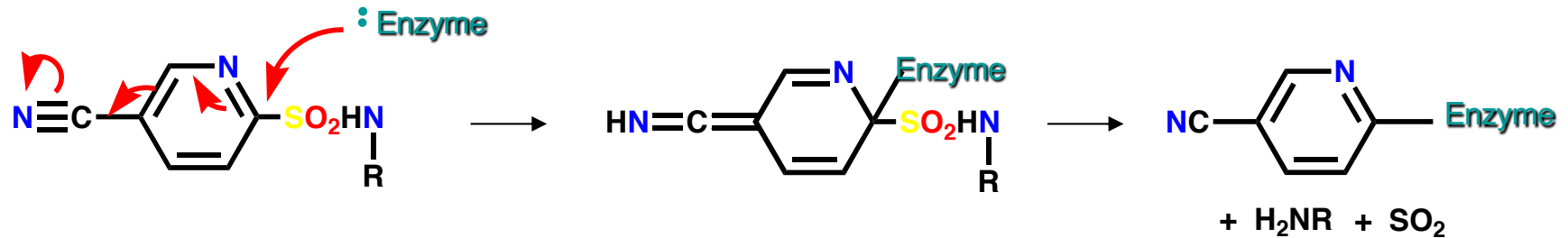
Structure II; K_i 1 nM; IC_{50} 0.5 μ M
Mixture of diastereomers

- Aumento attività
- Solfonamide: metabolicamente labile
- Metabolizzata da glutatione S-transferase

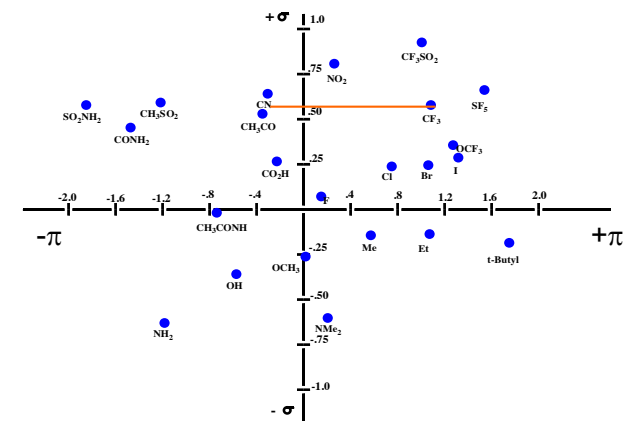


PNU 109112
 K_i 7 pM; IC_{50} 40 nM

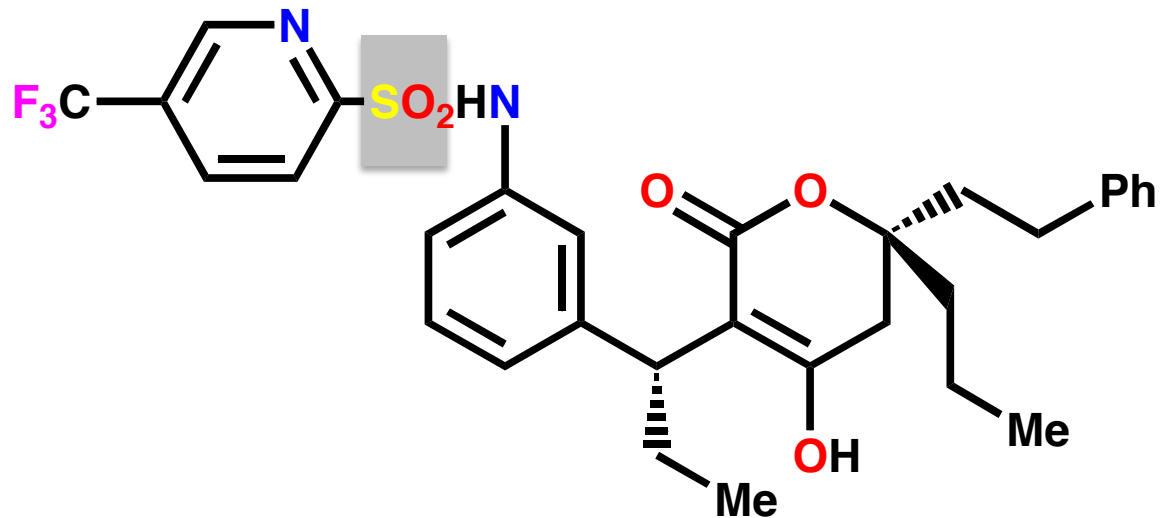
Tipranavir



- Miglioramento della stabilità metabolica
- Legame al sito attivo occupando S1, S2, S3, S1', S2'



Tipranavir



Tipranavir

- Potente e selettivo inibitore della HIV-1 PR
- III generazione della classe di composti a struttura pironica
- Associazione a ritonavir a basso dosaggio, con zidovudina o abacavir
- Legame alle proteine plasmatiche (99.9%)

Hepadnavirus (DNA doppio filamento con RNA intermediario)

- Epatiti virali: infezioni del fegato causate da un gruppo di virus
- A oggi identificati: **virus A, B, C, D, E e G** dell'epatite

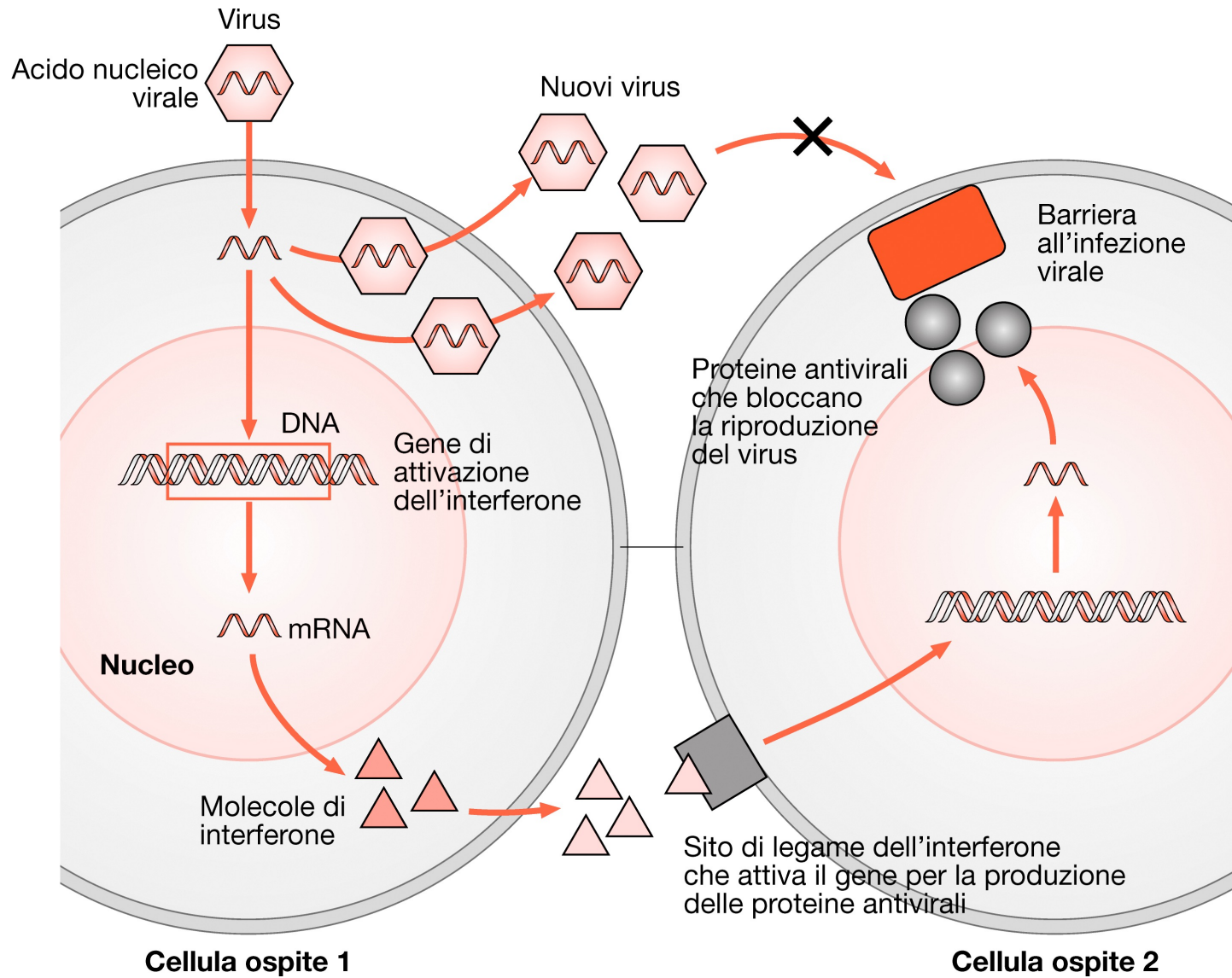
- Hepadnavirus: **EPATITE B**
- Epatiti B, C, D (probabilmente anche G): trasmesse per via ematica e sessuale

