



# Aspects thérapeutiques et antiviraux

Bruno LINA

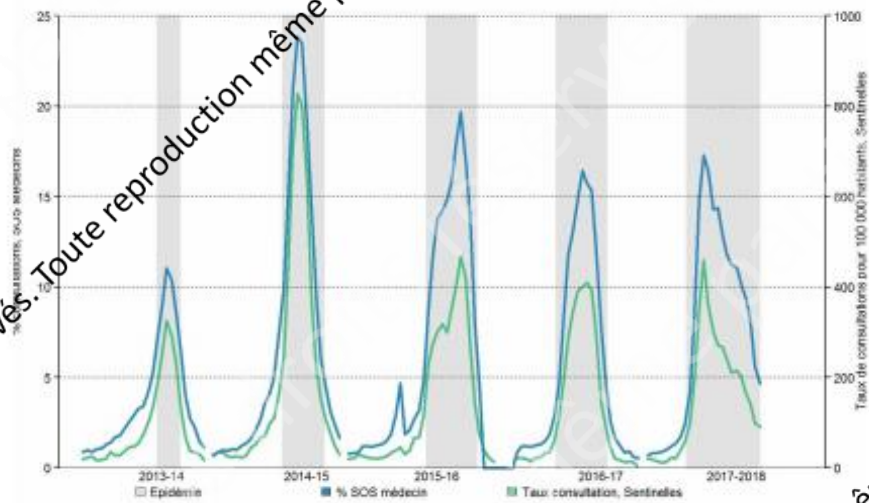
CNR des virus respiratoires, HCL,

Virpath, Université de Lyon, CIRI, U1111, UMR 5308, INS, UCBL,  
Lyon, France

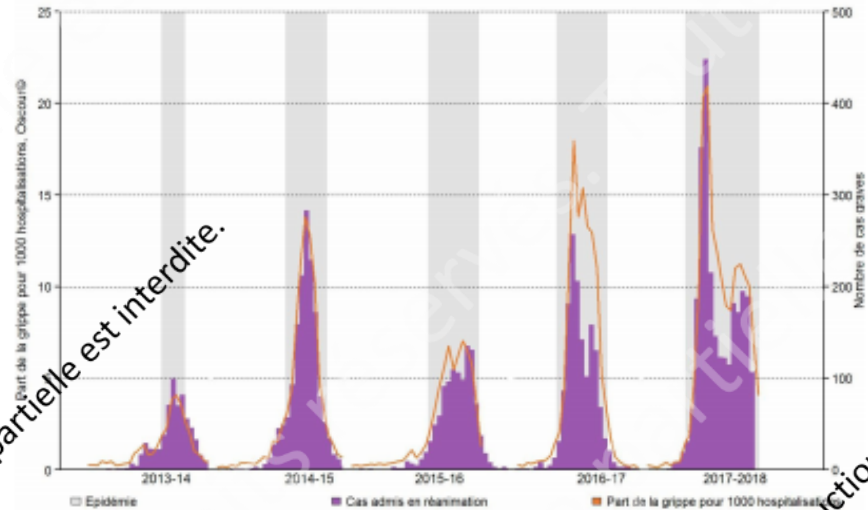
# Liens d'intérêts

- Expert auprès de l'OMS (grippe et poliovirus) et de l'ECDC (grippe, VRS et EV)
- Responsable du groupe thématique GEIG au sein de la SFM
- Président du CS d'Immuniser.Lyon
- Président du CS du GIHSN de la Fondation for Influenza Epidemiology (Fondation de France)
- Co-Président du CS du Global Influenza and RSV Initiative
- Prise en charge de déplacement pour réunions scientifiques par Sanofi-Pasteur et Abbott Diagnostics
- Aucune rémunération personnelle depuis 2010

# Impact de la grippe saisonnière

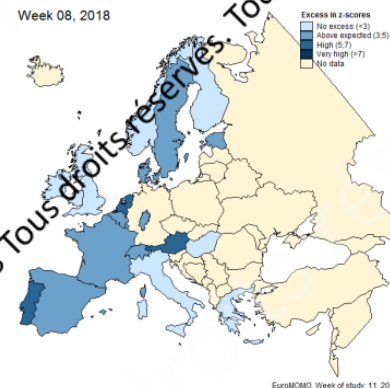
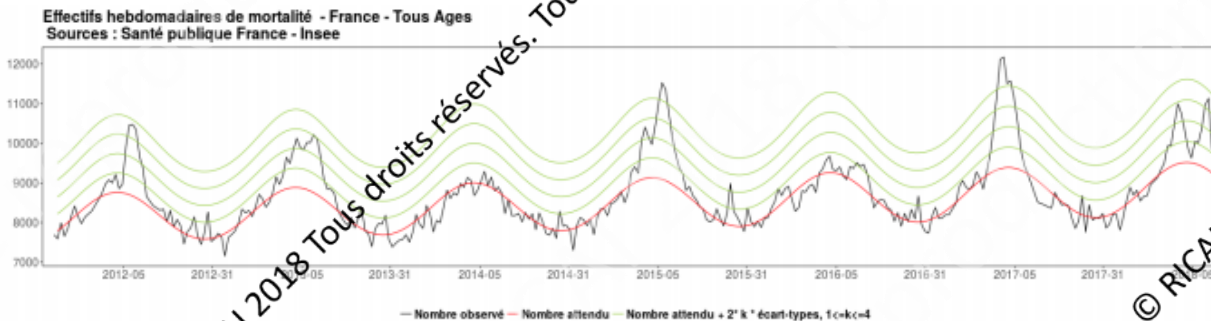


Grippe communautaire



Cas hospitalisés

Figure 8 : Mortalité en France toutes causes toutes classes d'âges, semaines 26/2011 à 10/2018



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Impact de la grippe pandémique



A(H1N1)  
20-40 M



A(H2N2)  
1-2 M



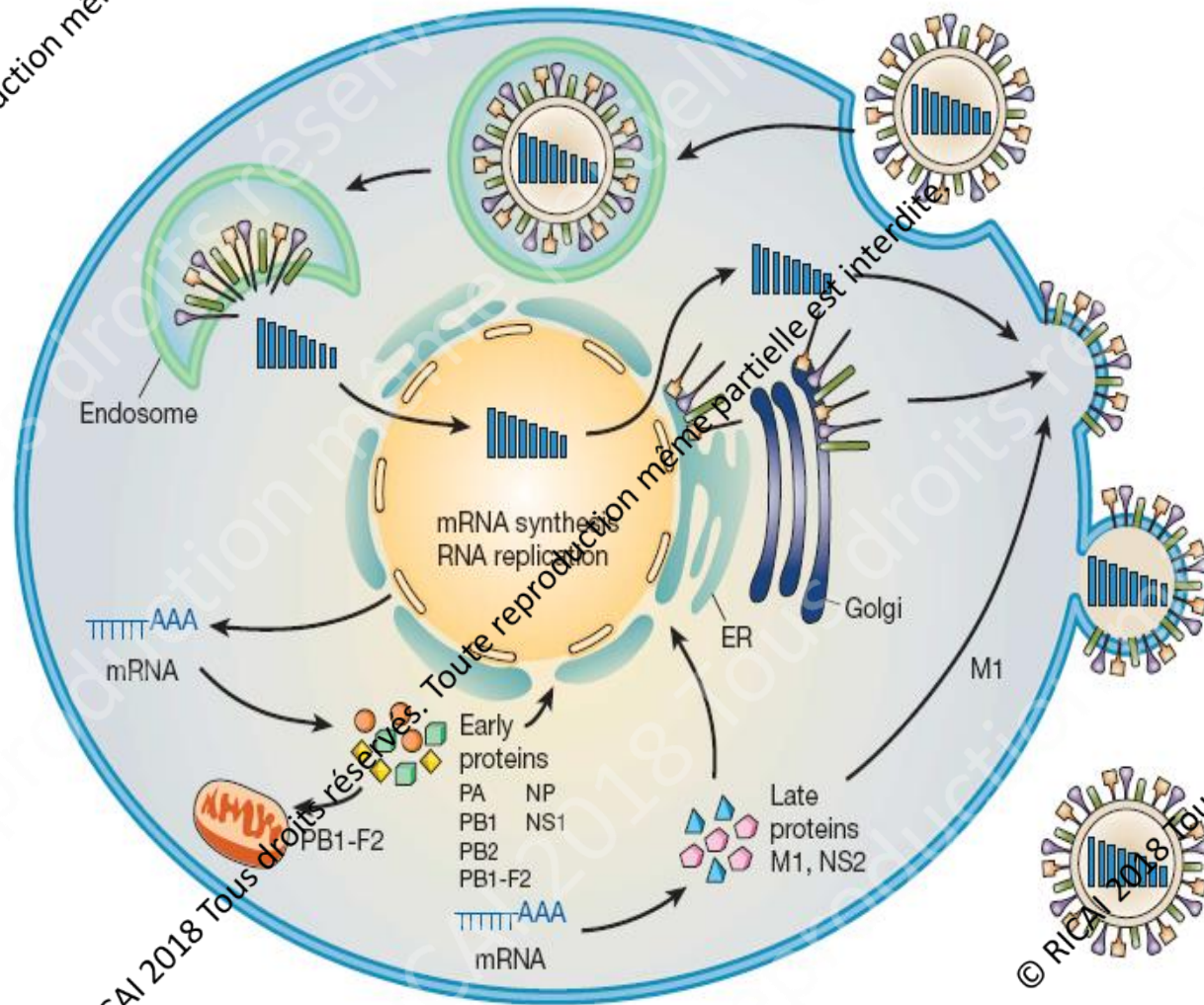
A(H3N2)  
0,8-1M



A(H1N1)pdm09  
0,4-0,8M



# Les différentes étapes de la replication des virus influenza

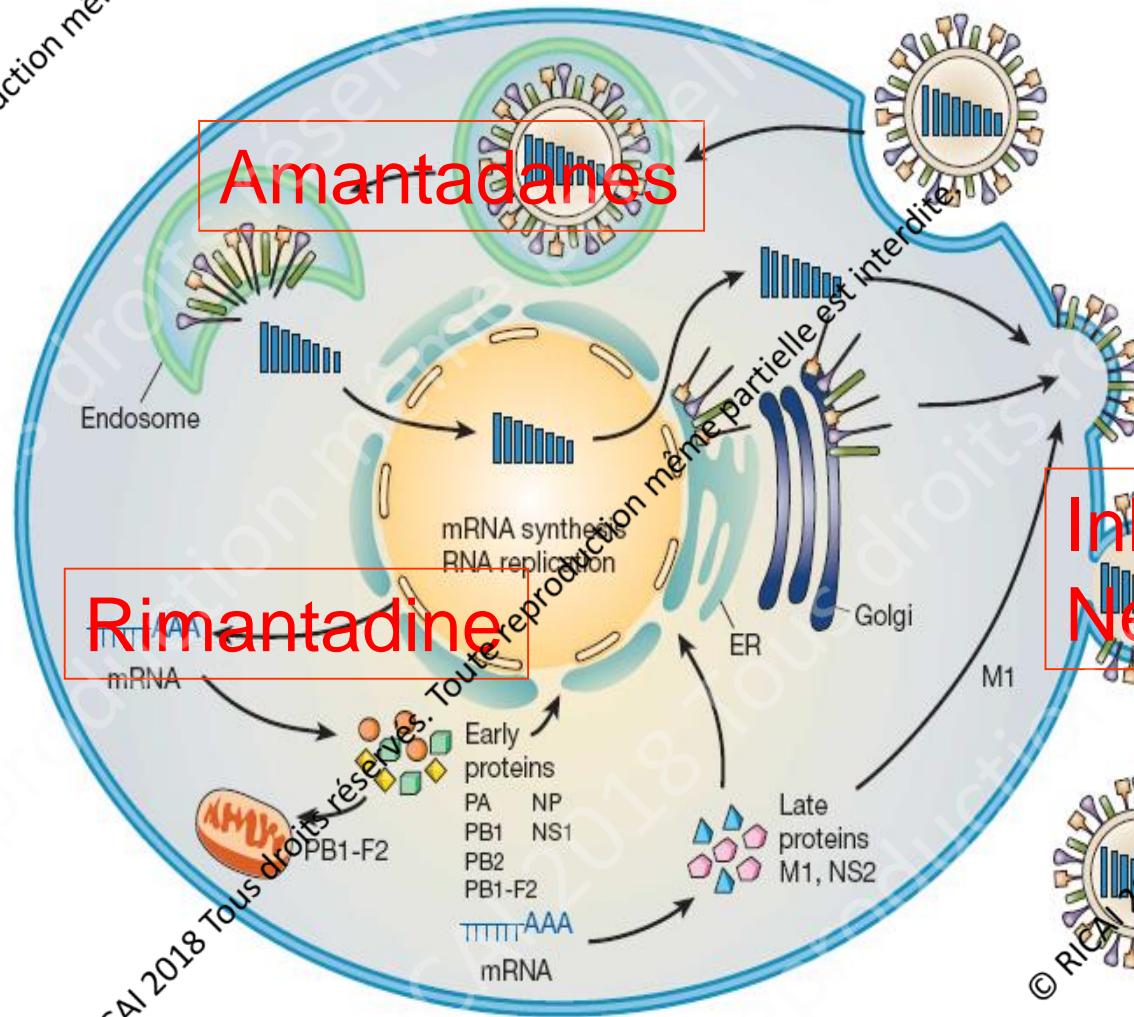


© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Les différentes étapes de la replication des virus influenza



Amantadines

Rimantadine

Inhibiteurs de la Neuraminidase

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

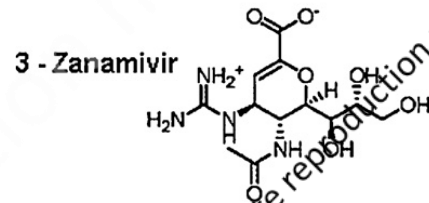
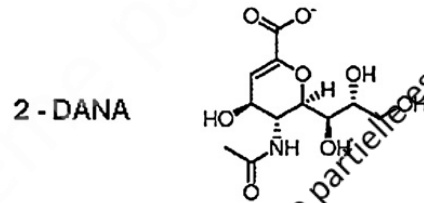
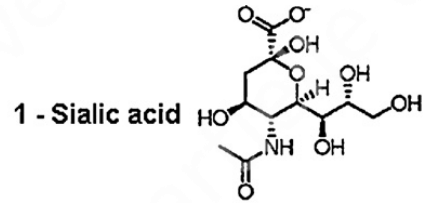
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Antiviral development (2007)

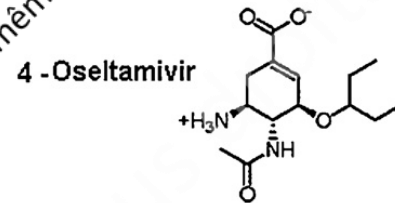
Class	Pre Clinical	Phase 1	Phase 2	Phase 3	Market Approved
Amantanes					Generic Rimantadine Generic Amantadine
NA Inhibitors		BioCryst Peramivir		Daiichi Lanamivir	GSK Zanamivir Roche Oseltamivir
Other Viral Targets		Toyama Favipiravir (T-705) Pol Inhibitor			
Host Targets					Other Inhaled IV Oral

Courtesy of MW Wathen, US Dept of HHS

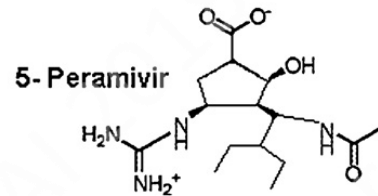
# Les inhibiteurs de la neuraminidase (INA)



