



## Médicaments COVID-19

23 avril 2020

Pour imaginer comment interférer sur l'infection par des virus à enveloppe il est indispensable d'exploiter nos connaissances des mécanismes cellulaires et moléculaires acquises depuis un demi-siècle. **Cette fiche résume en première partie un aspect du cycle viral : l'entrée et le transport intracellulaire des virus à « enveloppe » et en deuxième partie la pharmacologie et les essais cliniques de candidats médicaments.**

### 1. Mécanismes d'entrée des virus enveloppés dans les cellules : cibles cellulaires et moléculaires potentielles

#### 1- Principes généraux sur les étapes précoces des infections par des virus enveloppés

Le cycle viral comprend plusieurs étapes complexes qui utilisent les machines moléculaires des cellules assurant la multiplication virale. Brièvement, ceci comprend :

- 1- l'entrée des virus ;
- 2- la libération du génome viral dans le cytoplasme où sera recopié le génome et y formera de nouvelles particules virales ;
- 3- la sortie à l'extérieur de la cellule.

Cette multiplication des particules virales qui infecteront d'autres cellules adjacentes ou à distance est très complexe et représente un véritable défi pour lutter pharmacologiquement contre les infections virales.

**Différentes familles de virus utilisent plusieurs mécanismes d'entrée et de propagation, de plus les virus peuvent s'adapter au système de défense de la l'organisme hôte.**

Le cycle des virus à « enveloppe » à ARN monobrin est bien connu des biologistes cellulaires (*voir Figure*). La plupart de ces virus entrent dans la cellule par endocytose médiée par un récepteur présent à la surface de la cellule, un corécepteur peut être indispensable à l'endocytose. Après l'internalisation de la particule virale, celle-ci se retrouve dans une vacuole (endosome) contenant des enzymes, le contenu de la vacuole est acidifié par une pompe à proton. La maturation du contenu des endosomes se fait progressivement (endosome précoce et endosome tardif) jusqu'à la fusion de la membrane endosomale avec la membrane des lysosomes contenant des enzymes du catabolisme qui digèrent le contenu. Les virus internalisés transitent dans ces compartiments acides (pH : 6,0 à 4,5), la fusion de la membrane de l'enveloppe virale est suivie de l'expulsion de la capsid dans le cytoplasme. Celle-ci doit s'effectuer précocement, c'est une **condition sine qua non à la libération de leur matériel génétique intact dans le cytoplasme de la cellule infectée** (voir revues A. Helenius, P. Cossart et A. Helenius).

## 2- Etudes moléculaires sur les inhibiteurs des étapes précoces de l'infection.

Les commentaires qui suivent ne prétendent pas faire le point sur ce qui a été fait ou se fait avec les nombreux essais cliniques en cours à l'échelle nationale ou internationale (comme remdesivir, interféron alpha-2b, ribavirine, méthylprednisolone et azvudine...). Ils sont discutés dans la partie 2.

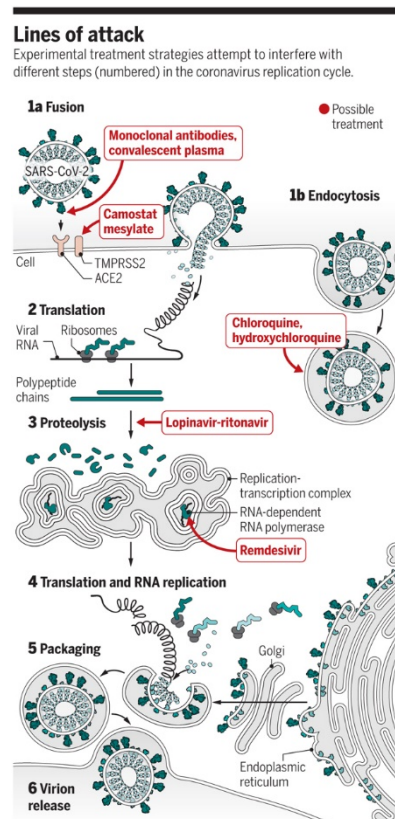


Figure : Voies d'entrée du virus et cibles des différents antiviraux (d'après Kai Kupferschmidt, Jon Cohen, *Science* 27 Mar 2020: Vol. 367, Issue 6485, pp. 1412-1413. DOI: 10.1126/science.367.6485.1412)

**La chloroquine** abondamment a été très médiatisée pendant cette épidémie. C'est une molécule utilisée comme depuis 1949 pour ses effets anti paludéens.