- Epatiti virali acute: infiammazione del fegato e necrosi epatocellulare
- Possibile immunizzazione attiva con vaccini specifici (epatite A e B) o passiva con immunoglobuline

Interferoni

- Complessa famiglia di proteine, alcune glicosilate
- Sistema di difesa dell'organismo contro le infezioni e contro l'insorgenza di cloni cellulari neoplastici
- Nell'uomo tre classi di interferon:
 - interferon alfa, leucocitario
 - interferon beta, fibroblastico
 - interferon gamma, prodotto dai T-linfociti
- Attività sulle cellule non ancora infettate, con modificazioni che le preparano a respingere l'attacco virale

Interferoni

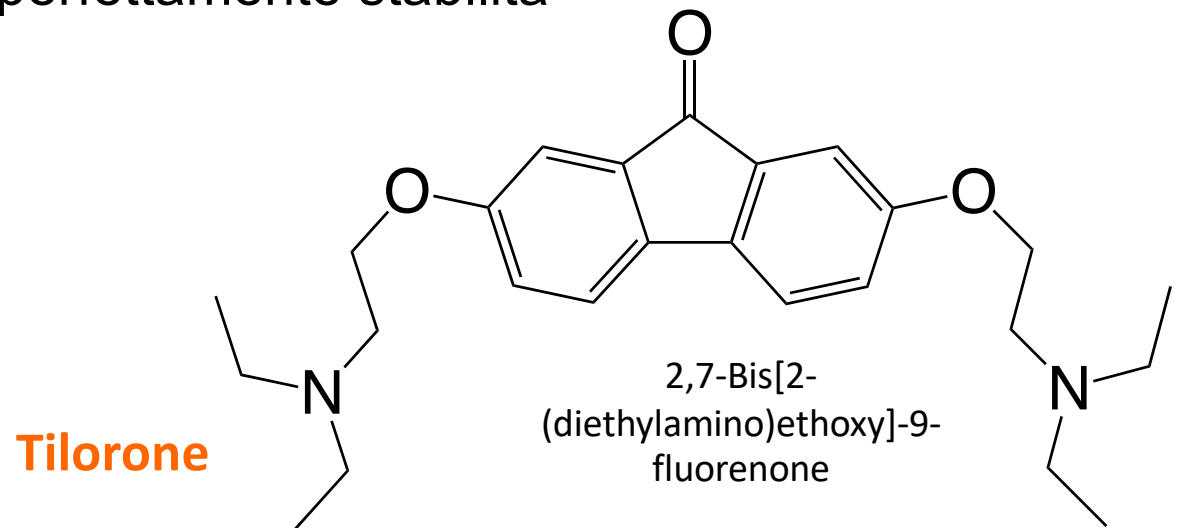


Interferoni

- **Interferone alfacon-1** (interferone consenso): 166 aa
- Sequenza: in ciascuna posizione l'aa più frequentemente presente in quella posizione, considerando le sequenze dei sottotipi α naturali
- Utilizzato nel trattamento dell'epatite cronica (HCV)
- Attività antivirale mediata dall'induzione delle proteine 2'-5'-oligoadenilato sintasi e chinasi R (PKR)
- 2'-5'-oligoadenilato sintasi: **attivazione RNAsi con degradazione RNA virale**
- PKR: **inibizione sintesi proteica**
- Recentemente dimostrata anche l'**inibizione della traslazione dell'RNA** con un meccanismo PKR indipendente

Induttori degli interferoni

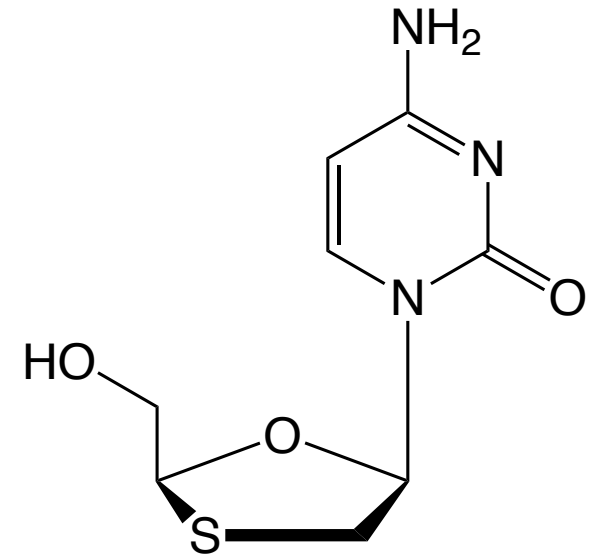
- Polinucleotidi a doppio filamento
- **Statolone**: Polisaccaride anionico da *Penicillium stoloniferum*
- Efficace nella produzione di interferone
- Doppio filamento di acido poliriboinosinico e poliribocitidilico
- Molecole di piccole dimensioni (tra cui propandiammine sostituite)
- **Tilorone**
- Efficace in modelli murini, meno nell'uomo
- Efficacia clinica non ancora perfettamente stabilita



Hepadnavirus: Antivirali

Lamivudina

- Analogo nucleosidico (citidina)
- Fosforilazione intracellulare
- **Blocco della replicazione mediante terminazione del DNA provirale nascente**
- Biodisponibilità orale dell'80%