GS167

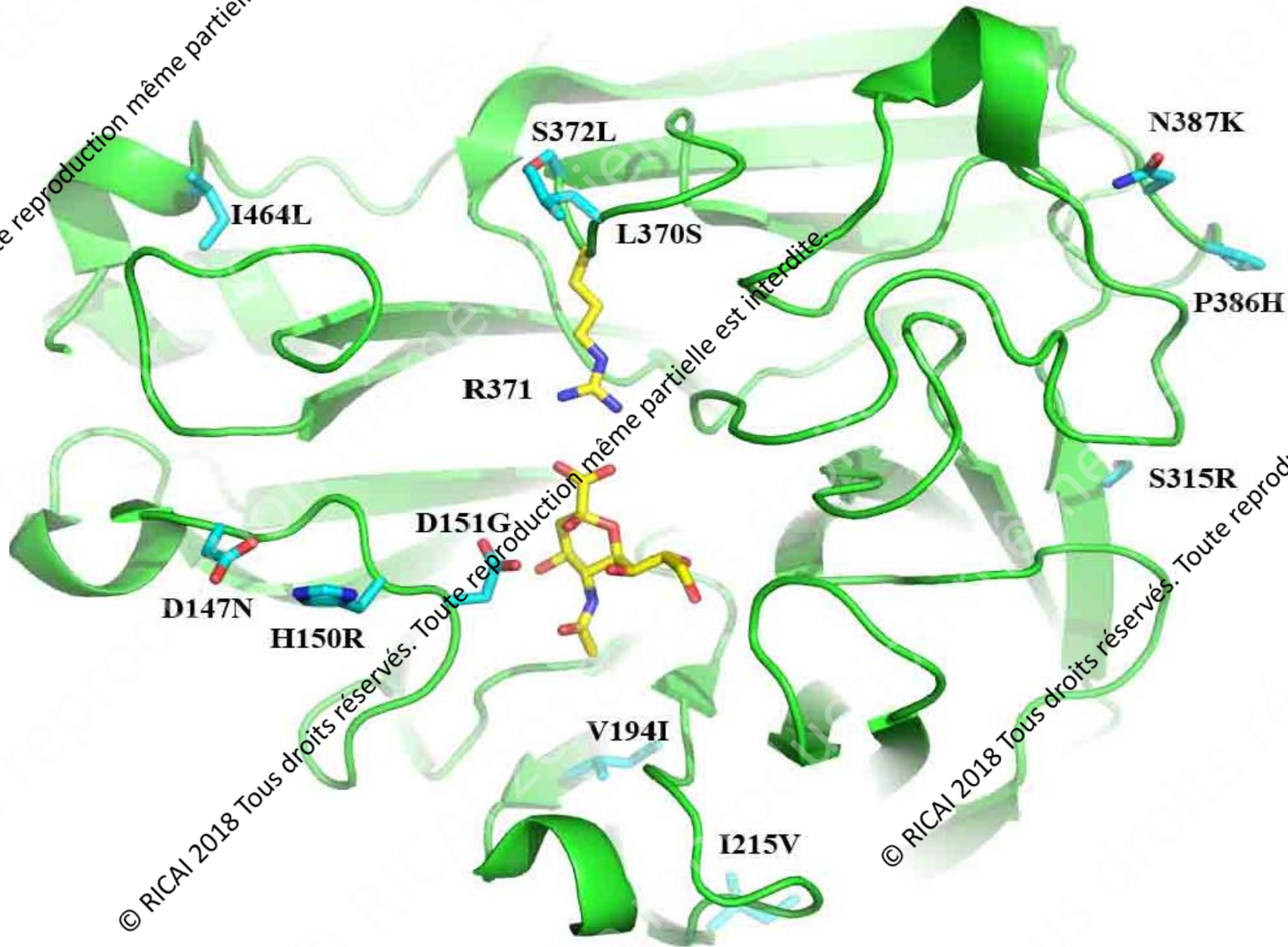


GS4104 the estyl ester (prodrug),  
GS4071 (active drug)





# Neuraminidase catalytic site

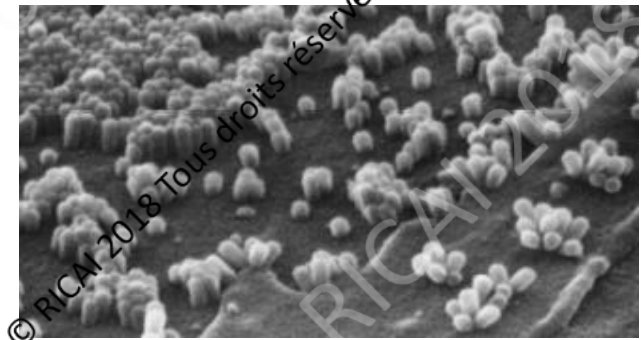
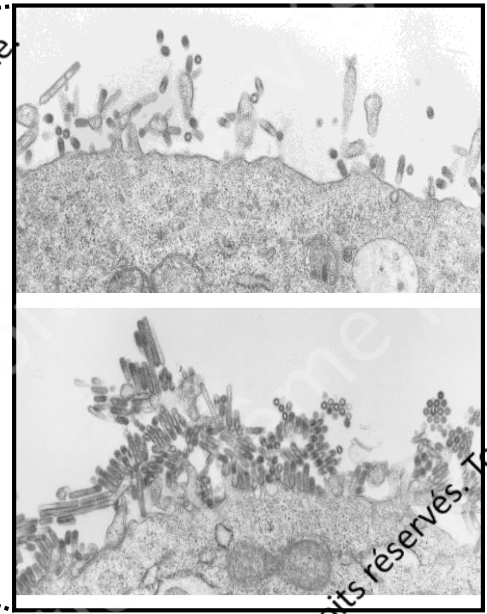
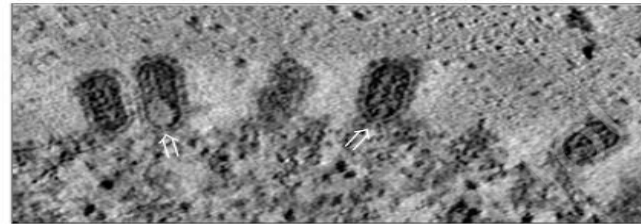
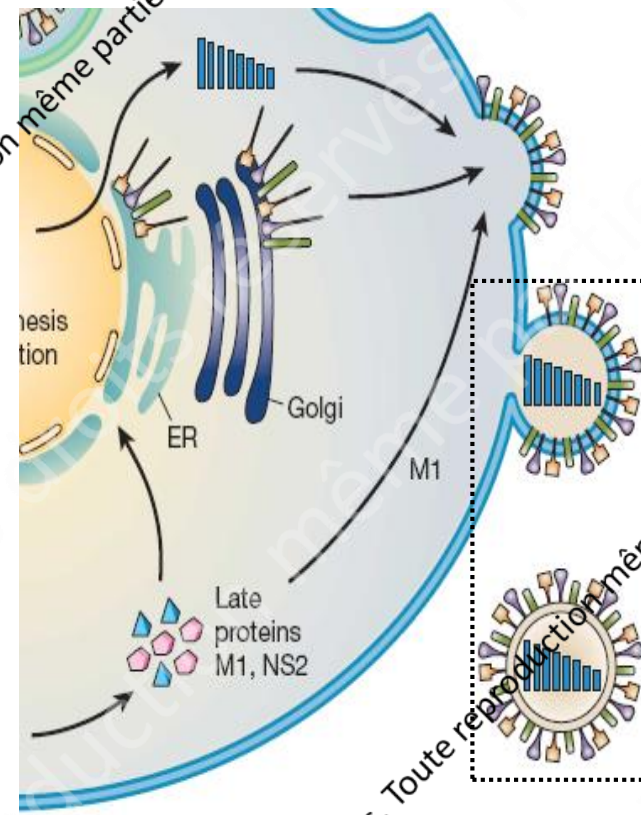


© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

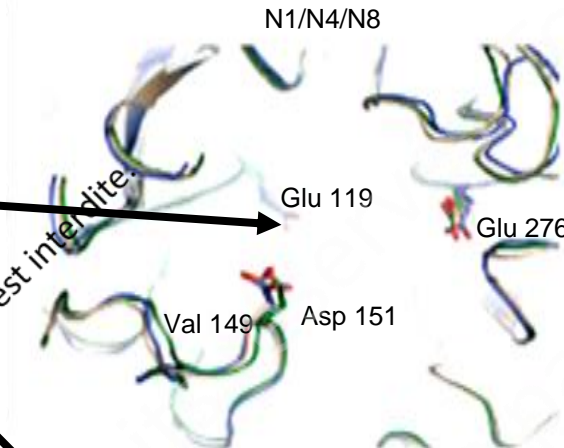
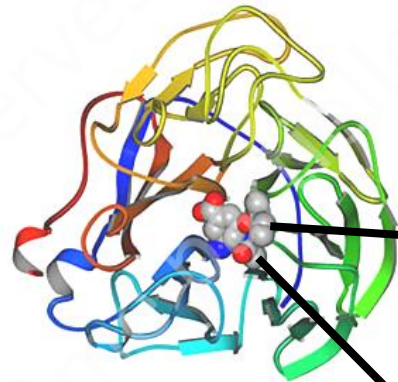
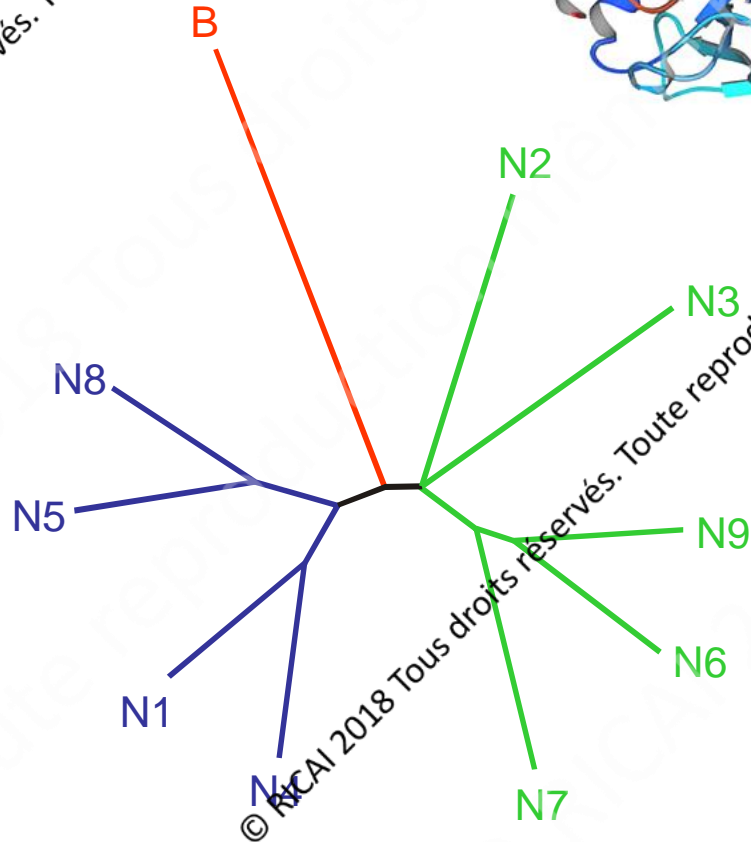


© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

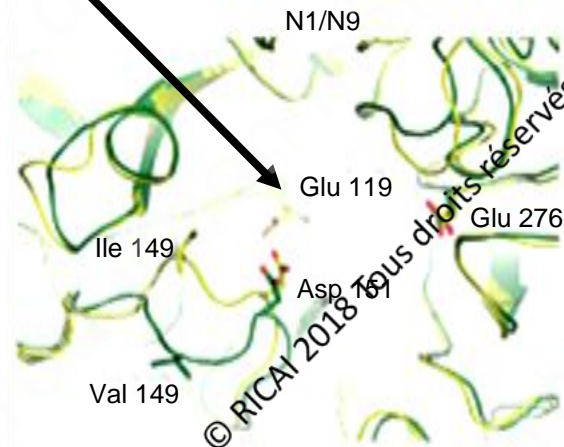


# Variations in the catalytic pocket

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



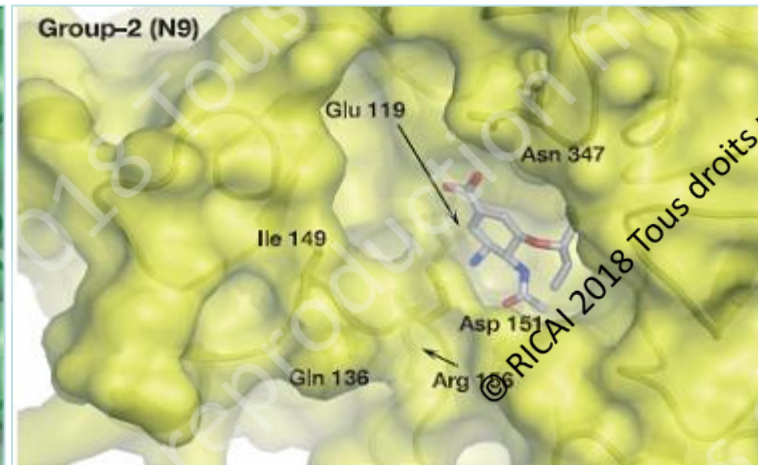
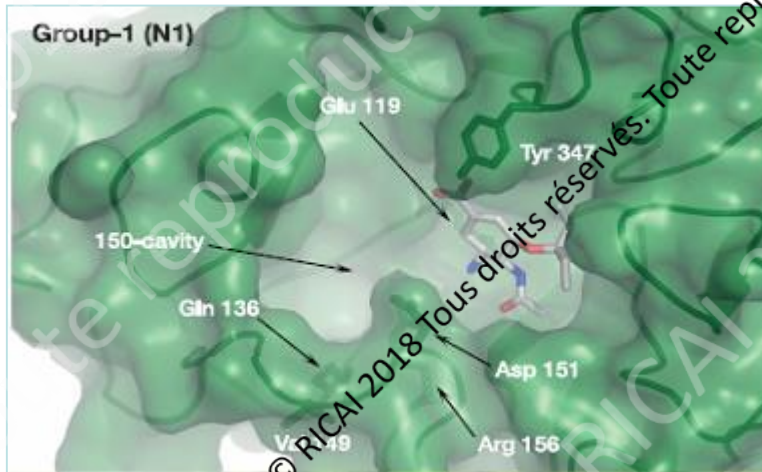
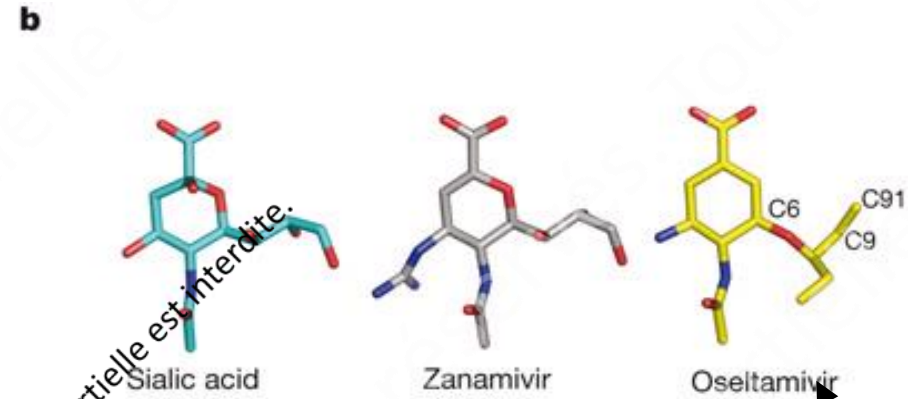
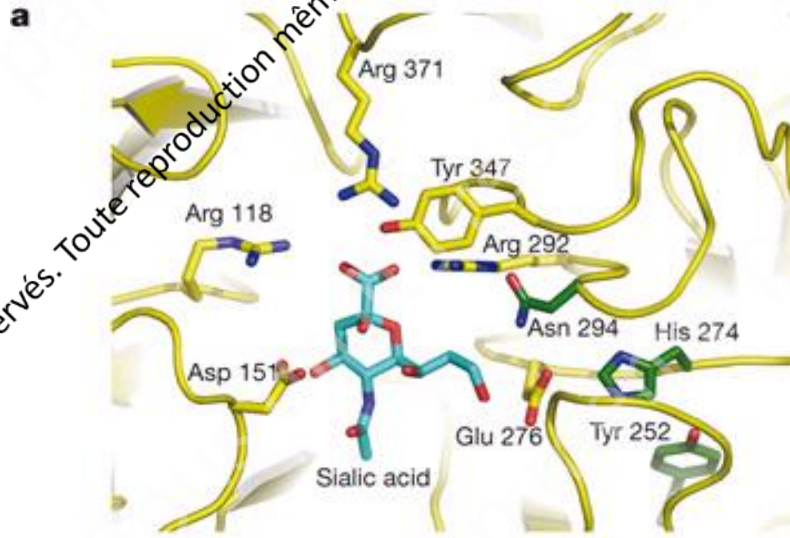
Group 1  
N1 type



Group 2  
N2 type

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Understanding binding of NAIs mutants



Aliphatic chain

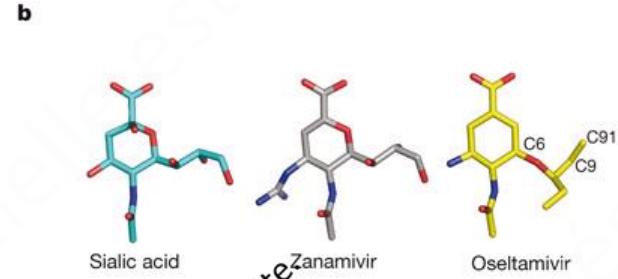
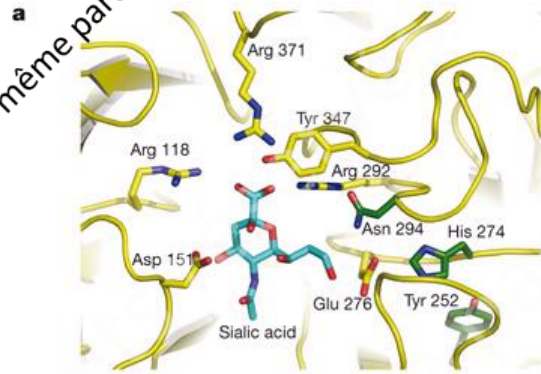
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