Deux mécanismes d'action sont décrits :

- a) **La chloroquine est une base faible** qui s'accumule passivement dans les compartiments acides des cellules (endosomes, lysosomes) et neutralise ainsi le pH des compartiments qui participent activement au tri et à la dégradation des molécules qui sont internalisées par différentes voies d'entrée dans la cellule (revue P. Cossart, A. Helenius, fig 1).

Les enzymes de l'appareil de Golgi qui effectuent les glycosylations sont actifs à pH acide. La sécrétion et les modifications post-traductionnelles des glycoprotéines sécrétées comme les « récepteurs » présents à la surface cellulaire et les glycoprotéines de l'enveloppe virale seront altérés. Les interactions entre les virus libérés lors de l'infection et les récepteurs pourront ainsi être modifiées et réduire l'infectiosité des particules virales.



De nombreuses recherches montrent l'effet de la chloroquine sur le transport intracellulaire de plusieurs familles de virus. Mais ces travaux ont été réalisés *in vitro*. Les résultats montrant l'efficacité de la chloroquine *in vivo* sont le plus souvent décevants et peu significatifs.

Une équipe chinoise a montré qu'*in vitro* le virus Corona 19 entre par la voie d'endocytose et que son transport intracellulaire est bloqué par l'hydroxychloroquine (Jia Liu et al).

***Si l'entrée du virus ne s'effectue pas par l'internalisation de la particule virale mais par une fusion de la membrane qui entoure la capsid virale avec la membrane cellulaire, le mode d'action de la chloroquine ne peut être expliqué par son action sur le pH intra vacuolaire.***

- b) **Anti-inflammatoire** : la chloroquine est utilisée pour traiter le lupus et des maladies auto-immunes. Le mécanisme moléculaire proposé est l'inhibition de la sécrétion d'interféron. Cette action pourrait être néfaste à la réponse immunitaire pendant l'infection.

### Autres drogues

#### **D'autres drogues pourraient-elles avoir un effet sur le transport intracellulaire du virus et ou sa libération extracellulaire ?**

Compte tenu de l'importance de l'importance du pH acide intra vacuolaire des compartiments qui participent à l'internalisation ou à l'exocytose lors d'une infection virale, **l'élévation du pH dans ces compartiments par des inhibiteurs spécifiques et non toxiques pourrait ralentir la multiplication virale.**

- Connait-on des inhibiteurs de l'ATPase vacuolaire Type V (lysosomes et endosomes) capables d'inhiber la pompe à protons responsable de l'acidification des compartiments intracellulaires par lesquels transitent les virus ?

- Connait-on des inhibiteurs des mécanismes de tri intracellulaires (systèmes ESCRT) ? Ces complexes multimoléculaires régulent les fissions et fusions membranaires des compartiments intracellulaires

Le **mesopremazole (Inexium)**, inhibiteur de la pompe à proton gastrique est aussi un inhibiteur de faible affinité pour l'ATPase vacuolaire et perturbe le tri intracellulaire des macromolécules et /ou sur la libération extracellulaire des virions (budding) via le système ESCRT ((J.Long et al S. Watanabe et al).

L'oméprazole est largement prescrit pour le traitement des reflux œsophagiens et pour l'ulcère de l'estomac. Il a très peu d'effets secondaires et de contre-indications. Toutefois les doses utilisées à des fins thérapeutiques chez l'homme sont plus faibles que celles nécessaires pour agir *in vitro* sur le pH des compartiments intracellulaires.

**La bafilomycine** (un antibiotique) est un excellent inhibiteur de l'ATPase vacuolaire très spécifique mais n'est pas utilisé en routine chez l'homme pour des raisons de toxicité, mais a montré son efficacité *in vitro* à faible dose sans toxicité cellulaire contre le virus de la grippe.