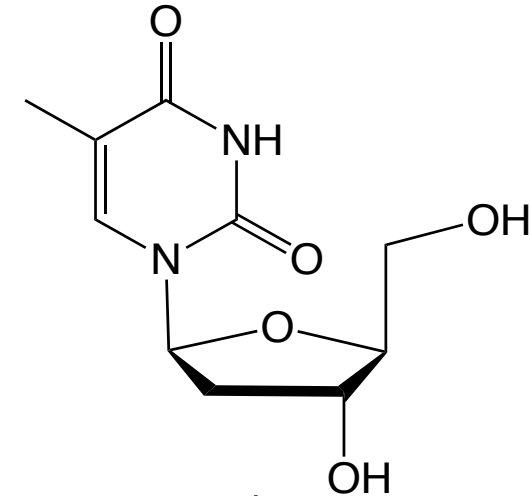


1,3-ossatiolano

Hepadnavirus: Antivirali

Telbivudina

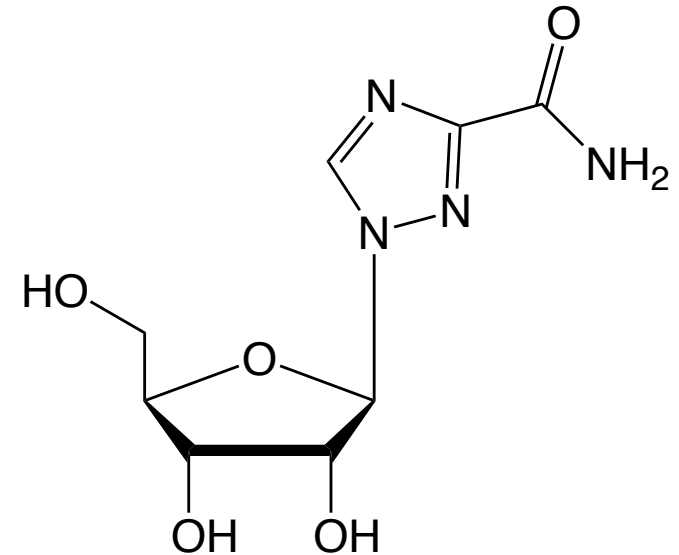
- Analogo nucleosidico sintetico della timidina (enantiomero)
- Fosforilata da chinasi cellulari a trifosfato
- **Inibizione della HBV DNA polimerasi competendo con il substrato naturale**
- Incorporazione nel DNA virale con **sua terminazione** e conseguente inibizione della replicazione virale
- Inibitore sia della sintesi del primo filamento di DNA del HBV che del secondo
- Telbivudina 5'-trifosfato fino a [100 μ M]: no inibizione della DNA polimerasi umana



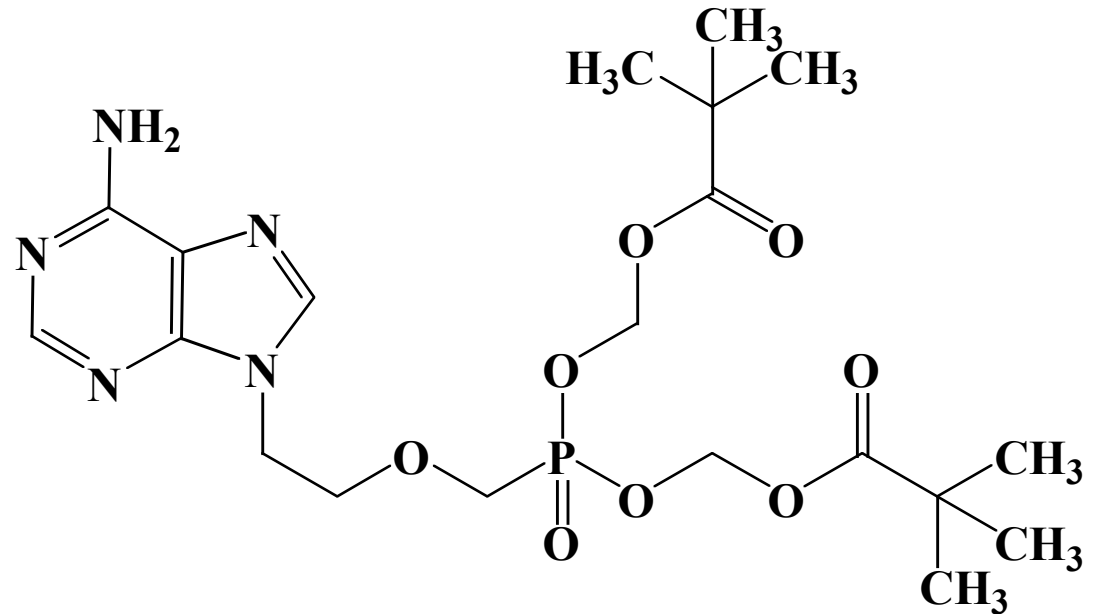
Hepadnavirus: Antivirali

Ribavirina

- Proprietà antivirali verso un ampio numero di virus a DNA o RNA
- Necessaria la fosforilazione a livello intracellulare
- Monofosfato
 - interferenza con la sintesi della guanosina trifosfato e quindi con quella degli acidi nucleici
- Trifosfato
 - Inibizione del “capping” dell'mRNA virale e azione sull'attività della transcrittasi