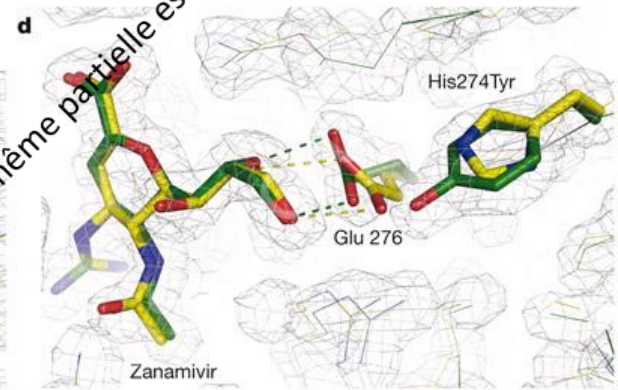
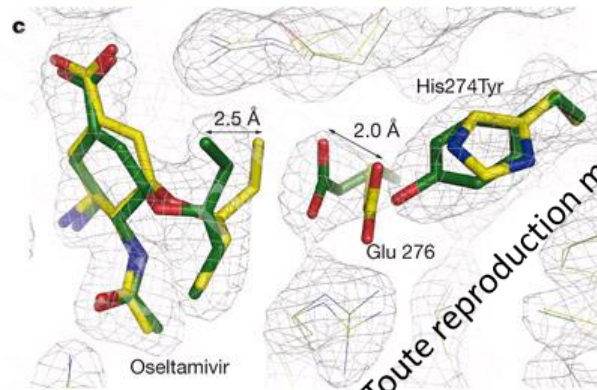
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



# Combined role of H275Y and N294S

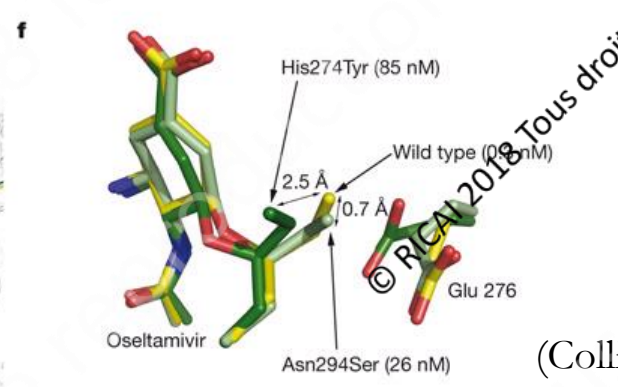
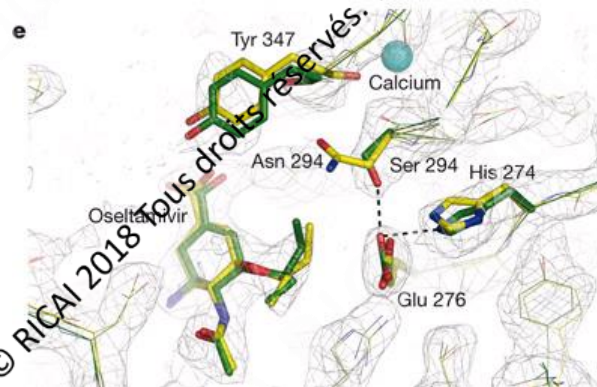


Aliphatic chain



**H275Y**

**N294S**



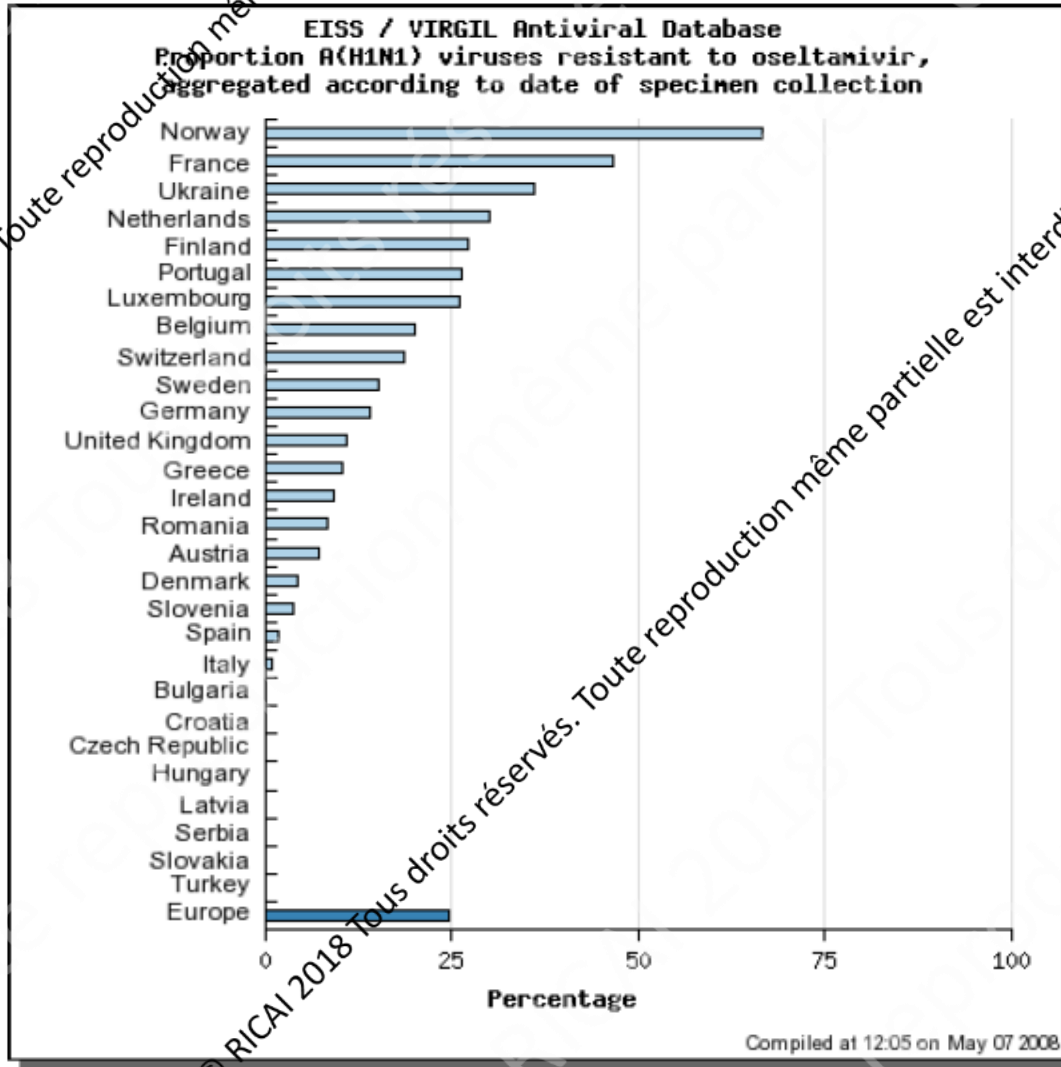
(Collins et al., Nature 2008)

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

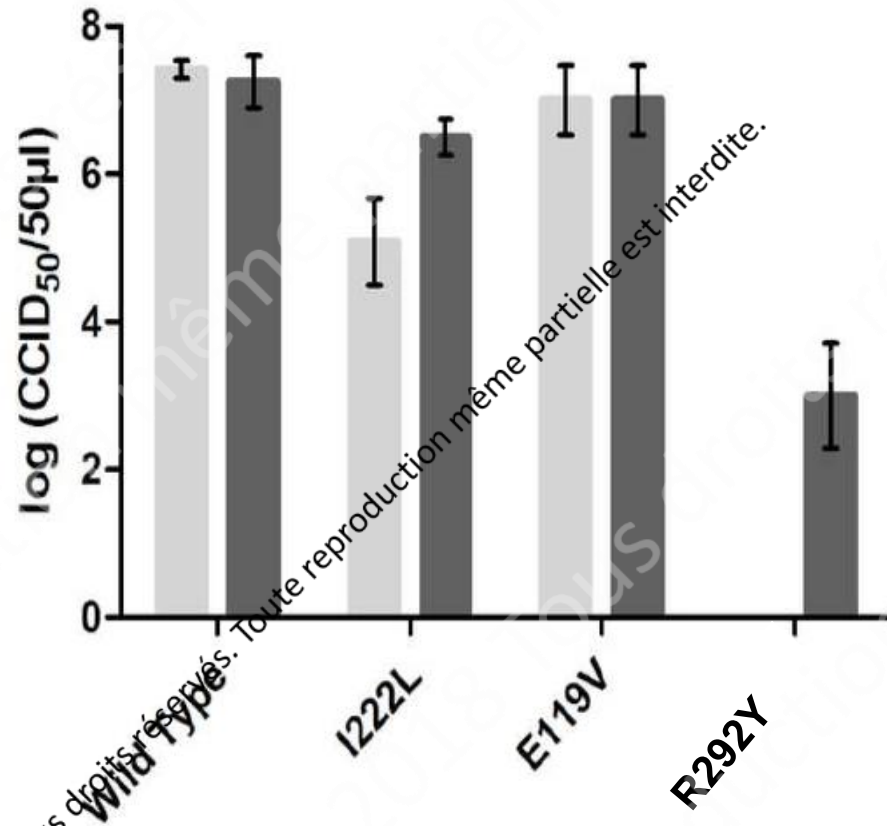
# Distribution of resistant viruses in Europe: cumulative data (7 May 2008)



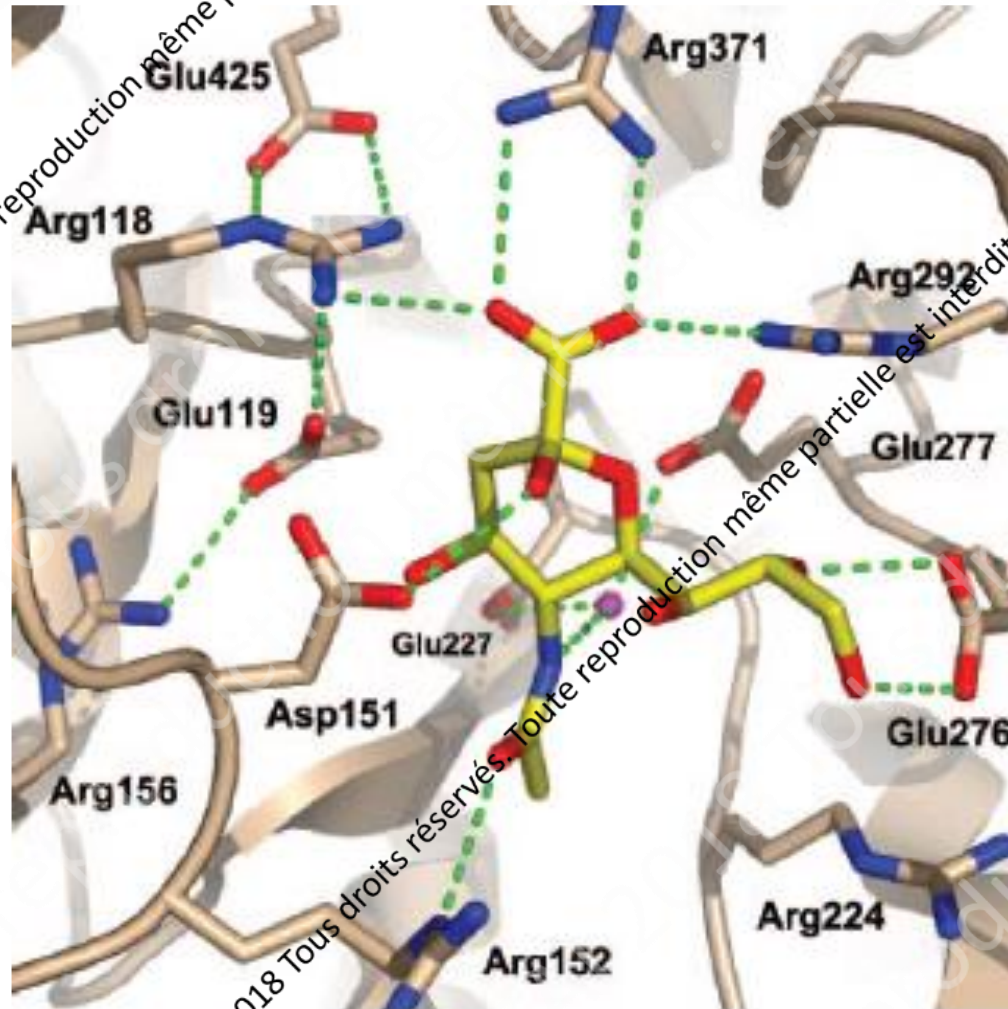
2800 viruses tested

670 resistant

# Impact of catalytic or framework mutations



# Résistance : accumulation régulière d'informations



## Résidus

R118

D151

R152

R224

E276

R292

R371

Y406

E119

R156

W178

S179

D/N198

I222

E227

H274

E277

N294

E425



# Ribavirine: effet antiviral in vitro et in vivo sur les VI

- Ribavirine (Virazole), 1-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide
- Effet antiviral à large spectre
- **Ribavirine-MP: inhibe l'IMPDH**
  - diminution du pool de GTP cellulaire
  - effet immunosuppresseur
- La ribavirine est un **agent mutagène** car reconnu comme ATP ou GTP
- **Effet inhibiteur sur la polymérase des VI à fortes concentrations**
- **Essais cliniques réalisés dans les années 1980s**
  - Ribavirine per os avec effet plutôt modeste (faibles effectifs, pas de différences significatives)
  - Role en association?
- Utilisation dans 2 cas d'infection à virus résistants aux INAs chez l'ID

Sidwell et al., Science 1972  
Streeter et al., PNAS 1973  
Malinoski et al., Virology 1981  
Potter et al., Nature 1976

Crotty et al., Nature Med 2000

Eriksson et al., AAC 1977

Magnussen et al., AAC 1977  
Stein et al., AAC 1987

CDC, MMWR 2009  
Van der Vries et al., NEJM 2010

# Intérêt des Immunoglobulines ?

- Réduction de la mortalité
  - de 55% (non traités) à
  - 20% (20 patients recevant plasma de convalescents ayant eu A(H1N1)pdm09) (p= 0.011)
- Petit essai contrôlé en double aveugle
  - intérêt des immunoglobulines contenant des titres élevés en Ac anti A(H1N1)pdm09
  - absence de mortalité si Ig IV spécifiques dans les 5j après début SC *versus* 40% de décès si IgIV sans Ac spécifiques (p= 0.04)
- Alternative thérapeutique envisagée pour H5N1

*Hung et al., CID 2011*

*Hung et al., Chest 2013*

# Evolution of antiviral usage : combining antivirals

- Bivir study

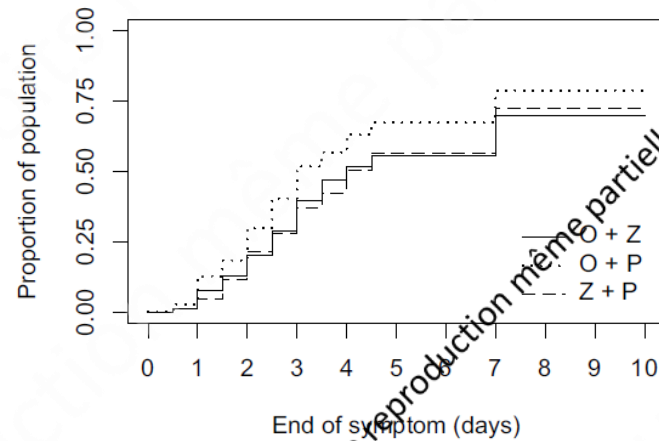


Figure 2. Proportion of the 447 influenza A-infected patients with alleviation of symptoms when treated with combined oseltamivir-zanamivir (plain line), oseltamivir plus placebo (dotted line), or zanamivir plus placebo (dashed line). Log-rank test for oseltamivir-zanamivir versus oseltamivir-placebo:  $p=0.025$  and for oseltamivir-zanamivir versus zanamivir-placebo:  $p=0.036$ . Alleviation of symptoms defined by the presence of no symptoms of nasal stuffiness, sore throat, cough, muscle aches, tiredness-fatigue, feverishness, and headache or only mild ones, for at least 24 h. doi:10.1371/journal.pmed.1000302.g002