## Conclusions

**Les traitements efficaces sur les infections à HIV et VHC ont montré qu'un traitement anti viral doit combiner plusieurs molécules agissant à différentes étapes du cycle viral pour être efficace.**

**Ceci conduit à une trithérapie associant un agent anti viral agissant sur la réplication du génome viral (inhibiteurs des polymérase) et des inhibiteurs du transport intracellulaire du virus (entrée, transport et sortie du virus)**

**Les différentes étapes du transport des virus nécessitent souvent l'intervention de protéases produites par la cellule infectée ou codées par le génome viral justifie l'utilisation d'inhibiteurs de ces protéases. Les réactions inflammatoires étant le plus souvent associées à l'infection, un contrôle avisé de la réaction inflammatoire est indispensable sans toutefois bloquer la réponse immunitaire contre le virus.**

## 2. Pharmacologie et essais cliniques de candidats médicaments

De nombreuses molécules seules ou en association sont (ou seront) testées en clinique dans le cadre du traitement de l'infection à COVID-19.

A titre préliminaire, il convient de donner les informations suivantes sur la physiopathologie de l'infection : outre que de nombreuses personnes sont des porteurs sains asymptomatiques, la maladie débute généralement par des symptômes atypiques (toux sèche, fièvre plus ou moins importante). La majorité de ces patients (environ 85%) vont voir leur situation évoluer favorablement vers une guérison sans séquelles. Une petite proportion atteinte d'insuffisance respiratoire va être hospitalisée, éventuellement en réanimation à la suite de l'orage cytokinique que l'on peut assimiler à une réaction inflammatoire paradoxale. Ce rapide tableau clinique bien connu est utile pour comprendre la difficulté de l'approche pharmacologique. En effet, en début de maladie, on s'adresse à des patients avec une symptomatologie réduite et une chance de guérison spontanée élevée ; il n'est donc pas question de leur administrer des médicaments à activité antivirale présentant de possibles effets secondaires importants ou des risques d'interactions médicamenteuses. Beaucoup de patients âgés avec comorbidités sont souvent poly-médiqués. A l'inverse, pour les patients ayant évolué défavorablement et nécessitant une hospitalisation d'urgence, le traitement par antiviraux peut être trop tardif, d'autant plus que la charge virale est fortement réduite à ce moment de la maladie et que c'est la réaction inflammatoire secondaire et l'orage cytokinique qui doivent être maîtrisés.

### Quels traitements peuvent être envisagés ?

*1°/ Le Remdesivir (Gilead) : Il s'agit d'un analogue nucléosidique qui a une activité inhibitrice de la RNA polymérase et perturbe ainsi la production d'ARN viral. Il a une activité de type prodrogue phosphoramidique car il doit être métabolisé pour donner lieu à la forme pharmacologiquement active. *In vitro*, le Remdesivir a montré des résultats positifs avec un large spectre d'activité contre SARS-CoV et MERS-CoV ; il a aussi démontré une activité sur plusieurs modèles pré-cliniques *in vivo*. En clinique, le Remdesivir a été testé pour traiter l'infection par le virus Ebola mais avec une efficacité peu convaincante. Il est administré par voie intraveineuse. Deux essais de phase III sont en cours*



actuellement avec Remdesivir (Li and De Clercq, Nature Reviews Drug Discovery, On line 2020). Cette molécule fait l'objet d'un des bras de l'essai Discovery.

2°/ *L'association Lopinavir/Ritonavir (Abbott)* : A l'origine, ces antiviraux ont été développés pour lutter contre l'infection à HIV. Ils agissent comme inhibiteurs de protéases, ce qui empêche le virus de produire les protéines et enzymes nécessaires à sa réplication. Le Lopinavir est rapidement métabolisé par le cytochrome P450 et c'est la raison pour laquelle il est administré en association avec le ritonavir, une antiprotéase qui en diminue la métabolisation. Cela permet aussi de réduire les doses de Lopinavir qui n'est pas dépourvu d'effets secondaires (principalement digestifs et plus rarement neurologiques). A noter que cette association doit être utilisée avec prudence chez les patients ayant des pathologies cardiaques (arythmie, ischémie etc.). Des essais précliniques ont montré une activité antivirale significative mais les essais clinique réalisés à ce jour sur des patients infectés par SARS et MERS sont peu convaincants, bien que l'un d'eux, non randomisé et sur un très petit nombre de patients, ait montré une diminution de la charge virale (Chu et al., Thorax 2004;59:252–256. doi: 10.1136/thorax.2003.012658). L'association Lopinavir/Ritonavir a également fait l'objet d'un premier essai clinique réalisé sur 199 patients COVID-19 positifs (Bin Cao, New England Journal of Medicine 2020, DOI: 10.1056/NEJMoa2001282). Cette association fait l'objet d'un bras de l'essai Discovery.