Hepadnavirus: Antivirali

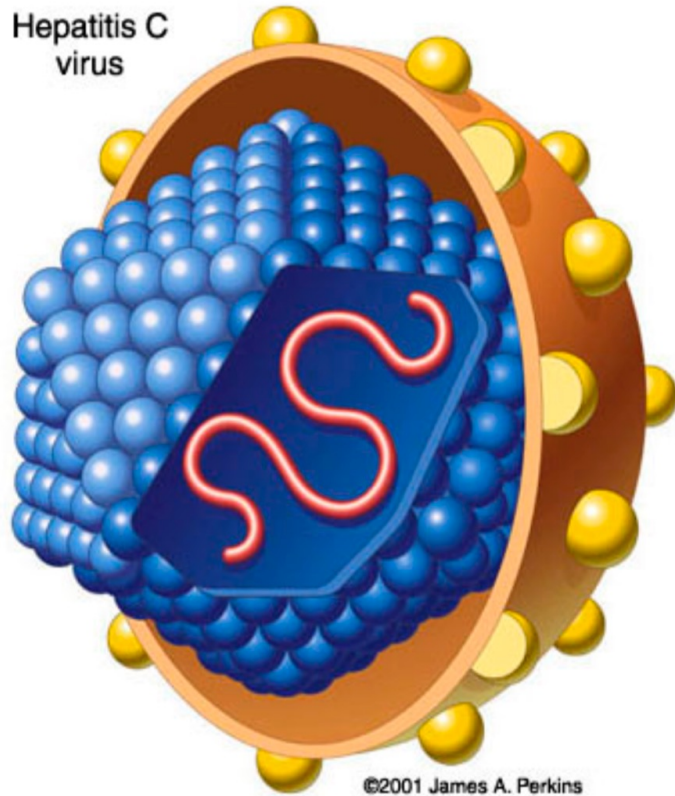


Adefovir dipivoxil

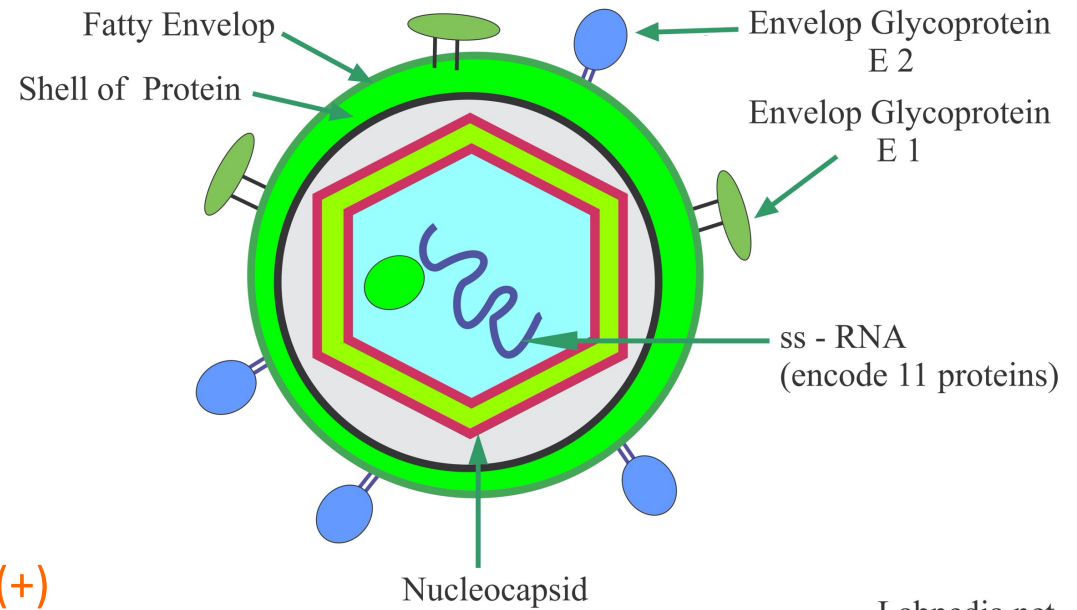
- Profarmaco dell'adefovir
- [bis(pivaloilossimetil)-9-(2-**fosfonil**metossietil)]adenina
- Nucleotide aciclico contenente fosforo
- **Inibitore della trascrittasi inversa**

Hepacivirus: Epatite C

Hepatitis C virus



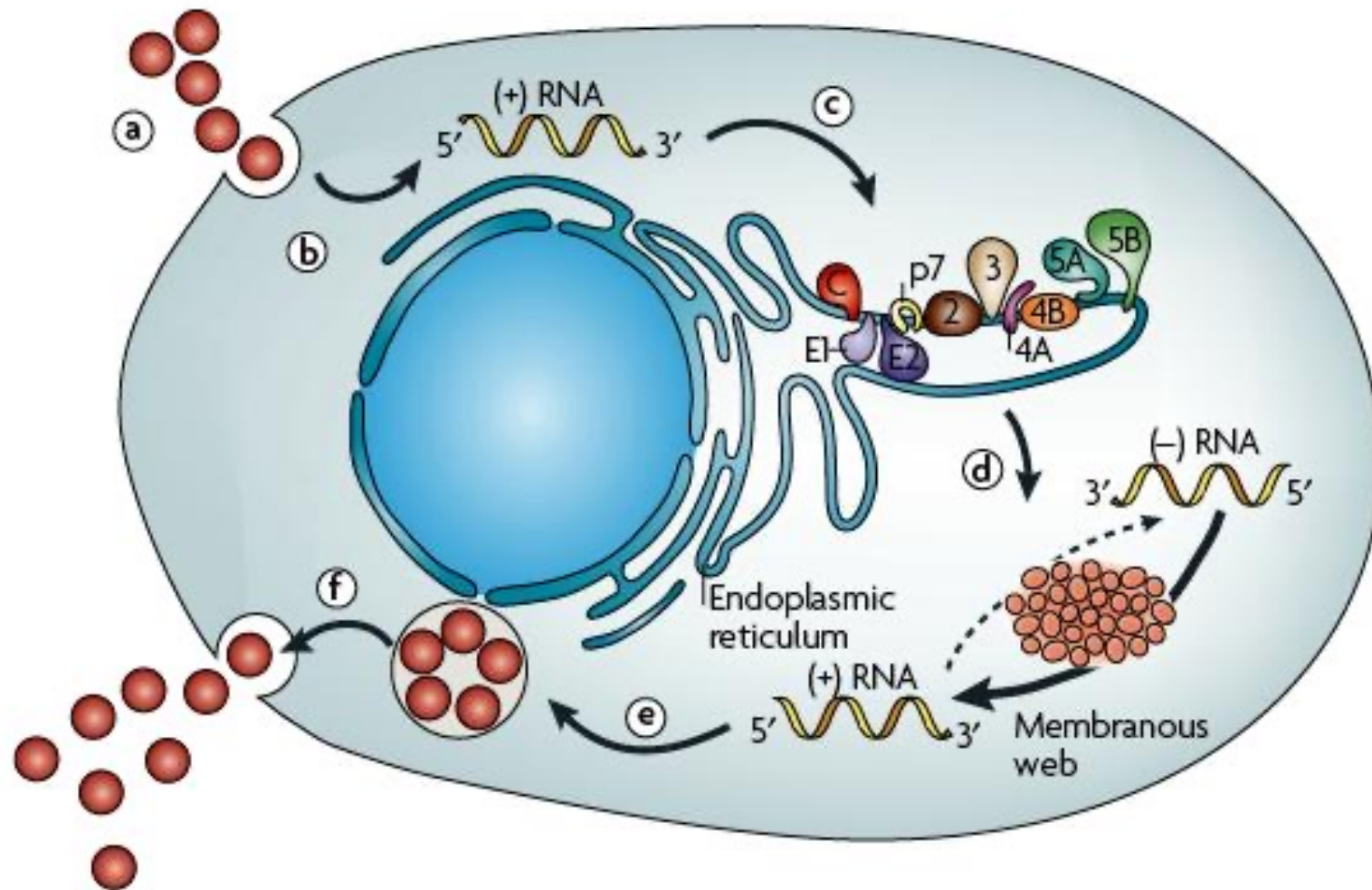
Hepatitis C Virus Structure



RNA a singolo filamento con polarità (+)