Duval et al, PLoS Med (2010)

- Triple combination (OK in vitro, in mice, ongoing in humans)

Nguyen JT et al, PLoS One (2010)

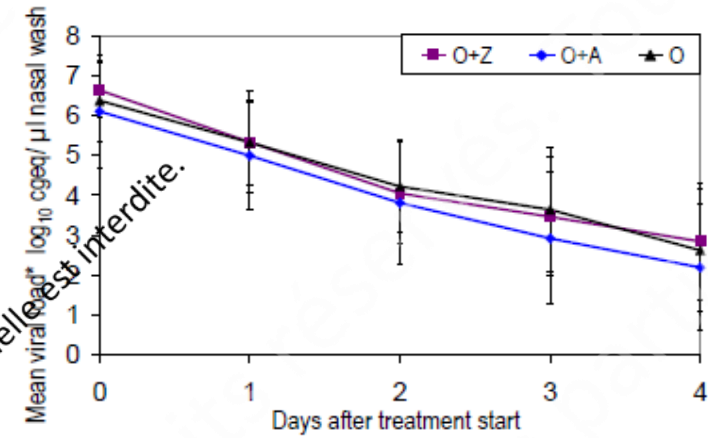
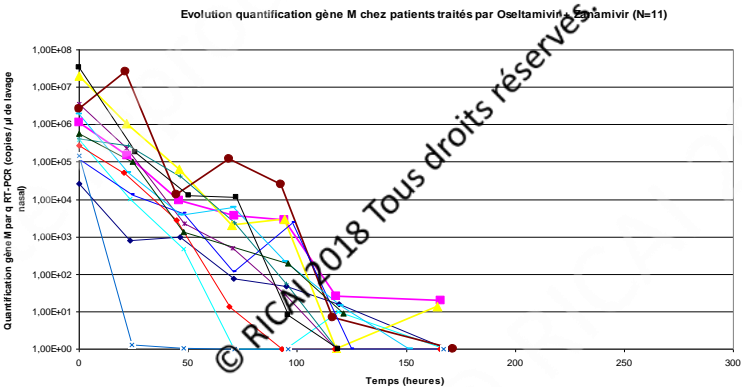
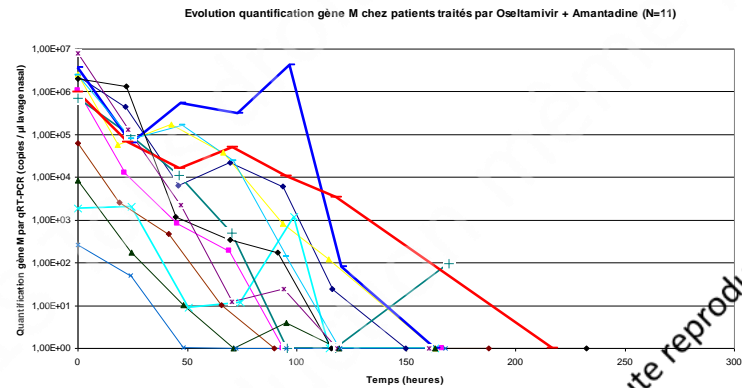
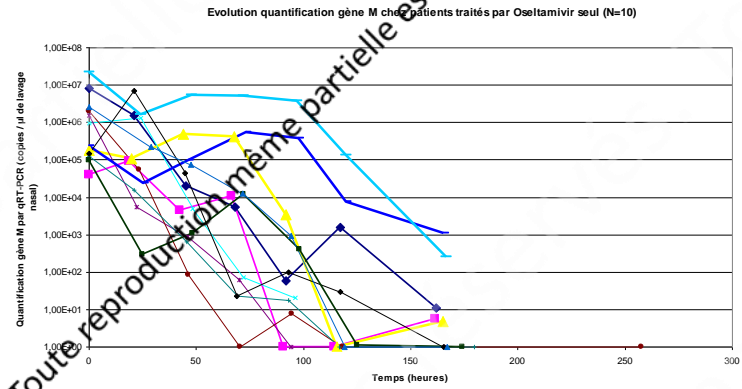
# Essais Amantadine + Ribavirine + Oseltamivir

- Essai clinique (NCT 01227967) **en cours** dans ttt grippe / **adultes à risque de complications**
  - Oseltamivir 75mgx2/j pdt 5j
  - Ribavirine 600mgx2/j pdt 5j
  - Amantadine 100 mgx2/j pdt 5j
- Essai réalisé chez 6 patients très ID
  - étude pharmacocinétique
- Etude sur A(H1N1)pdm09
  - 24 patients ont reçu TCAD, 103 patients traités par oseltamivir
  - **Absence de différence significative sur la diminution de la mortalité à 14j et 90j**

Kim et al., AAC 2011

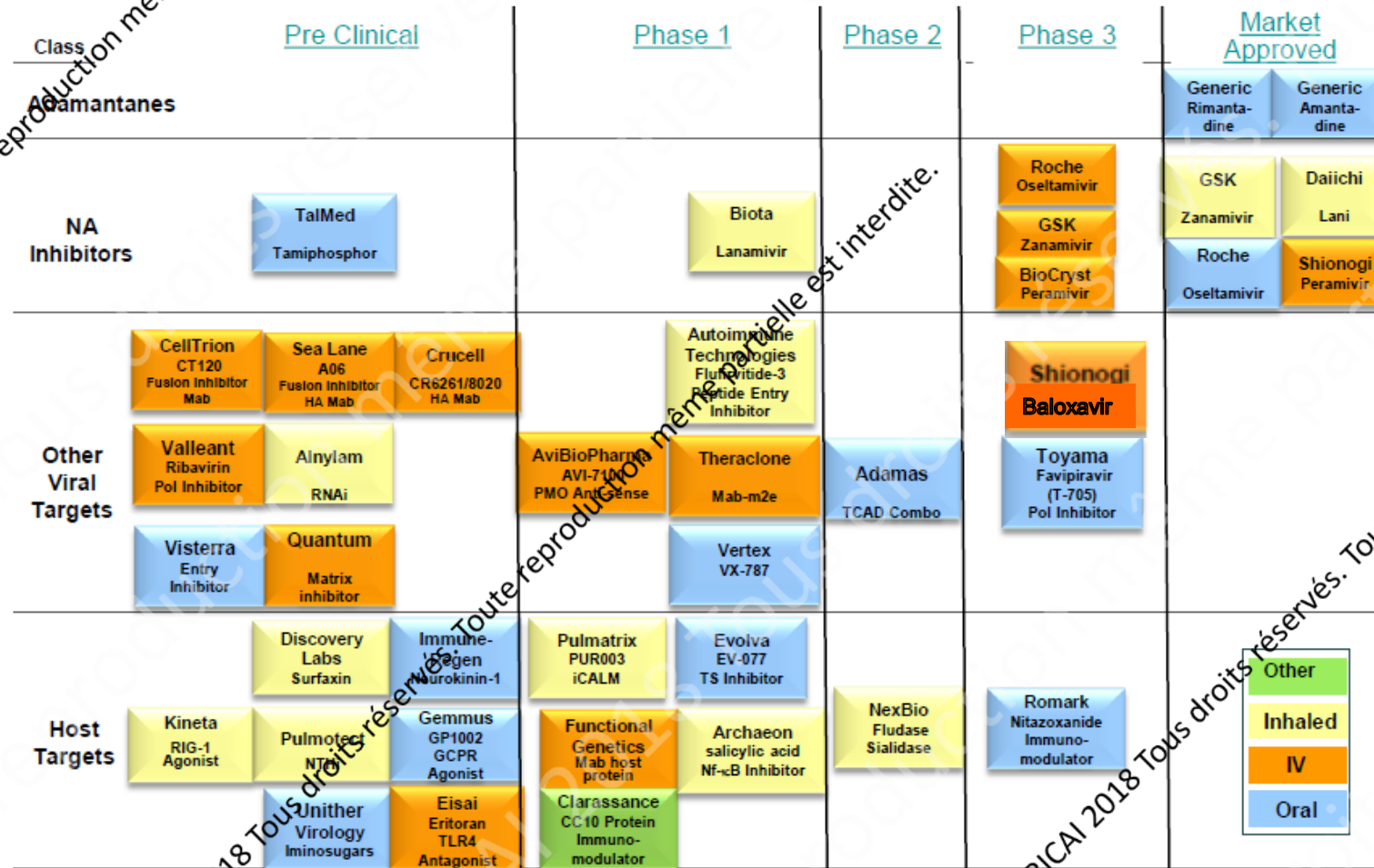


# Combina study

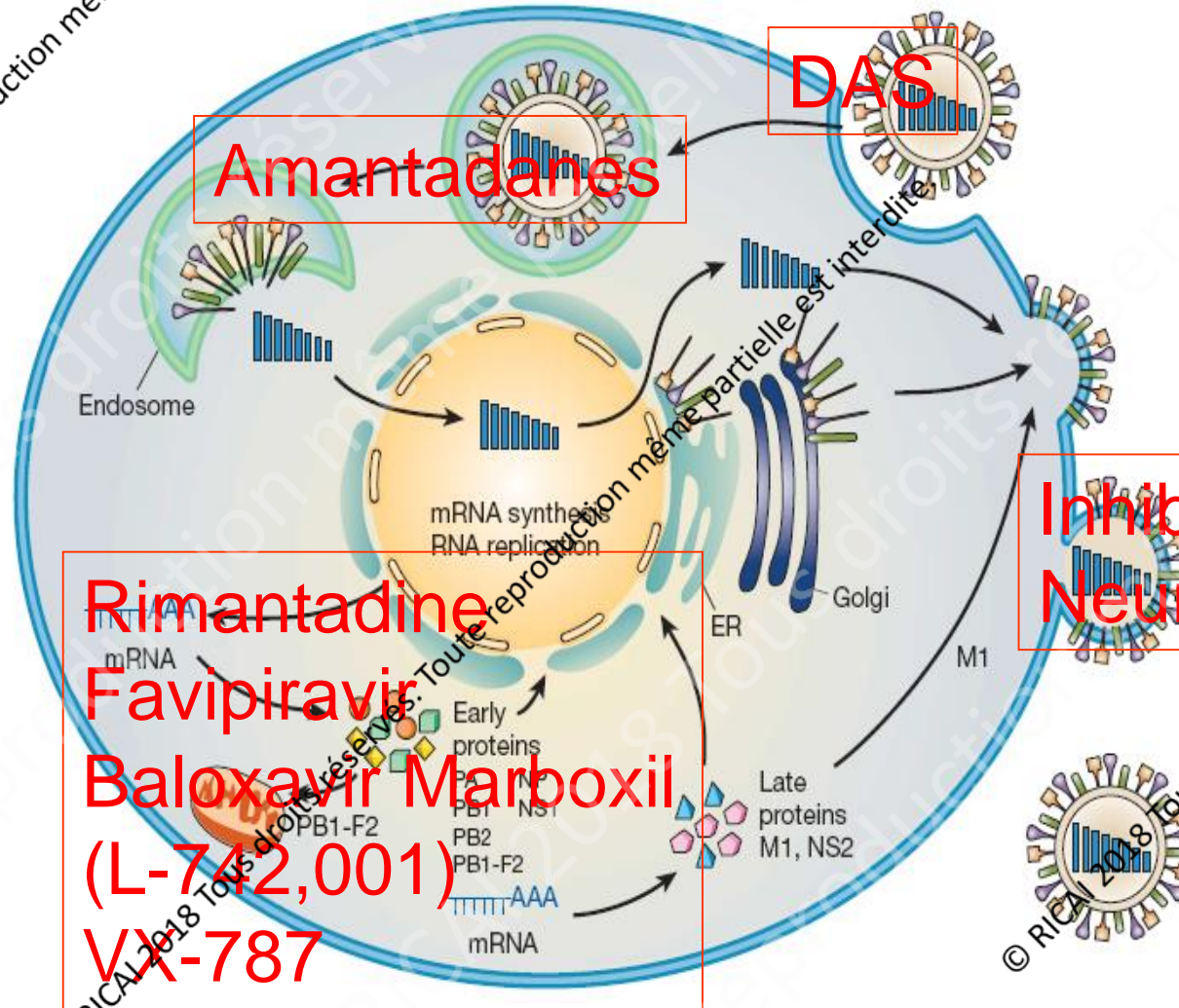


	Treatment			p value	
	O+Z	O+A	O	O+Z versus O	O+A versus O
Viral load (M gene quantification)					
Number of patients under the 3 log <sub>10</sub> cgeq/μl threshold (%)					
Day 0	0 (0.0%)	1 (7.1%)	0 (0.0%)		
Day 1	2 (16.7%)	2 (14.3%)	1 (7.1%)		
Day 2	2 (16.7%)	6 (42.9%)	3 (21.4%)	0.61	0.32
Day 3	5 (41.7%)	9 (64.3%)	5 (35.7%)		
Day 4	8 (66.7%)	10 (71.4%)	9 (64.3%)		

# Alternatives aux nouveaux antiviraux ?



# Les différentes étapes de la replication des virus influenza



Amantadines

DAS

Inhibiteurs de la Neuraminidase

Rimantadine  
Favipiravir  
Baloxavir Marboxil  
(L-742,001)  
VX-787

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

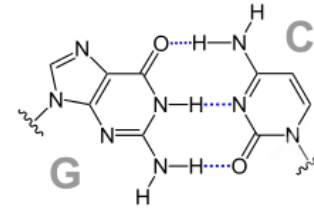
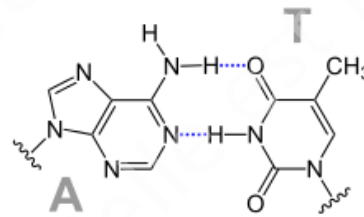
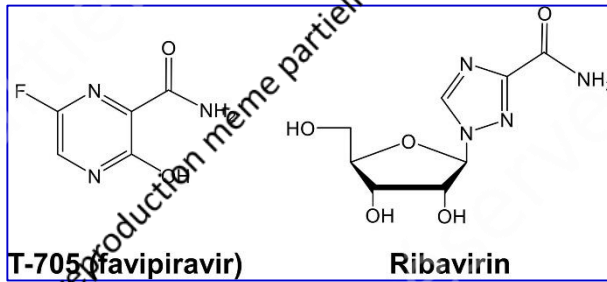
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Favipiravir: effet antiviral sur les VI

- Favipiravir (T-705) 6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazine carboxamide
  - Converti en forme **favipiravir ribofuranosyl – MP puis –TP**
  - **Antiviral à large spectre sur virus à ARN (+) et ARN (-)** (V. Influenza, Ebola, norovirus, arenavirus mais attendre résultats des essais cliniques)
  - **T-705 RTP reconnu / polymérase VI comme GTP ou ATP: effet mutagène (tératogène et embryotoxique)**
  - **T-705 RTP inhibe la polymérase des VI et la synthèse de l'ARN viral**
- Furuta et al., AAC 2005*  
*Sangawa et al., AAC 2013*
- **Essais cliniques phase 3 en cours aux USA et en Europe** (contre placebo chez l'adulte grippe non compliquée)
  - **Approuvé au Japon en 2014 contre les virus influenza nouveaux ou pour lesquels les INAs sont inefficaces**