3°/ *Chloroquine et Hydroxychloroquine* : Ces molécules augmentent le pH des endosomes tardifs et lysosomes (voir plus haut), ce qui empêche le virus de migrer vers le cytoplasme cellulaire et de se répliquer. Mais à côté de cet effet antiviral, ces molécules ont également une activité anti-inflammatoire, ce qui pourrait, à la fois, avoir un effet sur la tempête cytokinique des patients à un stade avancé de la maladie (effet positif) mais aussi, théoriquement, réduire la défense immunitaire en début de maladie (effet négatif). *In vitro*, il a été montré sur cellules Vero infectées par COVID-19 que la chloroquine et l'hydroxychloroquine réduisaient significativement la charge virale, bien qu'avec des mécanismes un peu différents (Liu et al. Cell Discovery (2020)6:16 Cell Discovery <https://doi.org/10.1038/s41421-020-0156-0>). Dès les années 1960, l'effet antiviral de la chloroquine (et de l'hydroxychloroquine) a été démontré *in vitro* dans de très nombreuses études (incl. SARS coronavirus). De même, de nombreuses études menées sur des modèles murins pré-cliniques ont mis en évidence des effets antiviraux significatifs (Zika, AH1N1, coronavirus OC43 etc.). En revanche, aucun essai clinique réalisé avant l'épidémie de COVID-19 sur des infections virales chroniques ou aiguës n'a permis de démontrer une activité antivirale (ie. chikungunya, HIV) (F. Touret and X. de Lamballerie Antiviral Research 177 (2020) 104762). Deux essais réalisés à Marseille par l'équipe Raoult (CHU Marseille), l'un sur 24 patients et l'autre sur environ 80 patients positifs à COVID-19 ont montré une diminution significative de la charge virale sur des prélèvements nasopharyngés lorsque l'hydroxychloroquine est administrée par voie orale en association avec l'Azithromycine, un antibiotique de la famille des macrolides. Un essai plus récent réalisé sur un plus grand nombre de patients (1061) conclut à un effet significatif de l'association Hydroxychloroquine et Azithromycine.

Ces essais restent, cependant, très controversés car ils n'obéissent pas aux critères internationaux de bonne pratique des essais cliniques. Les principales raisons en sont les suivantes : (i) des biais statistiques, (ii) l'inclusion de patients non randomisés, (iii) l'absence de bras placebo dans les trois essais et de patients contrôles dans deux des trois essais. De plus, une étude chinoise randomisée mais réalisée aussi sur un nombre restreint de patients (30 patients) n'a montré aucune différence entre le groupe traité à l'hydroxychloroquine et le groupe contrôle (CHEN Jun et al., JOURNAL OF ZHEJIANG UNIVERSITY, 2020. DOI:10.3785/j.issn.1008-9292.2020.03.03), alors qu'une autre étude (non encore peer-review) réalisée elle aussi sur des patients en début de maladie a confirmé l'effet antiviral de l'hydroxychloroquine (Chen Z et al. 2020, doi:



<https://doi.org/10.1101/2020.03.22.20040758>). Une publication plus récente encore soumise au NEJM semble montrer que les patients traités par HCQ ont une évolution moins favorable de la maladie que le groupe contrôle. Mais le nombre de patients testés reste modeste (Kaitis D et al, NEJM, Clinical Outcomes of Hydroxychloroquine in Hospitalized Patients with COVID-19: A QuasiRandomized Comparative Study, 2020).