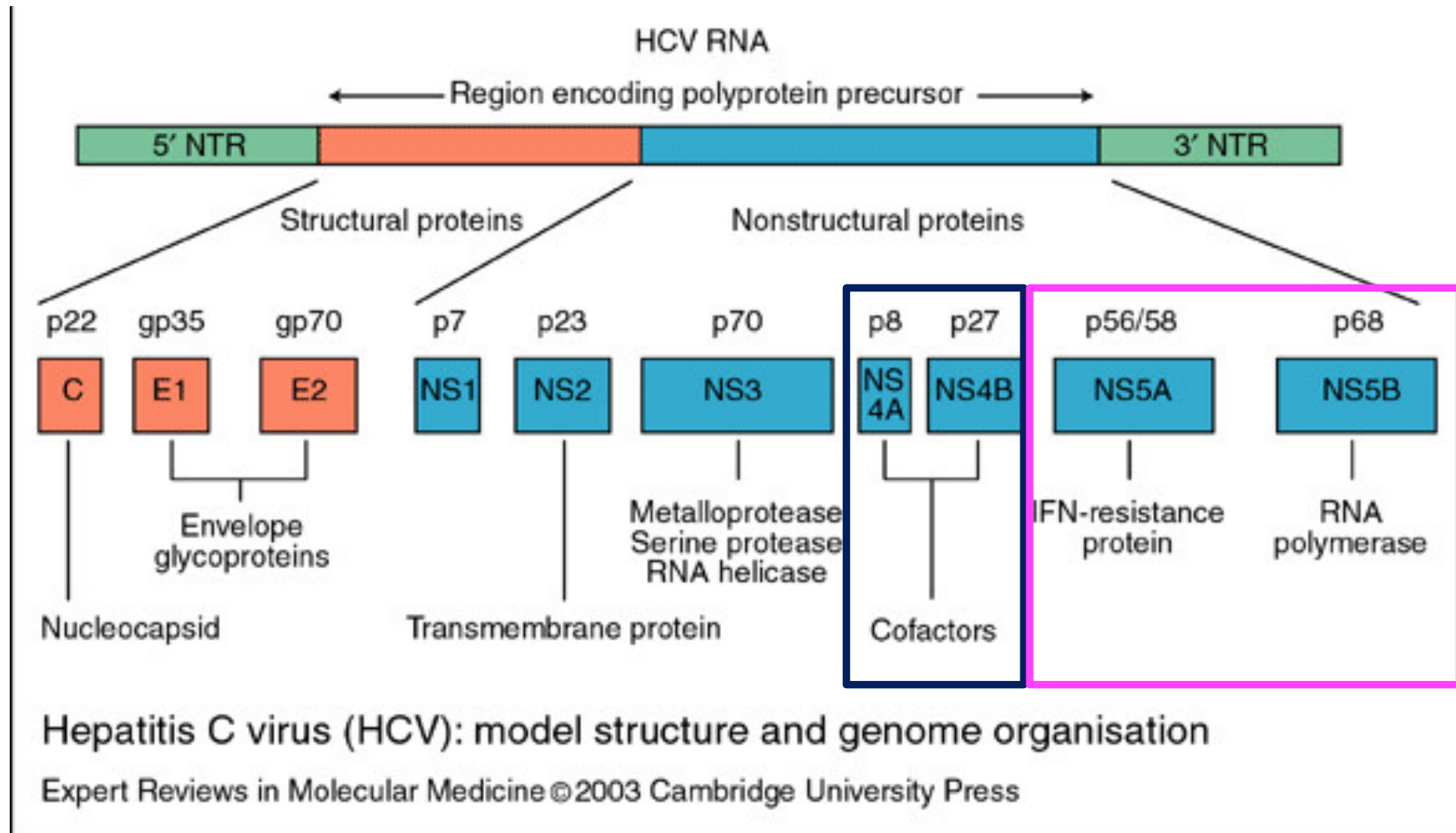
Labpedia.net

Hepacivirus: Epatite C



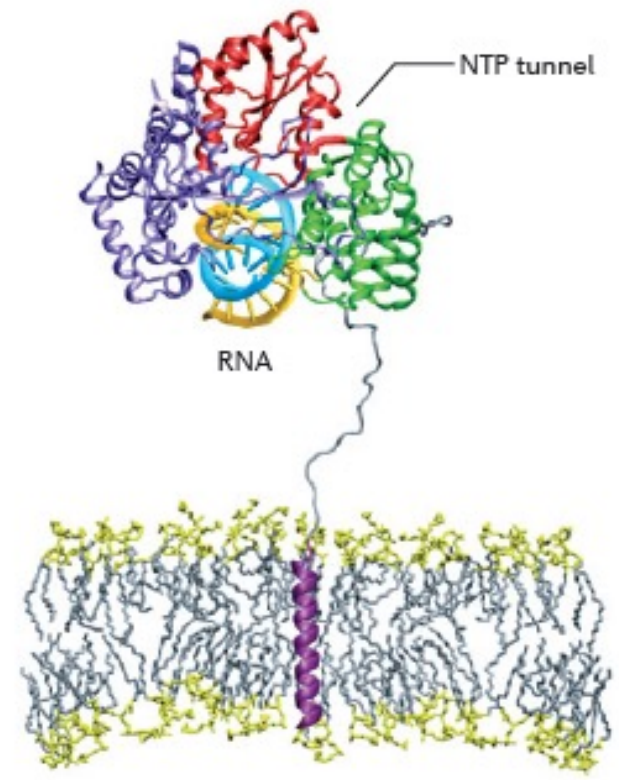
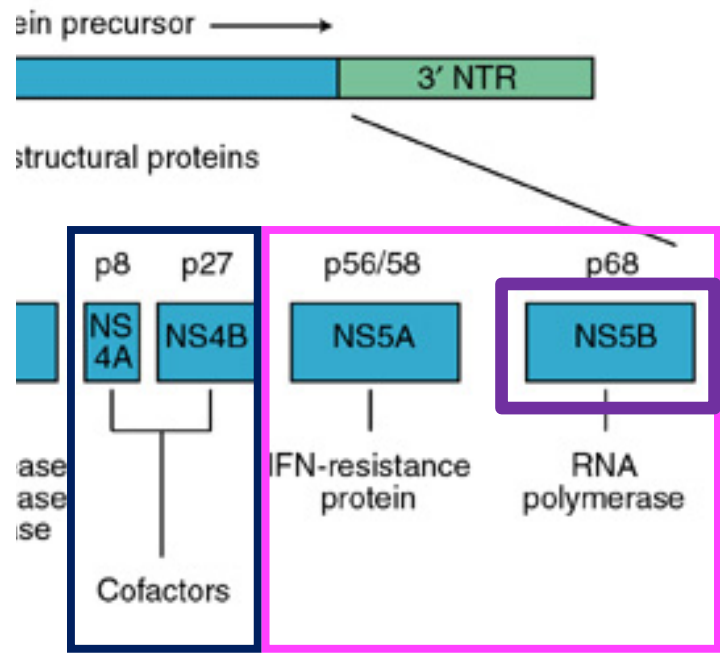
a) adesione ed endocitosi; b) rilascio RNA; c) traduzione e processamento della poliproteina; d) replicazione dell'RNA; e) assemblaggio; f) maturazione e rilascio