# Favipiravir et Ribavirine: effets / VI



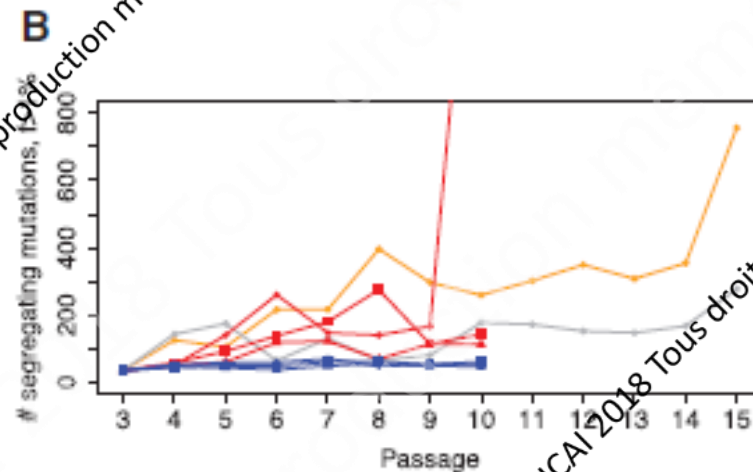
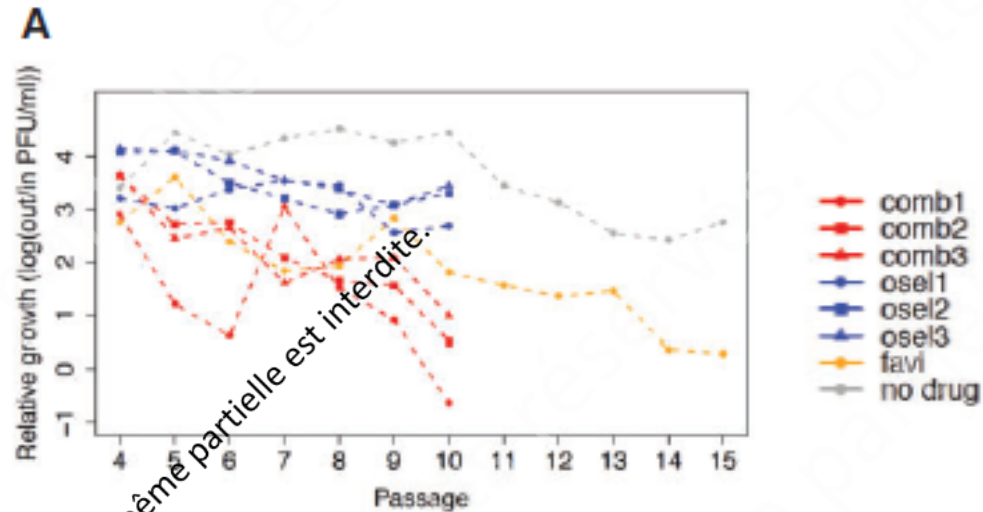
	T-705	Ribavirin
Efficient alternative substrate:	Yes	No
Direct inhibition of influenza polymerase:	<b>Strong</b> effect of T-705-TP: IC <sub>50</sub> ~3 μM	Weak effect of ribavirin-TP: IC <sub>50</sub> ~200 μM
Inhibition of IMPDH enzyme:	None	<b>Strong</b> effect: EC <sub>50</sub> ~8 μM
Depletion of cellular GTP pool:	Slight effect: [GTP] ↓ by 3-fold at 600 μM	<b>Strong</b> effect + NTP imbalance: [GTP] ↓ by 10-fold at 30 μM
Cytostatic effect:	None	<b>Clear</b> cytostatic effect: ~30% at 100 μM
Antiviral potency:	EC <sub>50</sub> = 11 μM	EC <sub>50</sub> = 8 μM
Antiviral effect at ~20 μM:	<b>T-705 incorporation in viral RNA</b> and virus mutagenesis	Partial inhibition: <b>NTP imbalance</b> and virus mutagenesis
Antiviral effect at ≥ 50 μM:	Complete inhibition of viral RNA synthesis and replication	Complete inhibition of viral RNA synthesis and replication



# Effet en association avec Oseltamivir

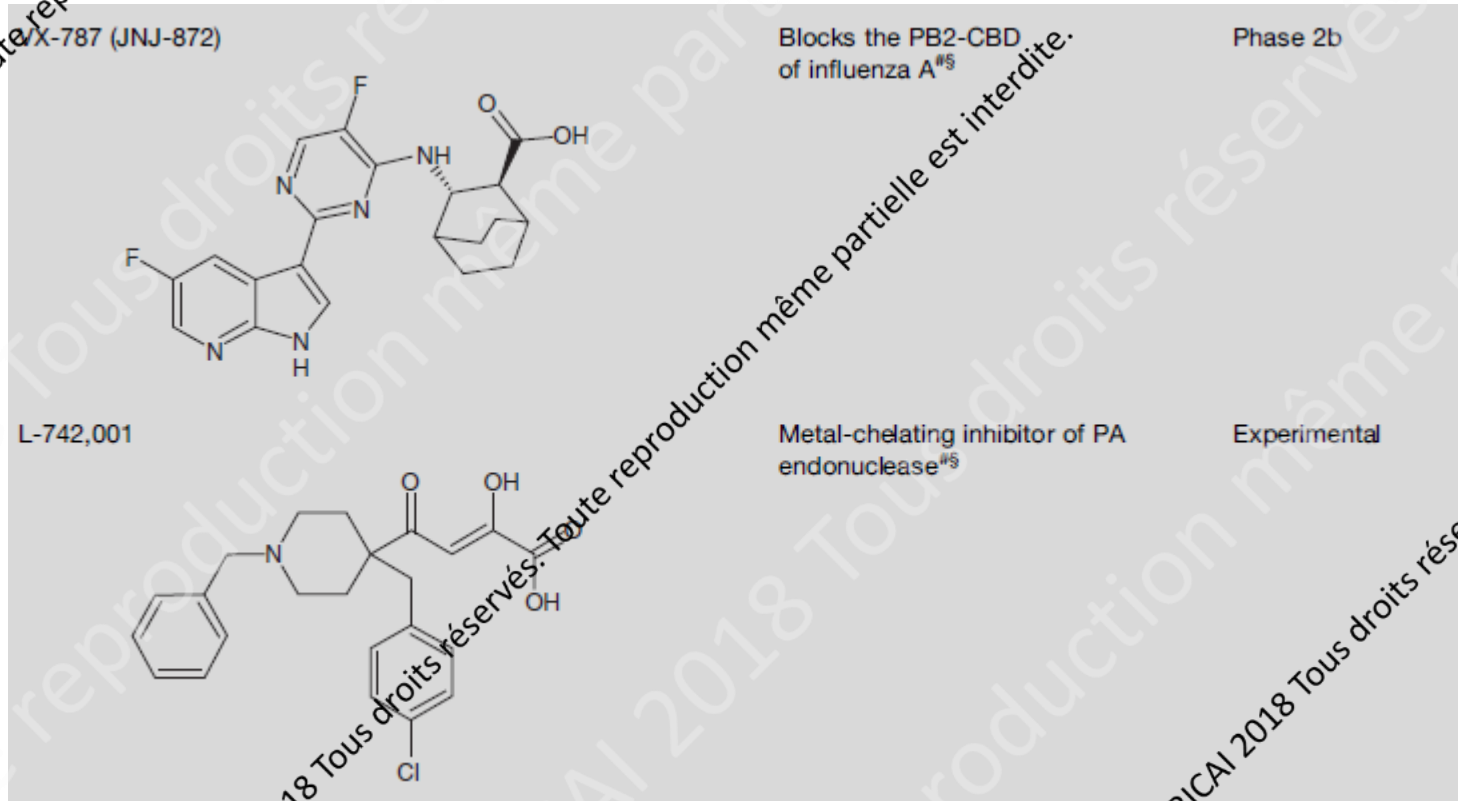
- Réduction du titre *in vitro*
- Association bénéfique

- Augmentation du taux de Mutation – délétère pour le virus

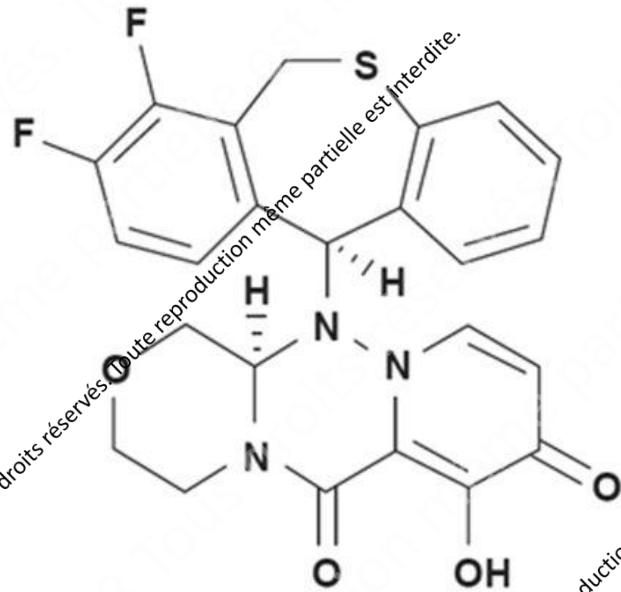


# Traitements en cours de développement

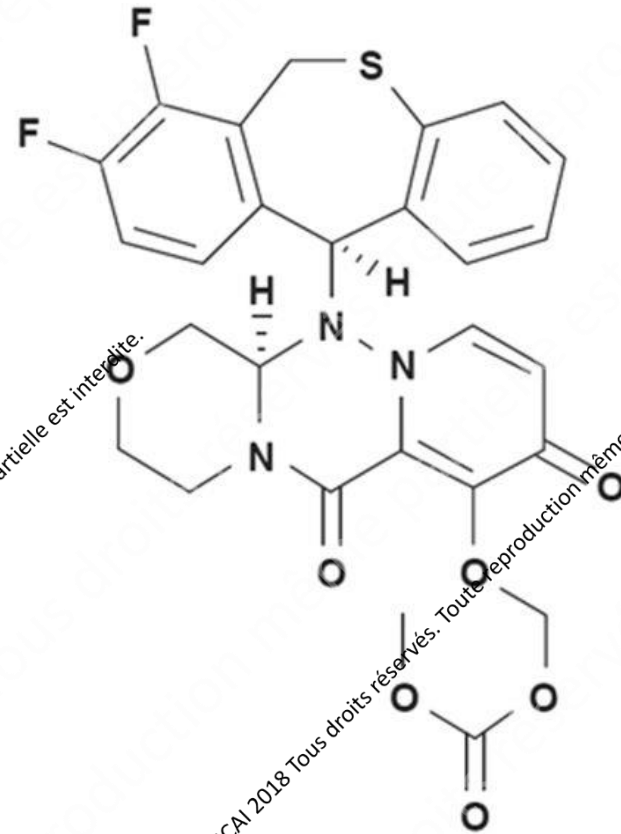
- Inhibiteurs de la polymérase



# Baloxavir Marboxil

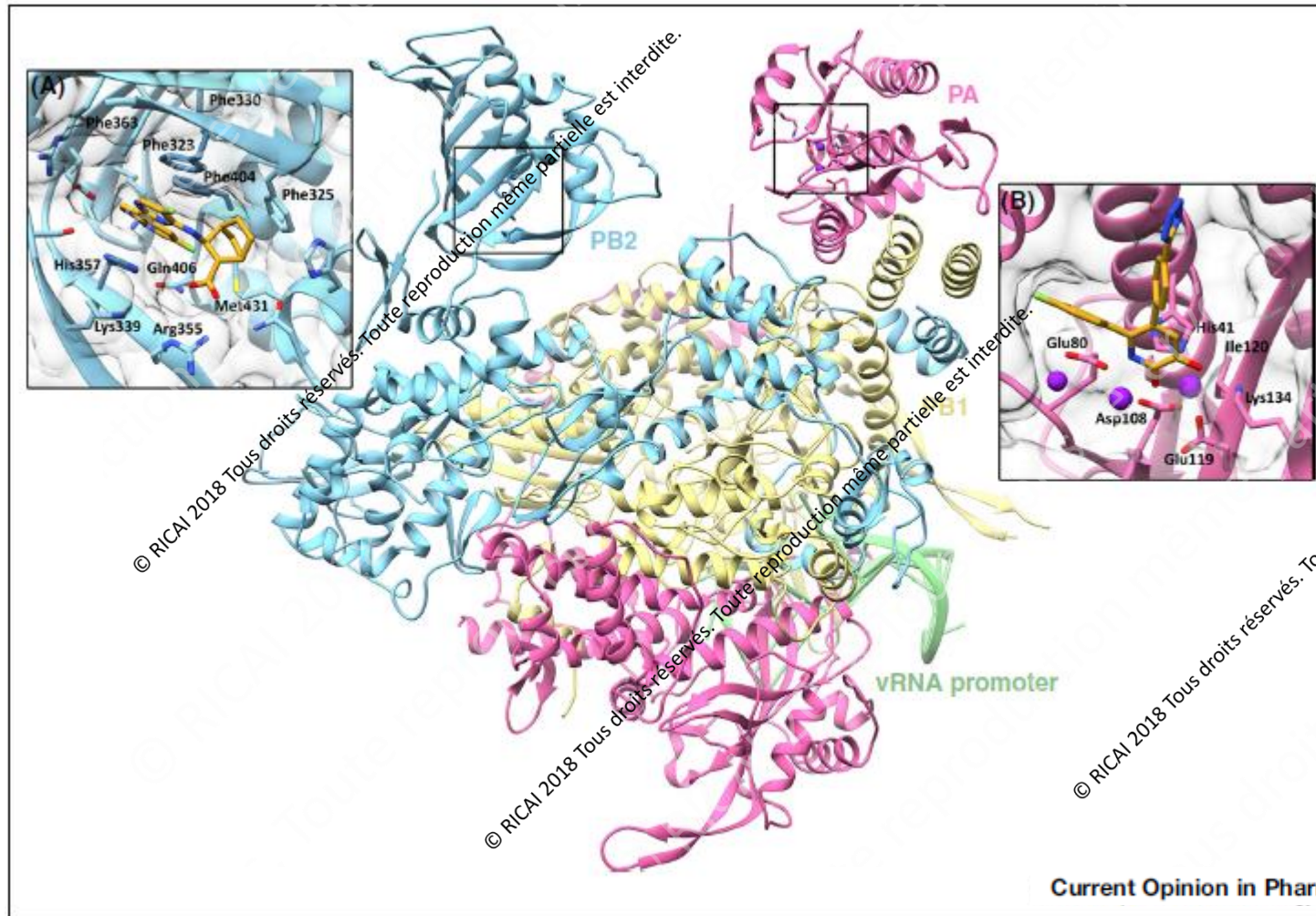


Baloxavir acid (BXA)

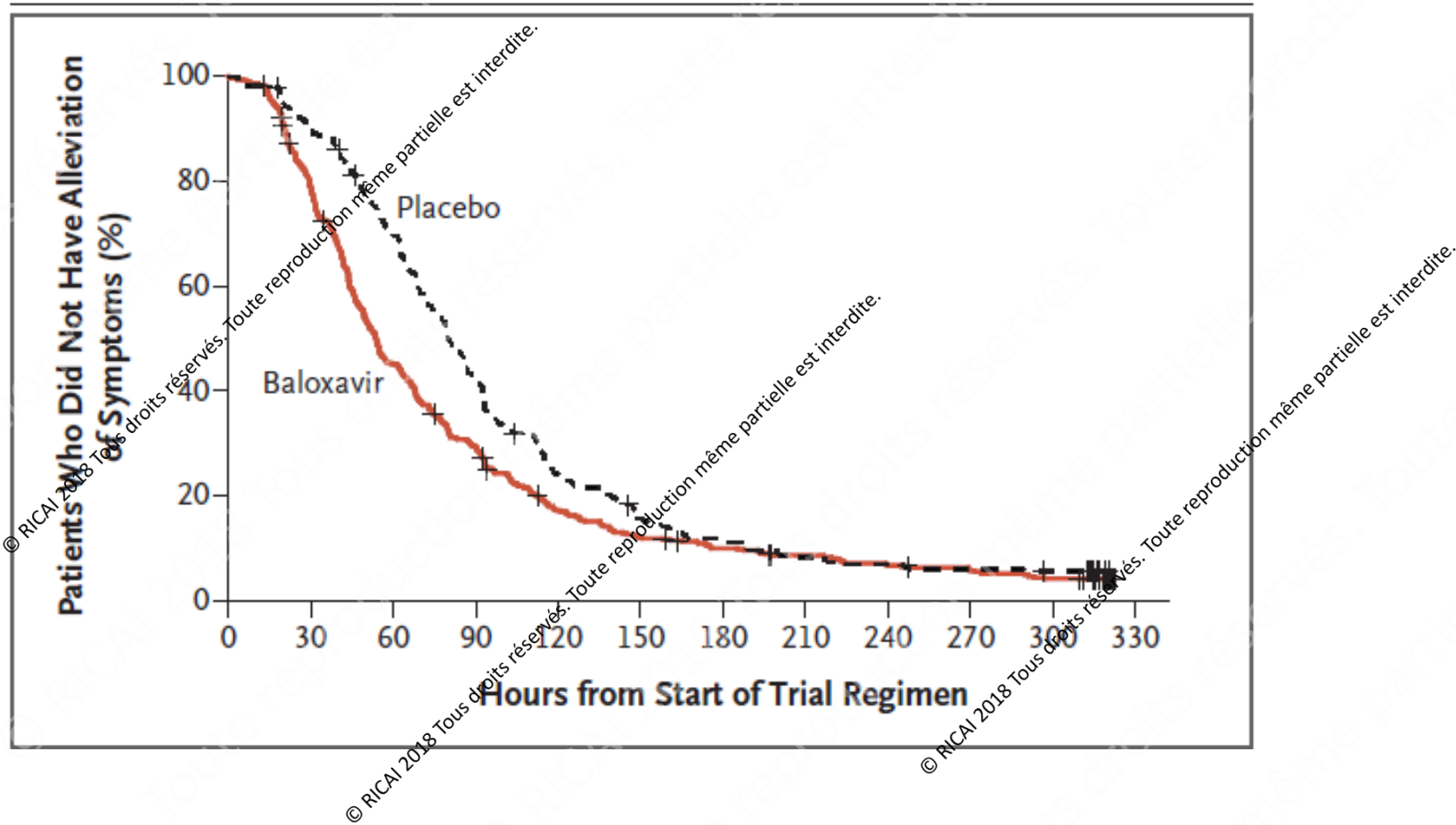


Baloxavir marboxil (BXM)

# Localisation des différents inhibiteurs de la polymérase (PB2 – VX787 et PA - Baloxavir)



# Efficacité clinique du BLX MAR





# Efficacité virologique du BLX MAR

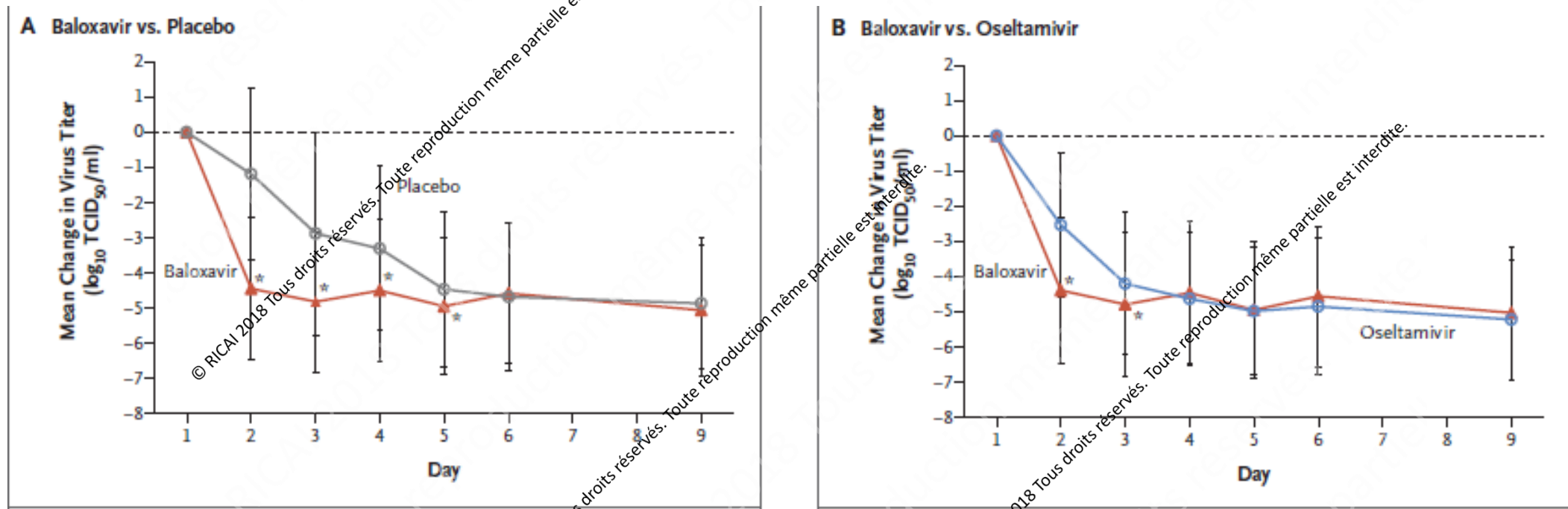
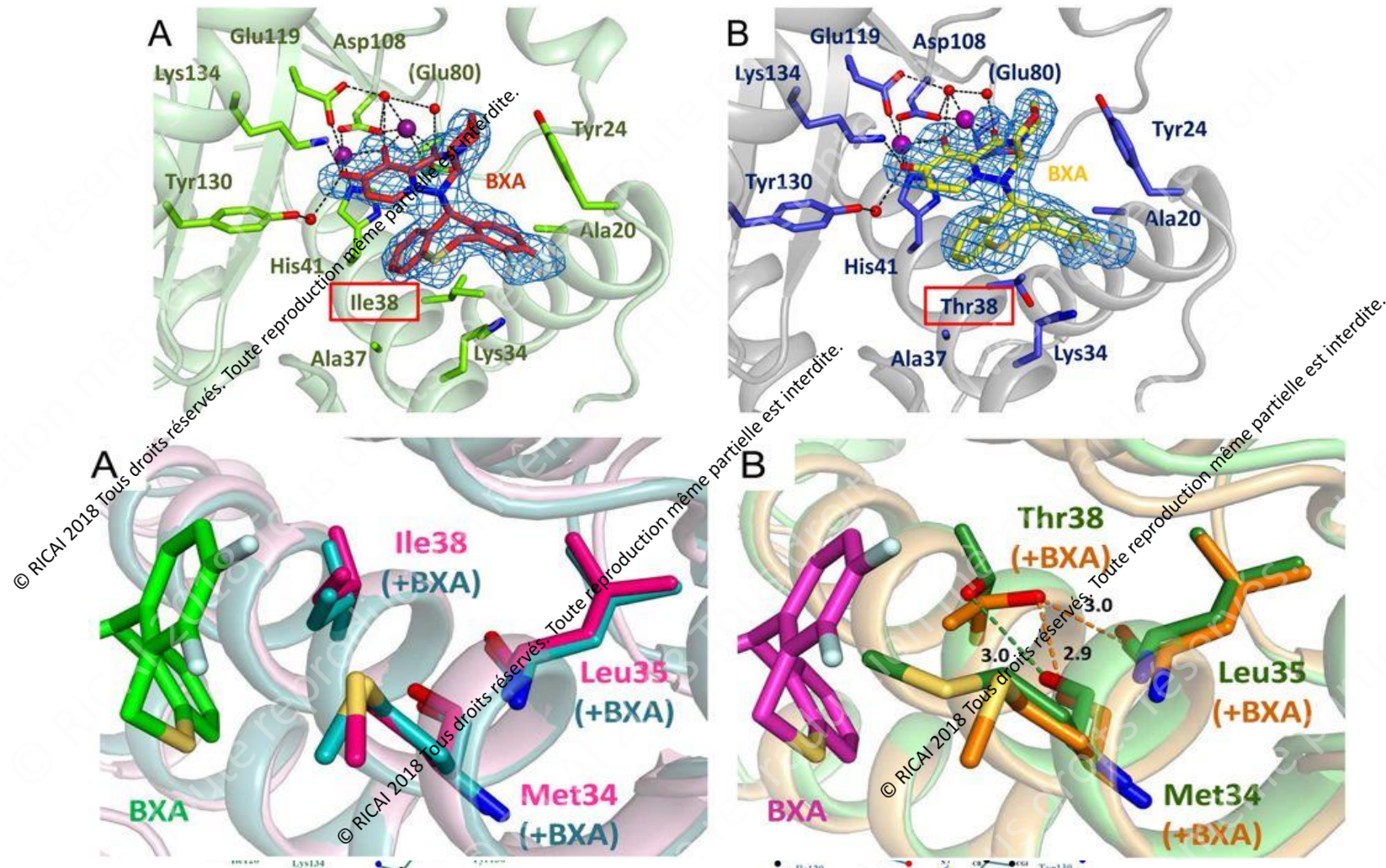


Figure 3. Change from Baseline in Influenza Infectious Oral Load over Time in the Phase 3 Trial.

# Baloxavir marboxil : identification de mécanismes de résistance

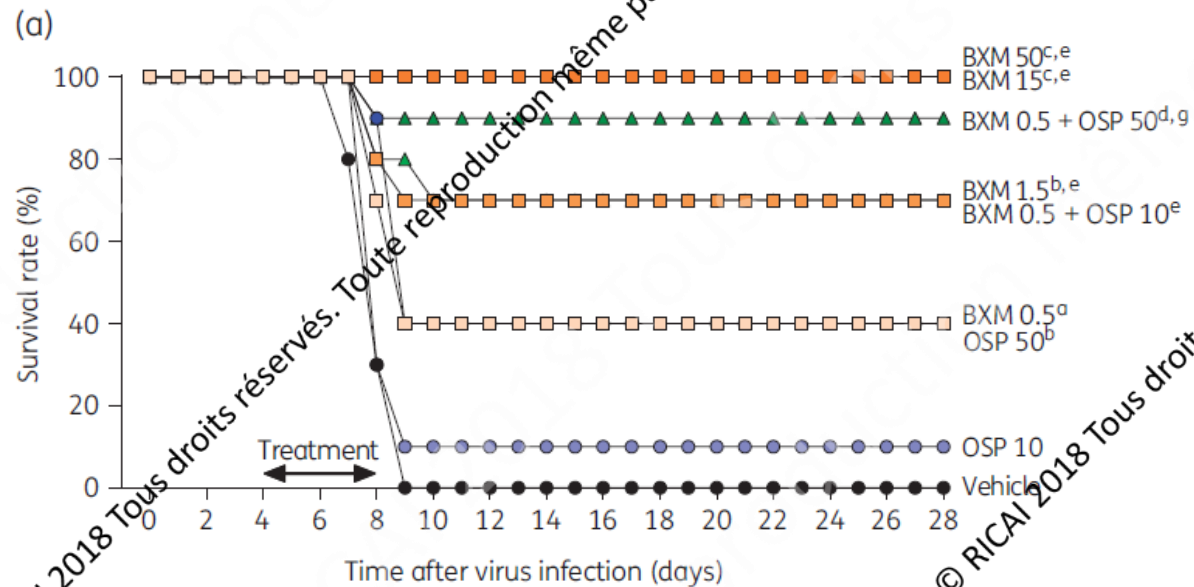


BXA binding to influenza A/H1N1 PA endonuclease. BXA interacts with (A) PA-A WT and (B) PA-A I38T by chelating the two manganese ions in the active site.

# Essai chez la souris en association avec Oseltamivir

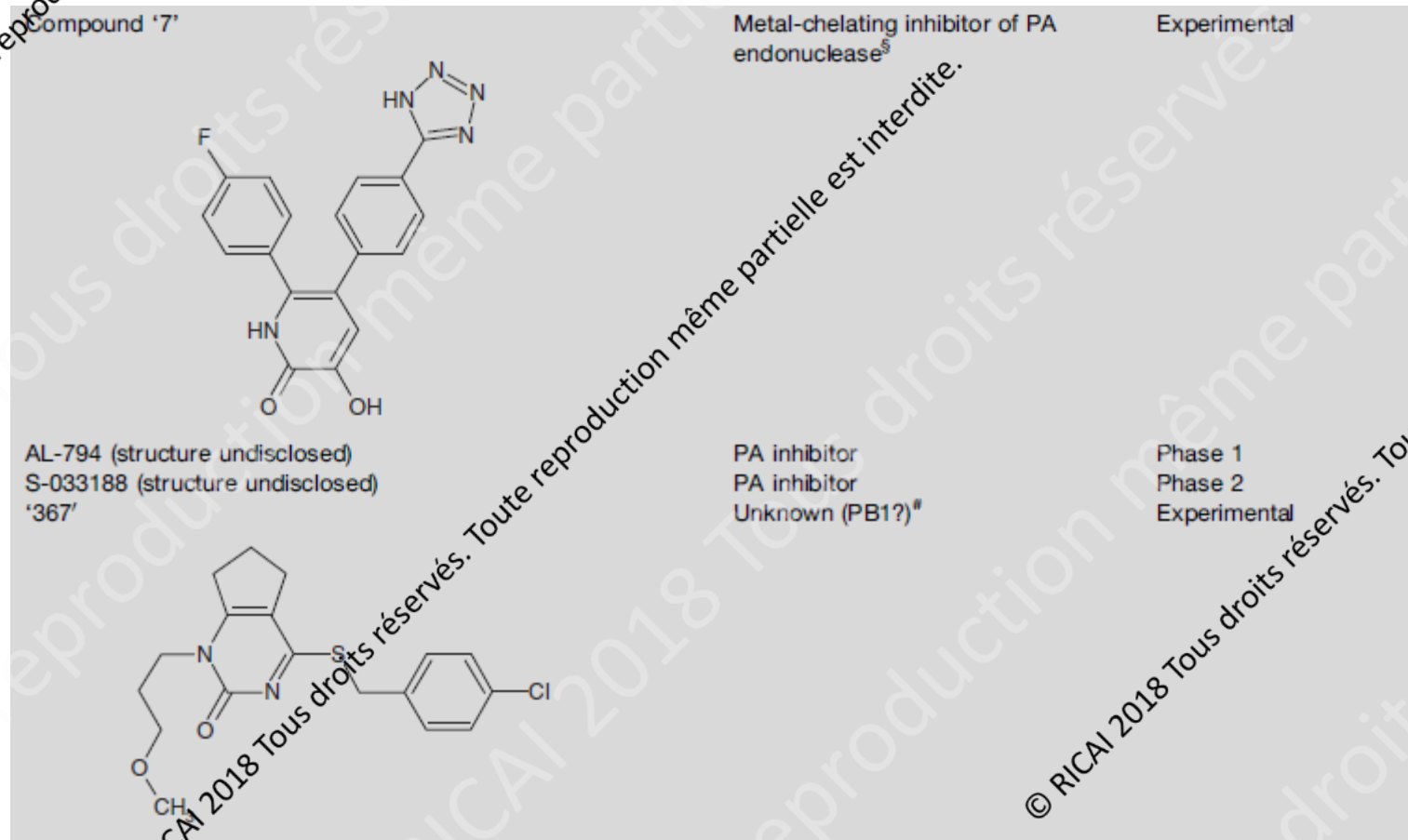
- Effet de l'association thérapeutique post-infectieuse de Baloxavir Marboxil avec Oseltamivir (modèle murin avec A/PR8/34)