Hepacivirus: Epatite C



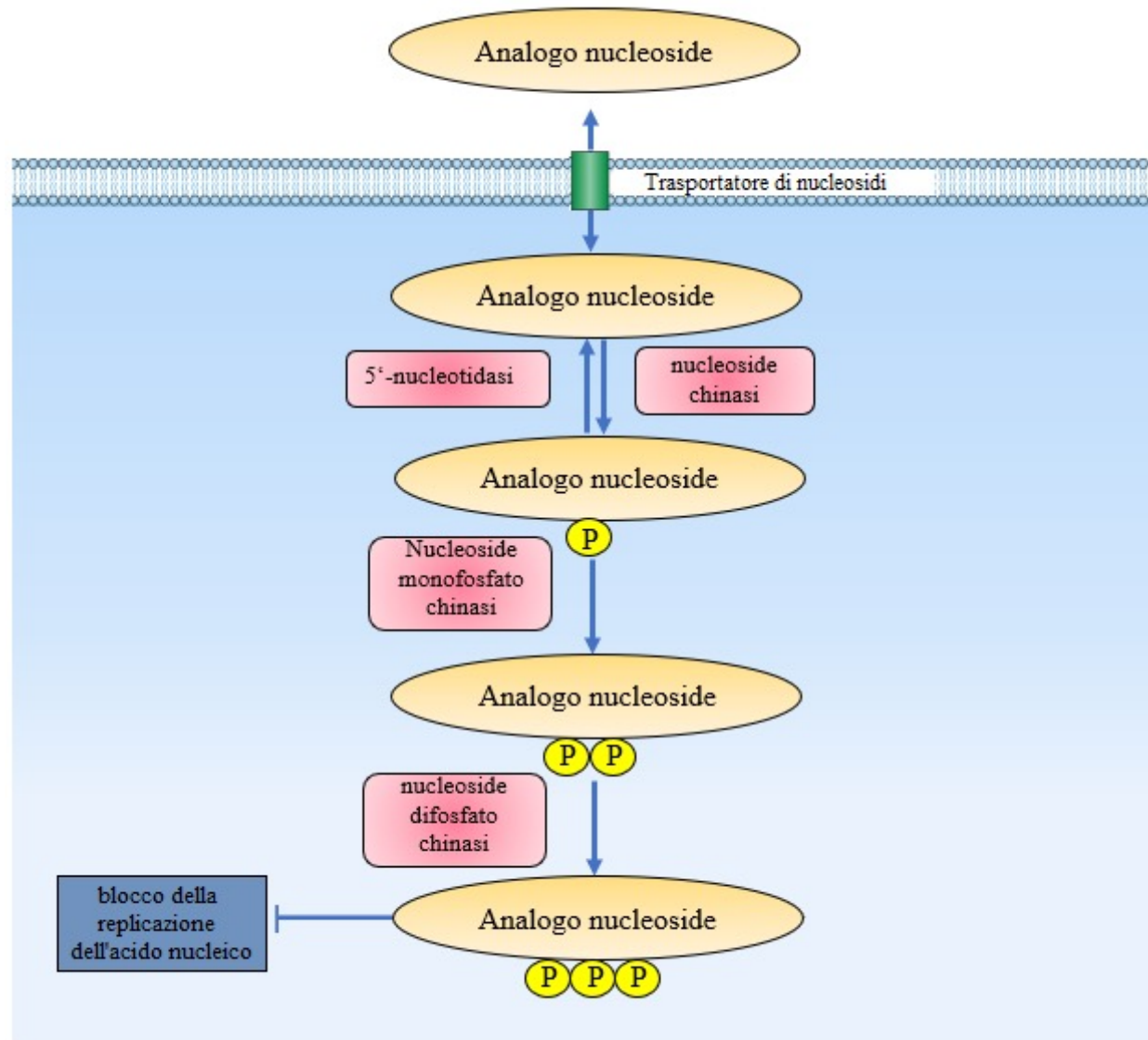
NS4_{A-B} → proteasi
NS5_{A-B} → replicazione

Hepacivirus: Epatite C

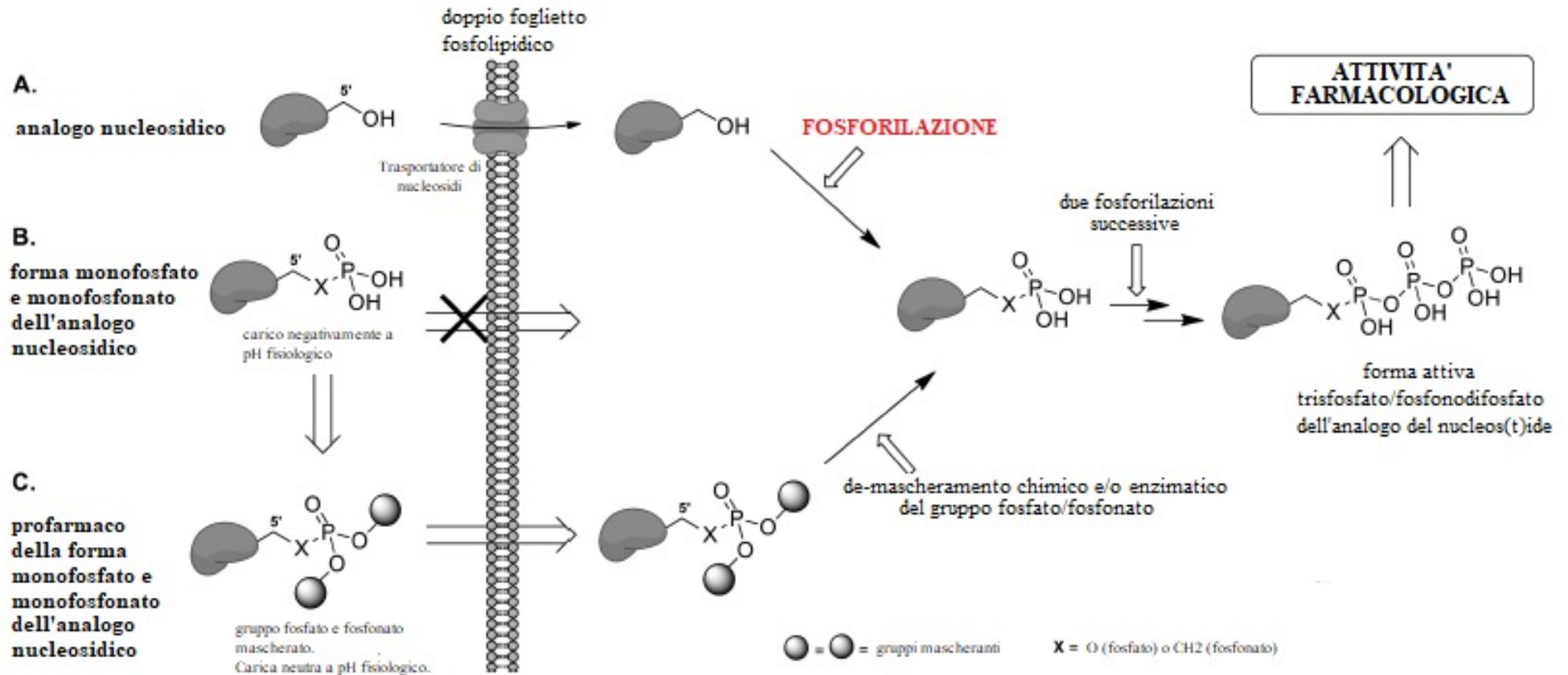


NS5B
RNA polimerasi RNA dipendente
(RdRp)