Baloxavir in a mouse model of influenza



# Autres traitements en cours de développement

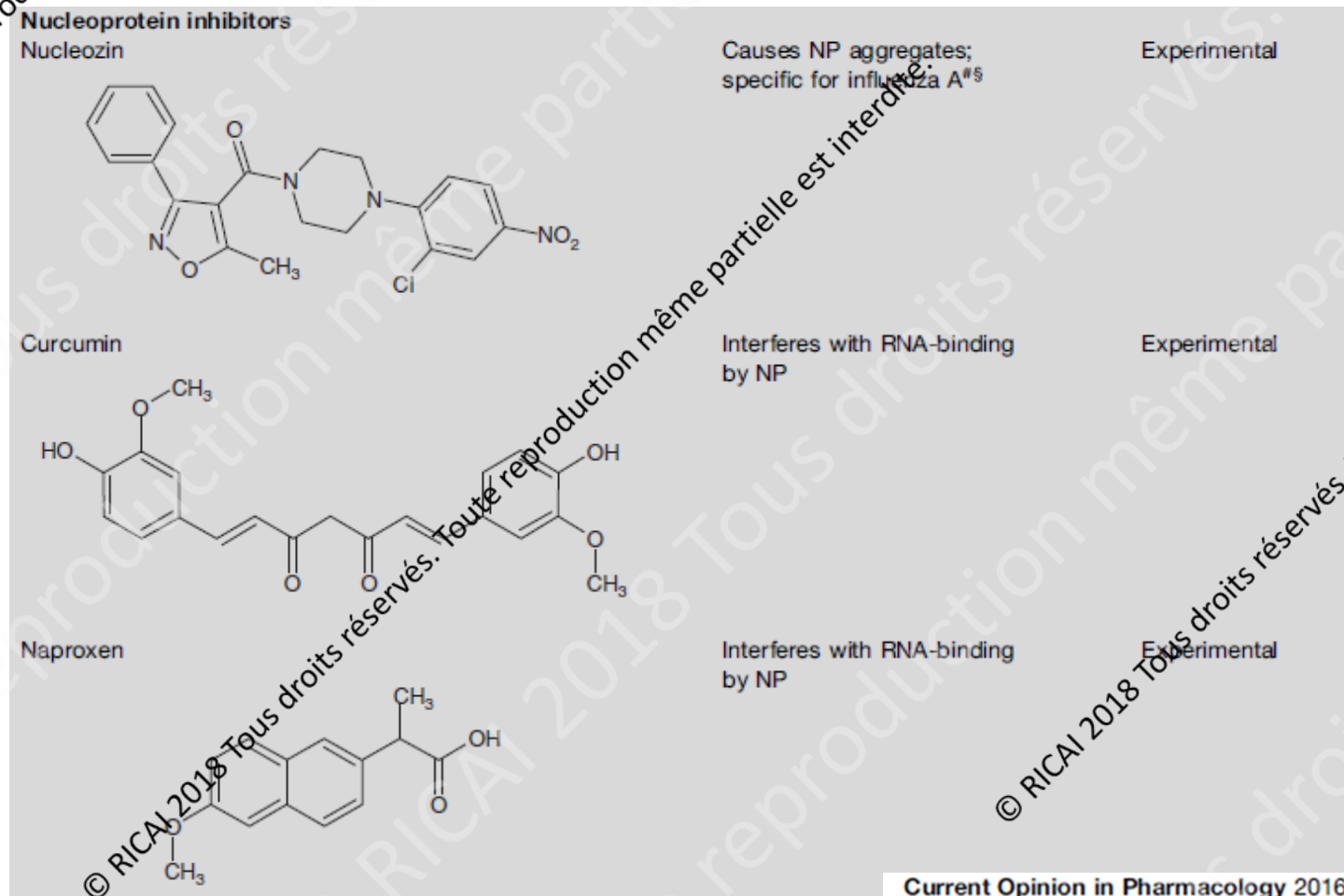
- Autres inhibiteurs de la polymérase





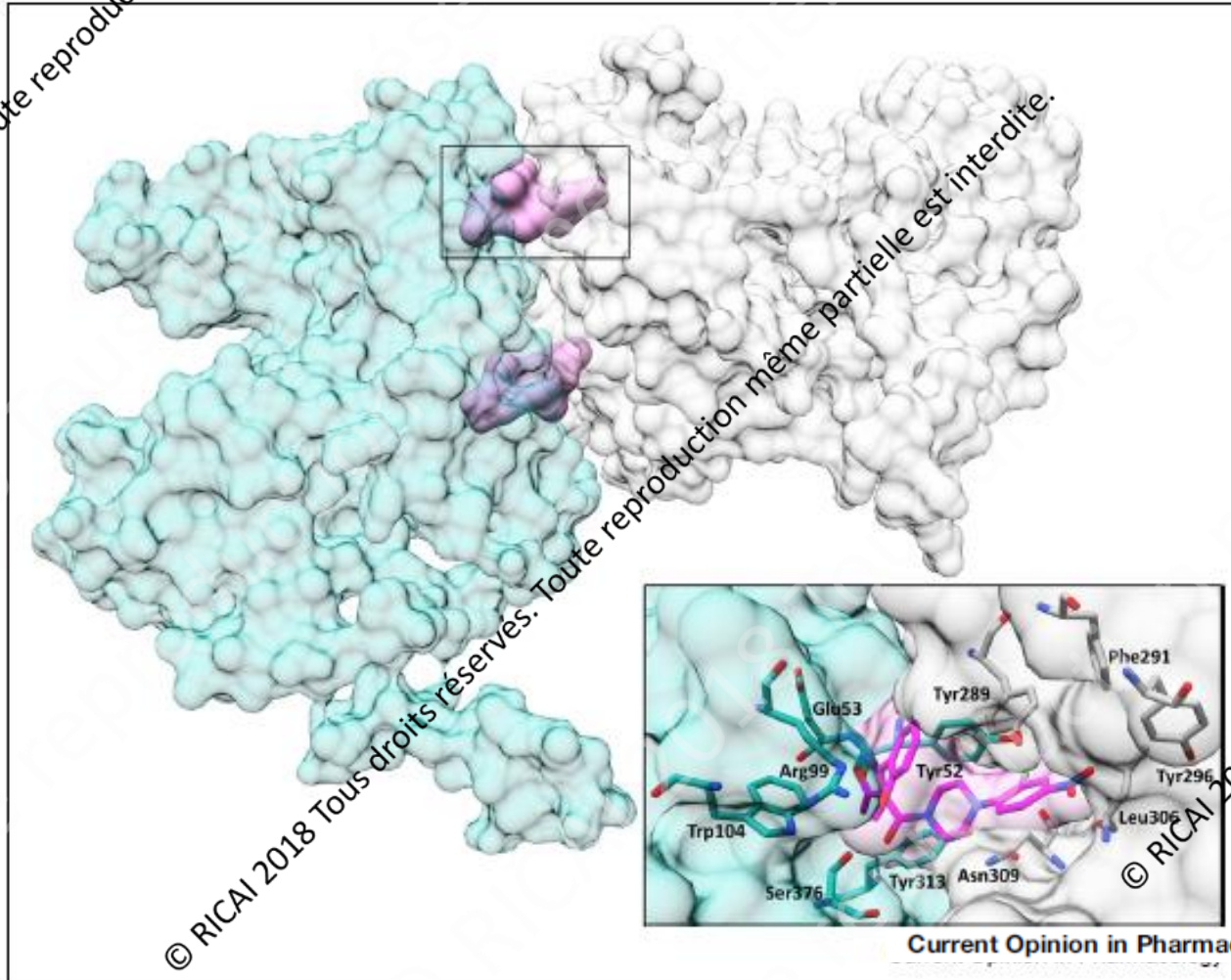
# Traitements en cours de développement

- Inhibiteurs de la NP

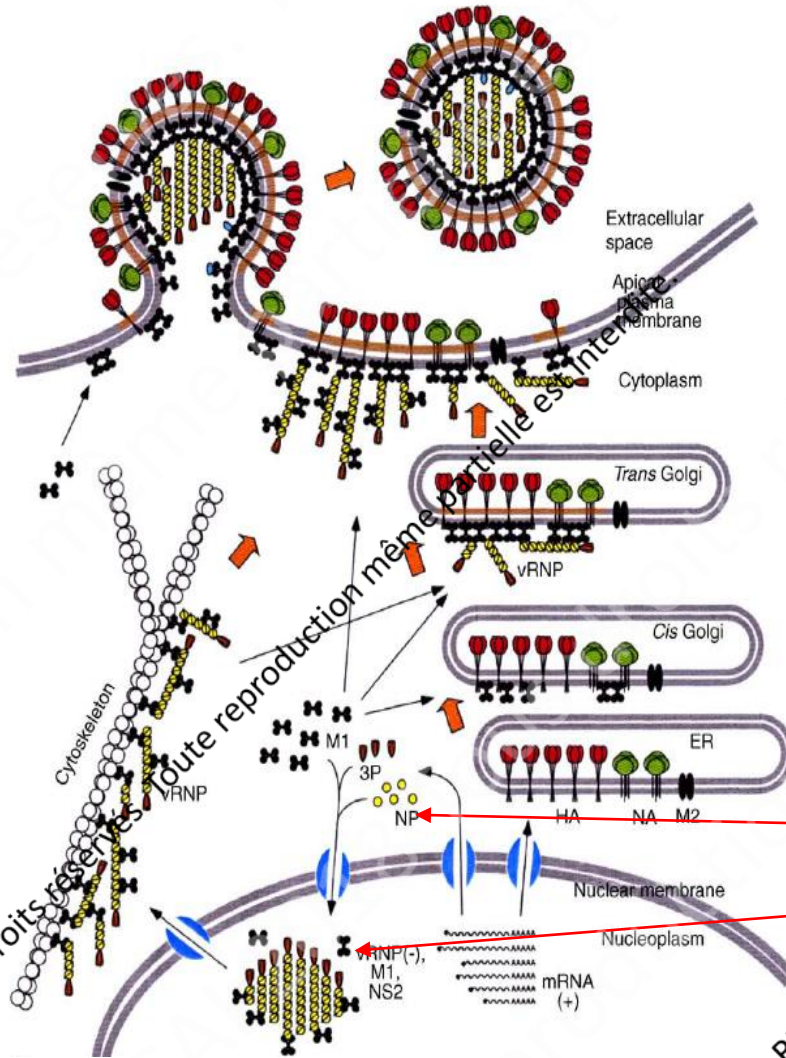


# Mode d'action du Nucleozin

- Oligomérisation de la NP bloquant son export vers le cytoplasme



# Step #5 (protein synthesis) and #6 (vRNP traffic)



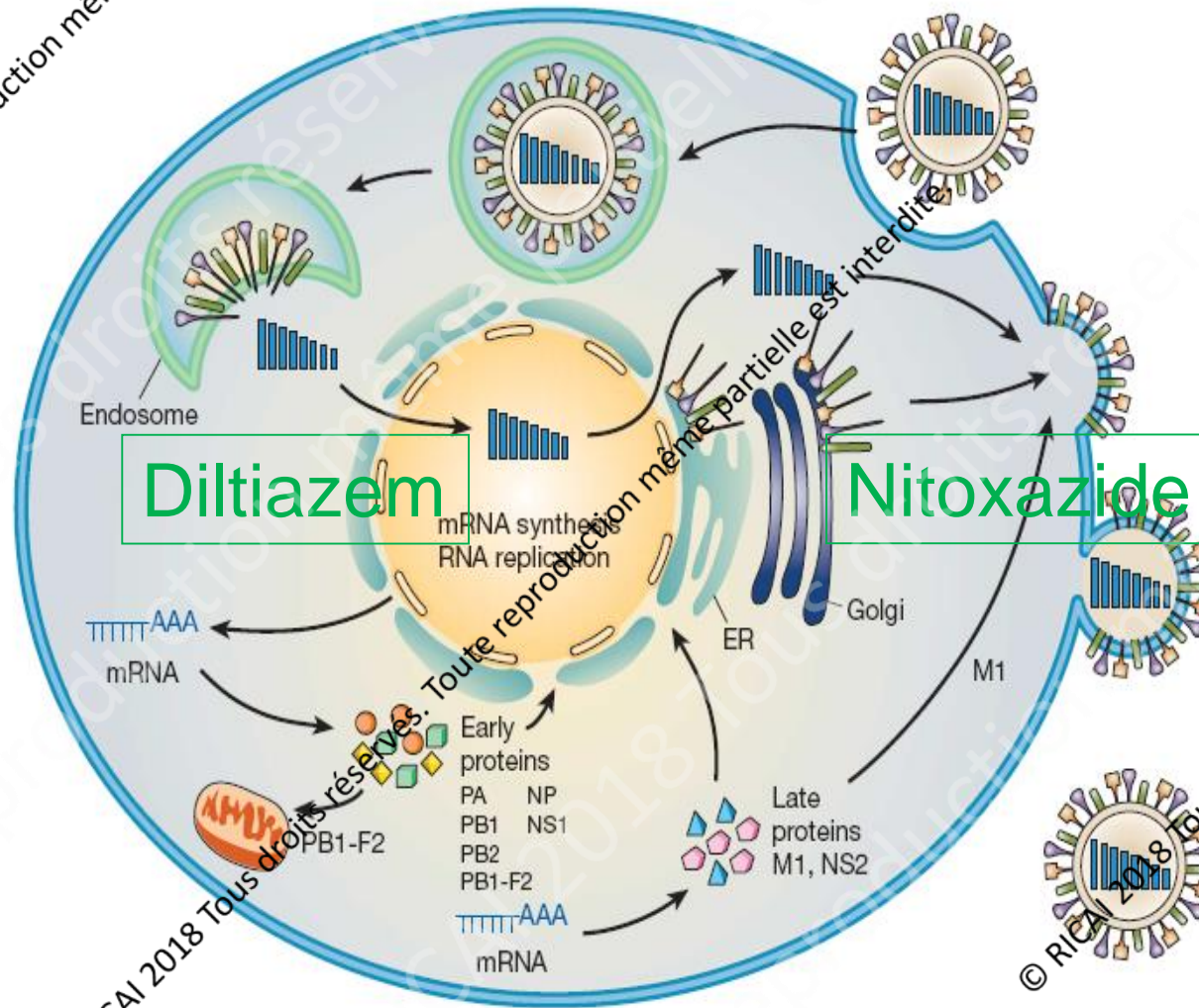
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



# Les différentes étapes de la replication des virus influenza – Effets sur la cellule



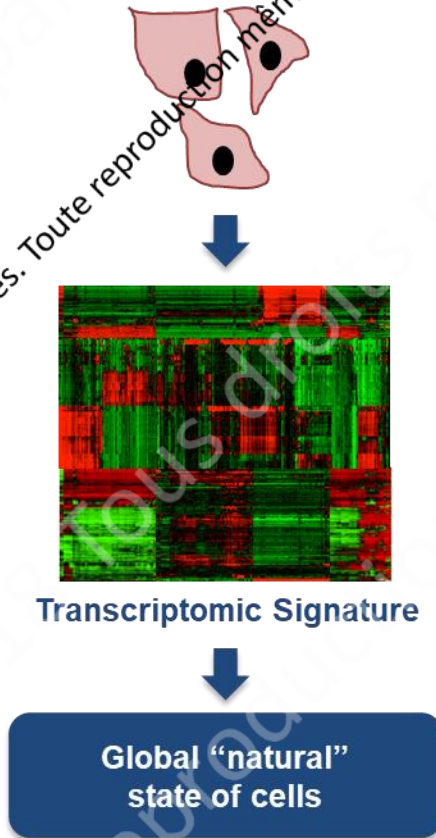
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



# Principe de l'approche omique pour le repositionnement thérapeutique

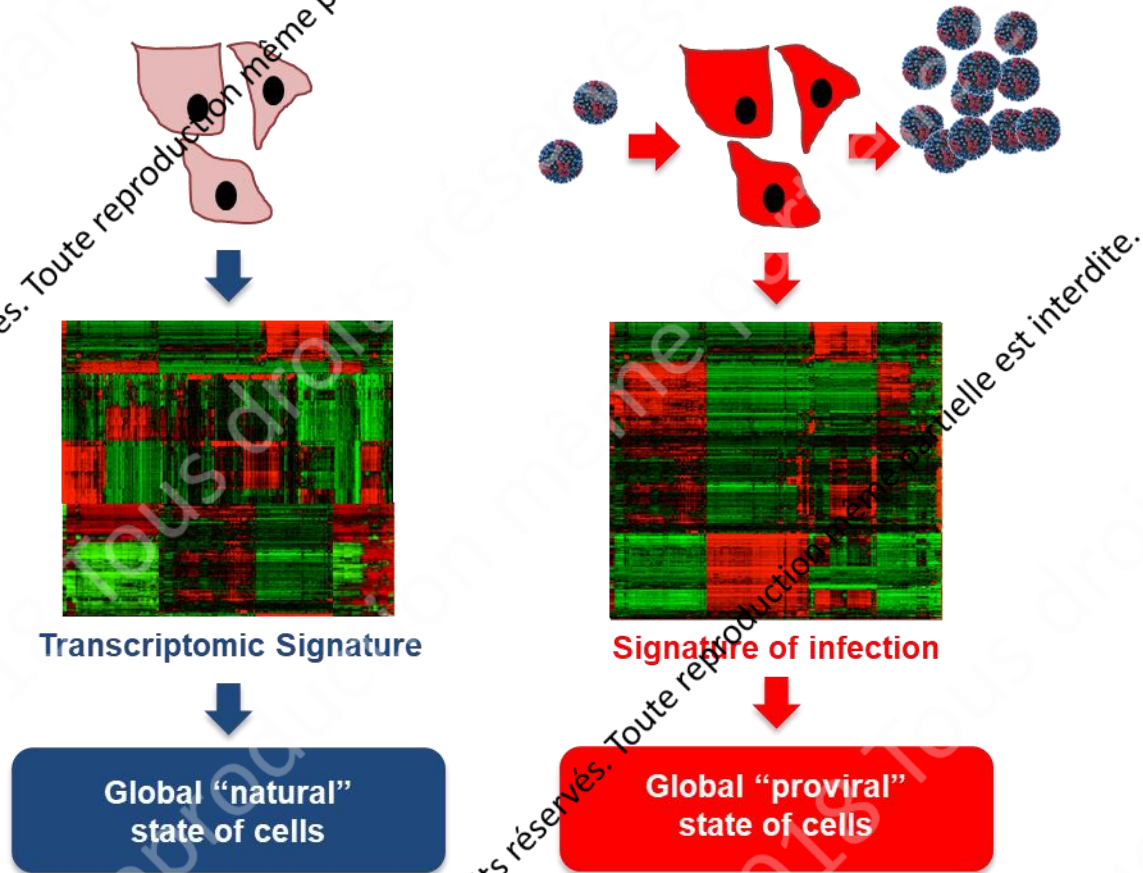


© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Principe de l'approche omique pour le repositionnement thérapeutique

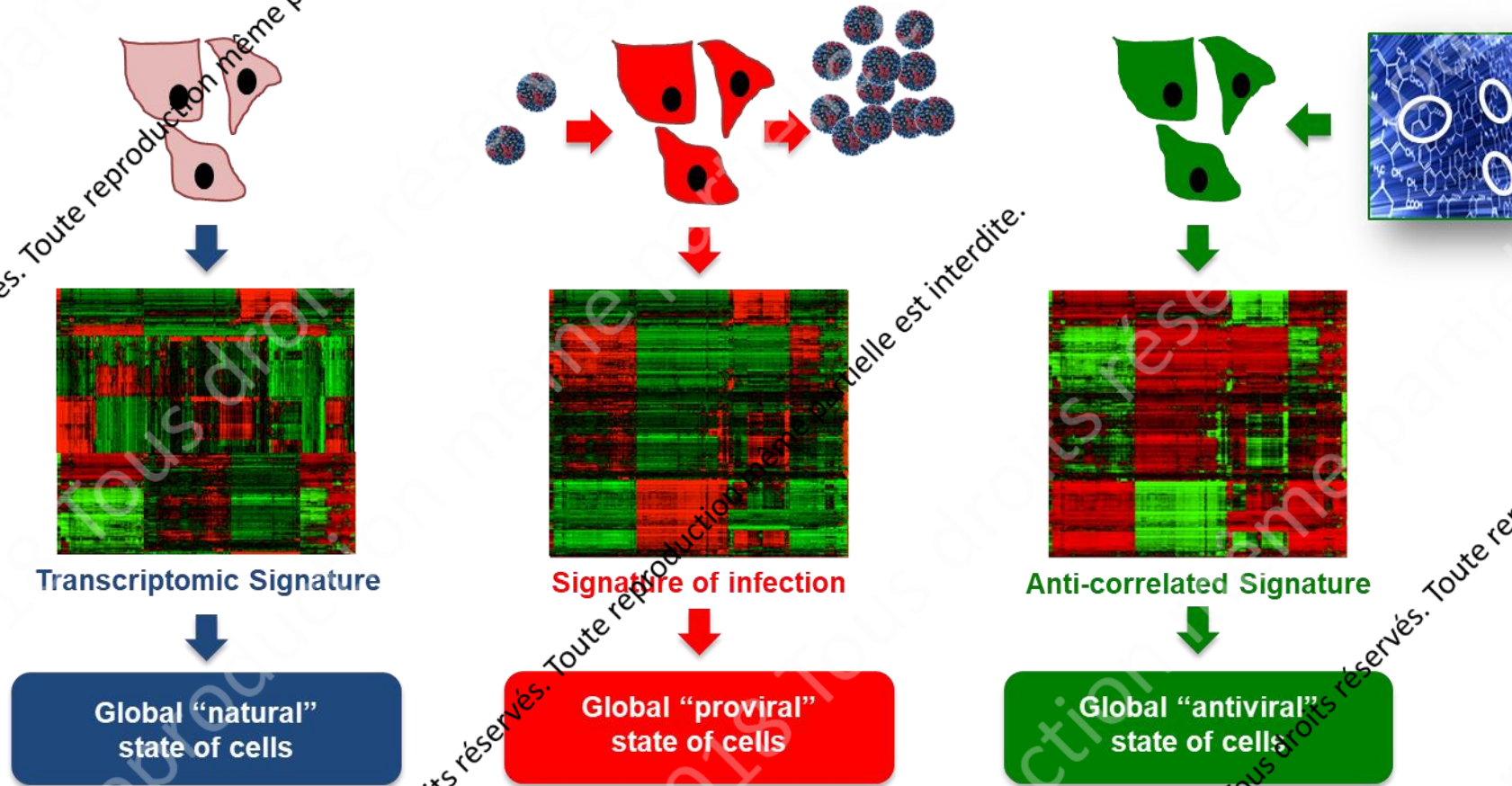


© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Principe de l'approche omique pour le repositionnement thérapeutique



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Use signatures of infected patients, next steps

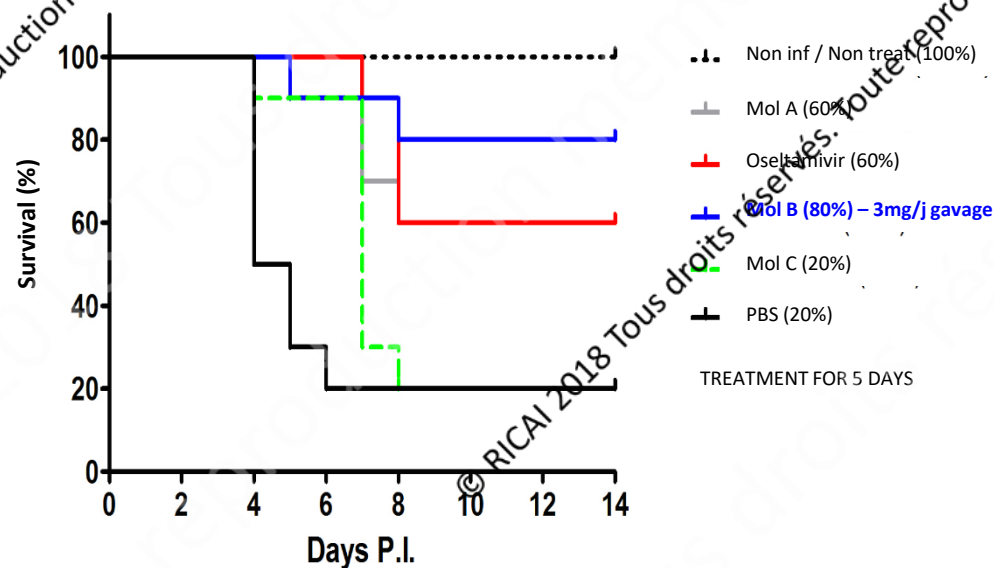
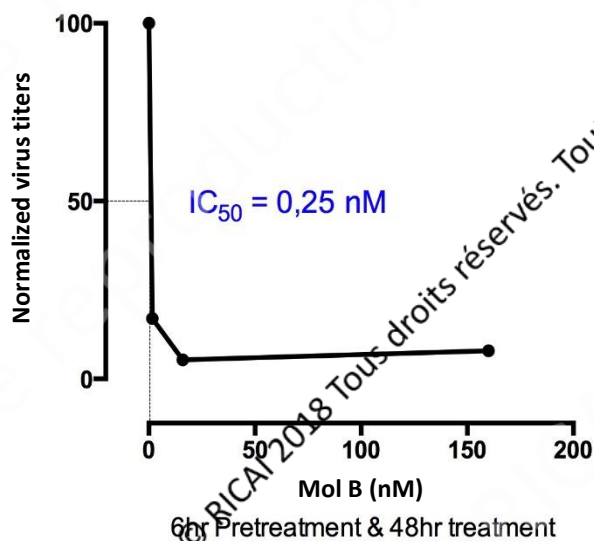
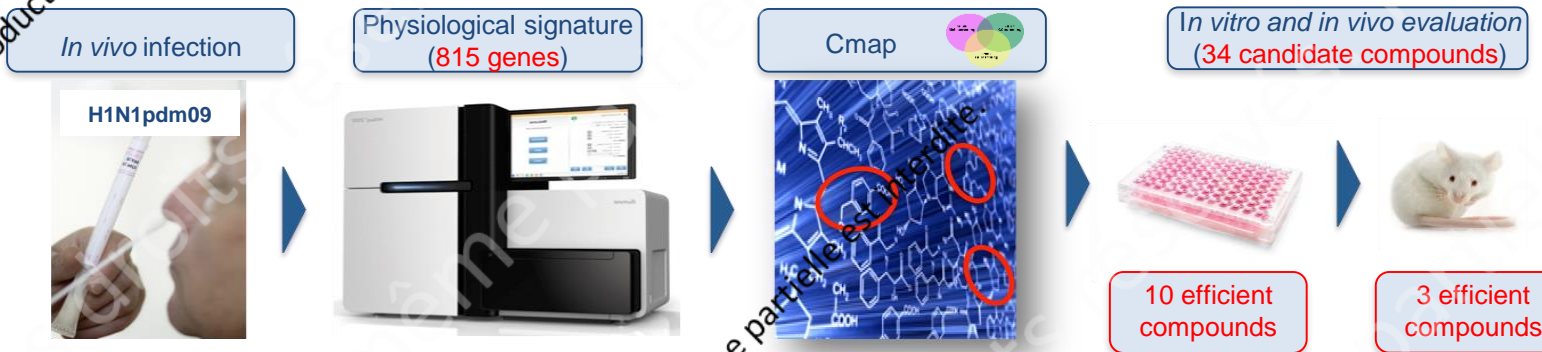
## FLUNEXT

Inserm

DGOS

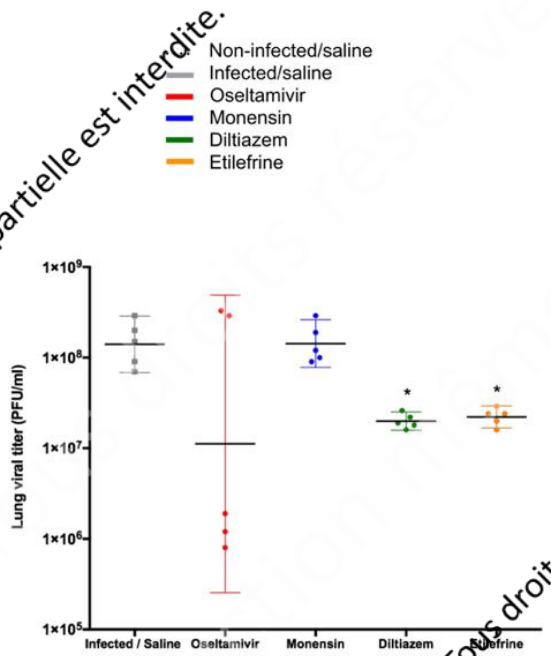
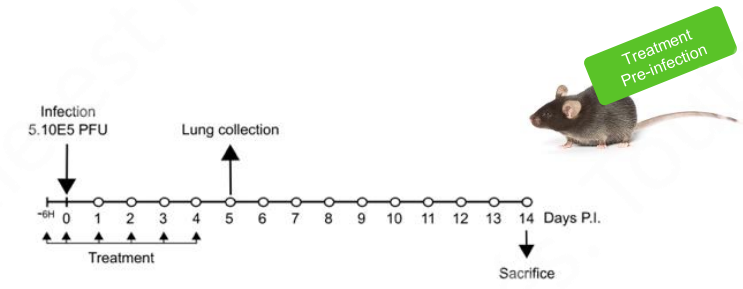
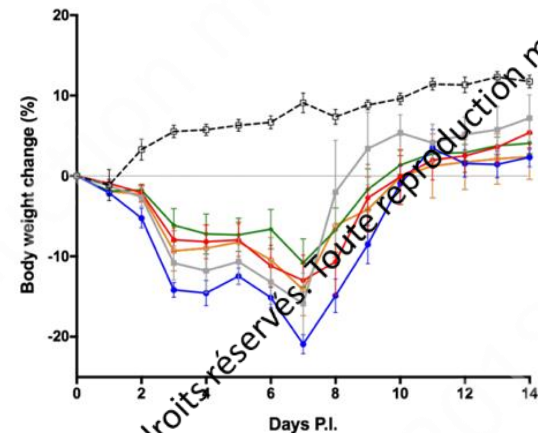
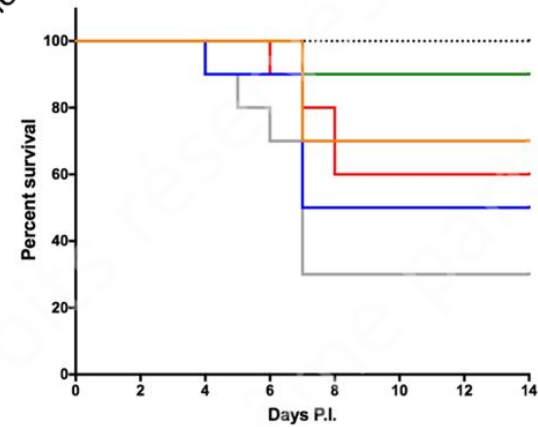


Hôpitaux de Lyon





# In vivo efficacy of diltiazem and etilefrine



# Conclusion

- Le développement d'antiviraux contre la grippe est assez dynamique
- Au moins 3 classes d'antiviraux sont disponibles dans certains pays
  - INA
  - IPA
- Des mécanismes de résistance ont été décrits pour toutes les molécules testées.
- Des produits « repositionnés » sont en cours d'évaluation
- La combinaison de molécules pourraient conduire à l'apparition d'approches thérapeutiques adaptées à la prise en charge d'une infection aiguë de courte durée.

# Remerciements

- Reference Centre for Respiratory viruses :

- **Vanessa Escuret**

- Maude Bouscambert
- Jean Sebastien Casalegno
- Laurence Josset
- Martine Valette

- The Virpath Team (CIRI)

- **Manuel Rosa-Calatrava**
- Olivier Terrier
- Olivier Ferraris

- WHOcc in London (The Crick Institute)

- John McCauley
- Rod Daniels



Hôpitaux de Lyon



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

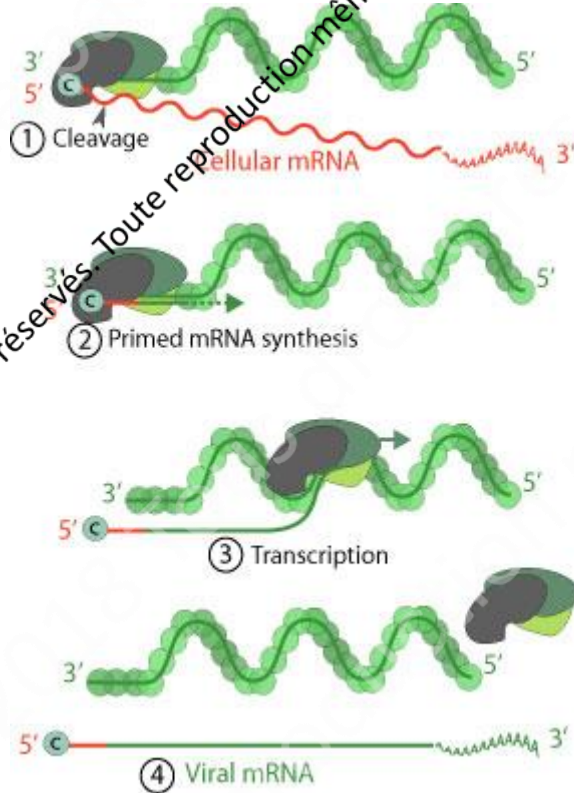
# Back up slides

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

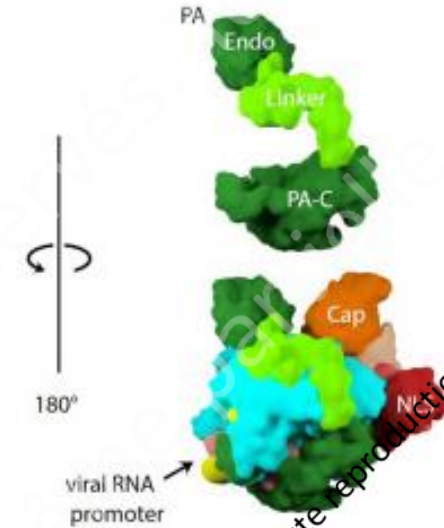
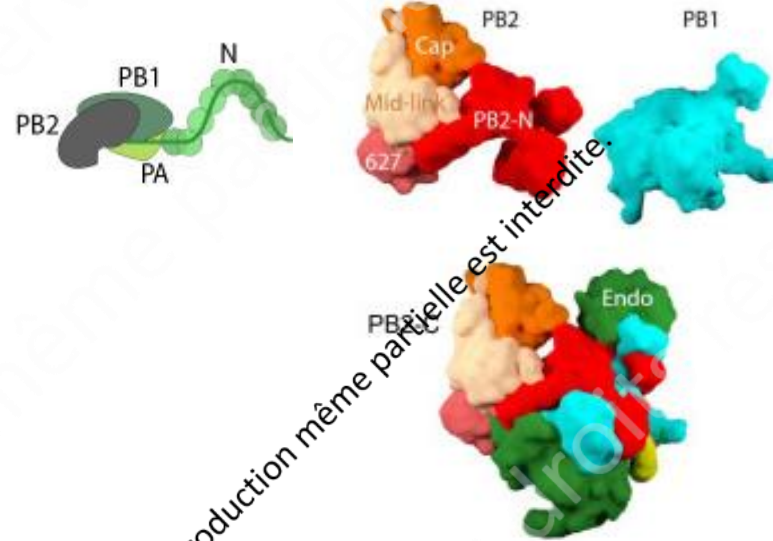
# Les Antiviraux contre la polymerase de la grippe: futur?

## Mécanisme du « Cap-snatching »



[http://viralzone.expasy.org/all\\_by\\_protein/839.html](http://viralzone.expasy.org/all_by_protein/839.html)

Naesens et al., *COI* 2016



Pflug et al., *Virus Research* 2017

### Structure cristallographique récemment décrite: Opportunité de design de nouveaux inhibiteurs

- Inhibition de la liaison de PB2 à la coiffe située en 5' des pre-ARNm de l'hôte (VX-787 = JNJ-872 ne semble pas inhiber les virus influenza B, Phase 2b\*)
- Inhibiteur de PA (L-742,001)
- petits inhibiteurs de l'interaction de la région C terminale de PA et N terminale de PB1