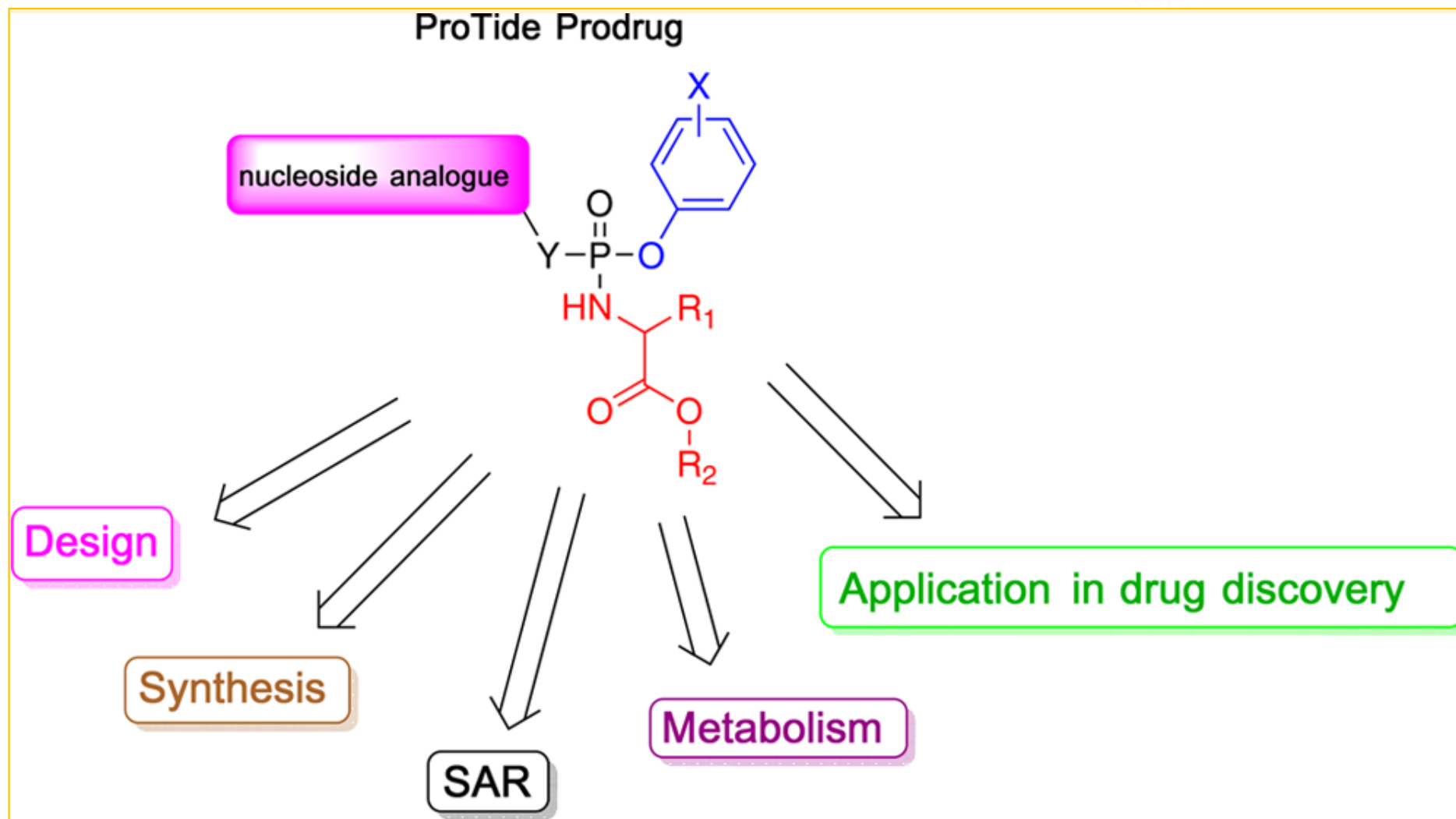
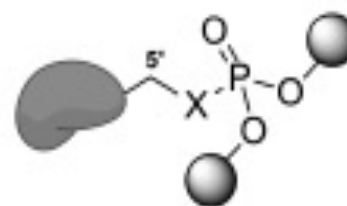
Hepacivirus: Antivirali



Hepacivirus: Antivirali

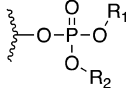
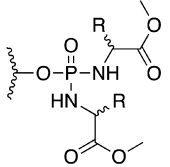
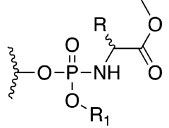
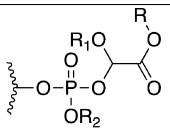
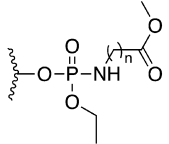
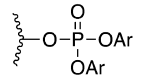
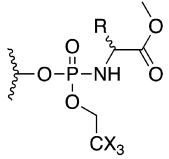
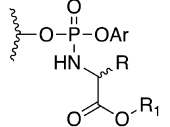


Hepacivirus: Antivirali



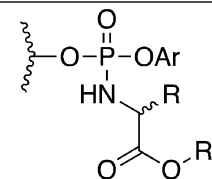
Hepacivirus: Antivirali

Table 1. Stages of the Development of the ProTide Prodrug Technology

Stages of development	Phosphate masking group(s)	Stages of development	Phosphate masking group(s)
1. Alkyl and haloalkyl phosphate triesters	 <p>R_1 and R_2 = Me, Et, Pr, $-\text{CH}_2\text{CCl}_3$ and $-\text{CH}_2\text{CF}_3$</p>	3. Phosphorodiamidates	 <p>R = H, Me, <i>i</i>Pr, $-\text{CH}_2\text{Ph}$ or $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$.</p>
2. Alkyloxy phosphoramidates	 <p>R = H, Me, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Et}$ or Bn R_1 = Me, Et, Pr, Bu or Hex</p>	4. Lactyl-derived systems	 <p>R = Me or Et, R_1 = H or Me, R_2 = Me, <i>n</i>Pr or $\text{nC}_{12}\text{H}_{25}$.</p>
	 <p>n = 1-6</p>	5. Diaryl phosphates	 <p>Ar = Ph or <i>p</i>-X-Ph (x = various)</p>
	 <p>R = H, Me or <i>i</i>Pr X = H, F or Cl</p>	6. Aryloxy phosphoramidates	 <p>Ar = Ph or substituted Ph R = H, Me, $-\text{CH}_2\text{iPr}$, $-\text{CH}_2\text{Ph}$... etc. R_1 = Me, Et, <i>i</i>Pr, <i>t</i>Bu, Bn... etc.</p>

Hepacivirus: Antivirali

6. Aryloxy
phosphoramidates

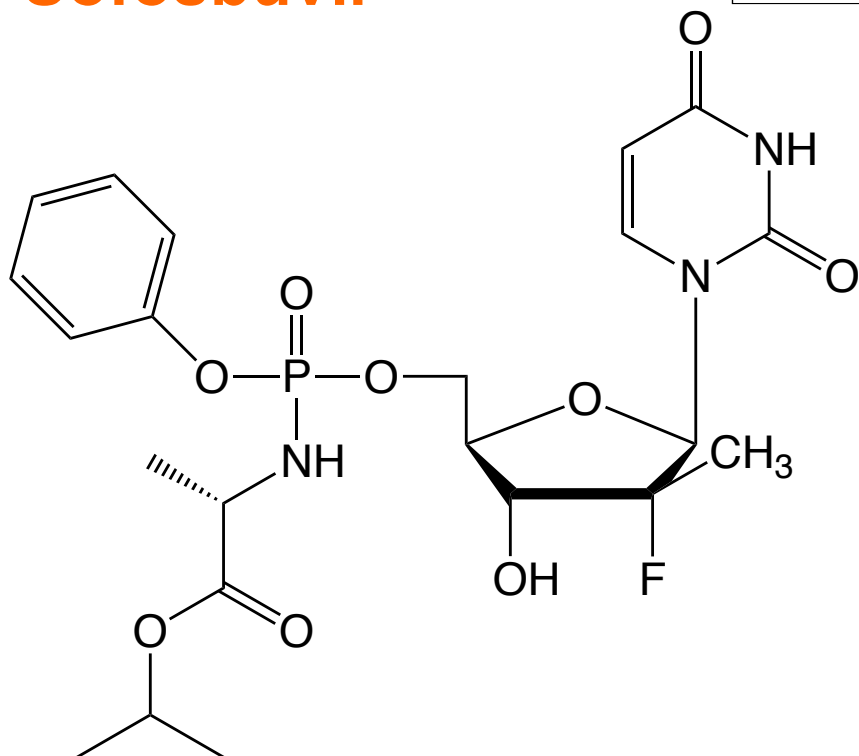


Ar = Ph or substituted Ph

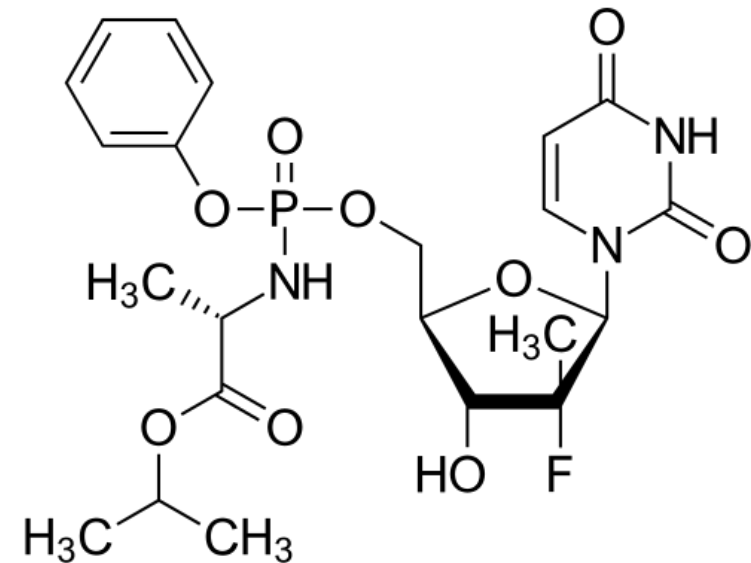
R = H, Me, -CH₂iPr, -CH₂Ph...etc.

R₁ = Me, Et, iPr, tBu, Bn...etc.

Sofosbuvir

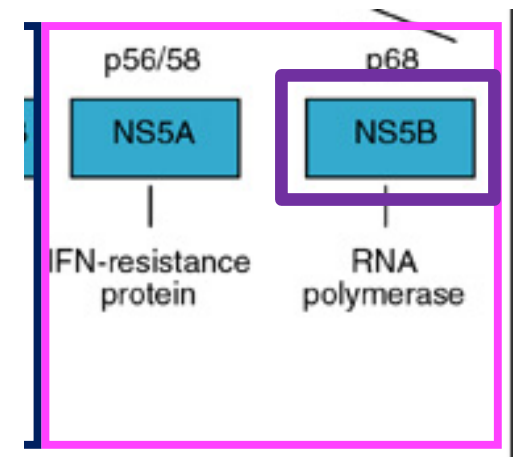


Hepacivirus: Antivirali

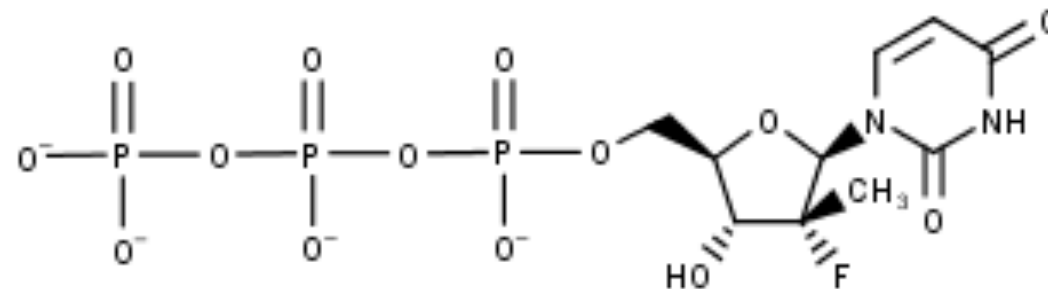
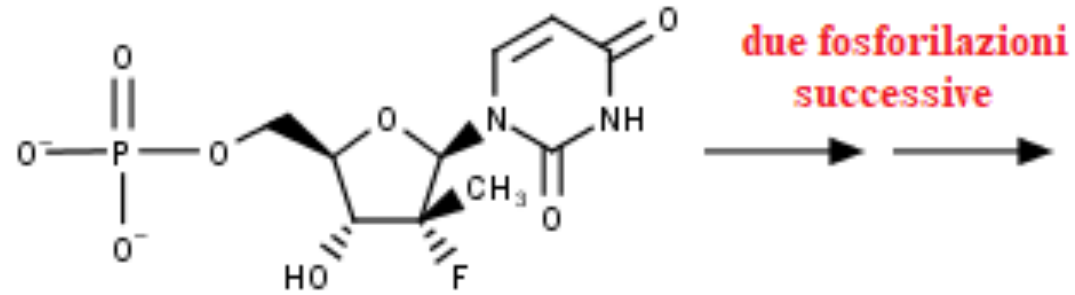
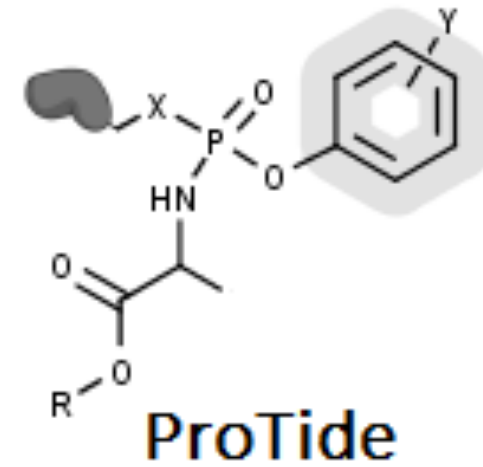
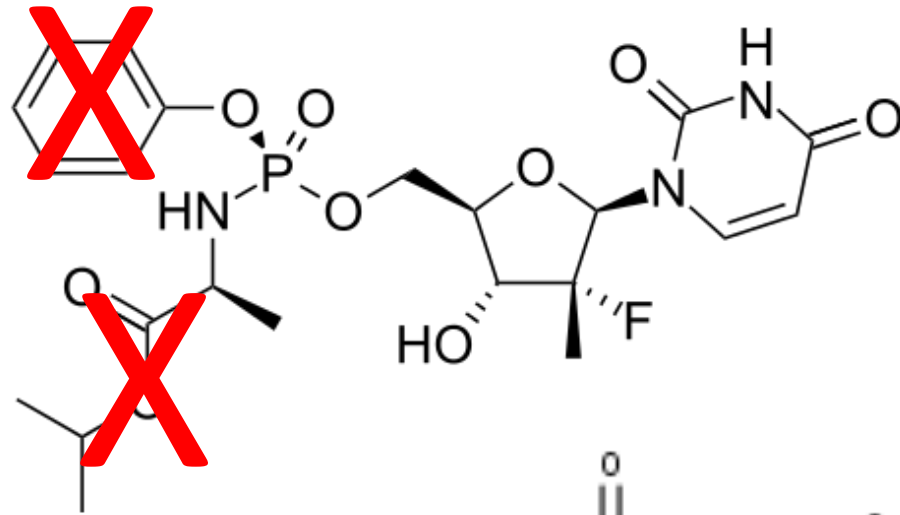


Sofosbuvir

- Approvato nel gennaio 2013 dalle FDA
- PROFARMACO (GS-461203: 2'-deoxy-2'- α -fluoro- β -C-methyluridine-5'-triphosphate)
- **Inibitore selettivo di NS5B (RNA polimerasi virale)**
- Chain terminator



Sofosbuvir



Hepacivirus: Antivirali