D'autres questions se posent concernant l'essai de Marseille. Il s'adresse, en effet, à des patients infectés mais sans symptômes graves. Or, l'évaluation bénéfice-risque d'un tel traitement doit prendre en compte le fait que plus de 80% des patients guérissent spontanément et que le traitement n'a donc pas encore fait la preuve de son efficacité. En revanche, les risques sont connus. Bien que la chloroquine soit plus toxique que la dihydrochloroquine, les doses thérapeutiques d'hydroxychloroquine utilisées dans l'essai restent proches des doses toxiques. Et l'association des deux molécules (hydroxychloroquine + Azithromycine) qui chacune peut avoir des effets sur la conduction cardiaque, expose à des risques d'accident chez les personnes prédisposées (souvent âgées avec des comorbidités).

Malgré tout, les résultats obtenus par l'équipe Raoult méritent attention et c'est la raison pour laquelle un bras dihydrochloroquine a été rajouté à l'étude Discovery. Or, comme il a été dit plus haut, les patients décèdent en phase terminale à la suite d'un syndrome de détresse respiratoire aigu d'origine immuno-inflammatoire. Il est donc peu probable que l'association dihydrochloroquine - azithromycine puisse avoir une quelconque activité à ce stade de la maladie comme cela semble pourtant planifié dans l'étude Discovery.

La crise actuelle justifie d'initier rapidement des essais cliniques afin d'aboutir à un traitement efficace dans les meilleurs délais. C'est la raison pour laquelle, le choix de repositionner des médicaments qui ont déjà obtenus un AMM est une bonne stratégie car leurs effets secondaires sont bien renseignés de même que leur posologie. On peut aussi comprendre que certaines règles relatives aux essais cliniques puissent être adaptées à la situation, comme l'a suggéré l'OMS. Mais il est souhaitable d'attirer l'attention sur les effets pervers d'une médiatisation excessive avant validation des essais cliniques. Par exemple, de nombreuses pharmacies font actuellement face à des ruptures d'approvisionnement en hydroxychloroquine, à la suite de prescriptions de précaution. Cette situation est intolérable car elle peut aboutir à des pertes de chance pour les patients atteints de maladies auto-immunes chroniques (comme le lupus ou l'arthrite rhumatoïde) pour lesquels ce traitement peut revêtir un caractère vital. Les premières remontées de toxicités graves et avérées suite à de l'automédication débridée constituent un autre exemple.

*4°/ L'interféron* : L'interféron-beta est une glycoprotéine recombinante qui a montré des activités à la fois antivirales et immunorégulatrices. Prescrit dans la sclérose en plaques, son mécanisme d'action n'est pas encore clairement élucidé. L'interféron-beta a montré une activité antivirale contre MERS CoV dans un modèle de primate non humain (Woo Chan et al, J Infect Diseases, 2015 <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv392>). Il semble plus efficace en association avec des petites molécules antivirales. Il constitue, d'ailleurs, l'un des bras de de l'essai Discovery en association avec les antiprotéases Lopinavir/Ritonavir (voir ci-dessus). Certains doutent, cependant, de son efficacité dans le cas de patients en fin de maladie, en raison des très nombreux effets secondaires de cette molécule et de son activité dans le contexte d'un orage cytokinique reste encore mal connue.

*5°/ Divers antiinflammatoires* : Pour mémoire, diverses autres molécules ont été suggérées pour lutter contre le processus inflammatoire, comme les corticostéroïdes, le baricitinib ou encore le camosta



mesylate. Prescrit dans le traitement des pancréatites, ce dernier inhiberait, par ailleurs, une protéine impliquée dans l'infection (Kai Kupferschmidt and Jon Cohen, Science 2020 DOI: 10.1126/science.367.6485.1412 (6485), 1412-1413).

6°/ *Anticorps anti-cytokines* : Un essai contrôlé, randomisé et multicentrique utilisant le tocilizumab (bloquant les récepteurs IL-6) a été autorisé en Chine chez des patients sous tempête cytokinique et en dépression respiratoire (Puja Mehta et al., The Lancet, <https://doi.org/10.1016/>). Les résultats sont les suivants : 15 des 20 patients (75,0 %) ont réduit leur consommation d'oxygène et un patient n'a plus eu besoin d'oxygénothérapie. Les scanners ont montré que l'opacité des lésions pulmonaires avait été réduite chez 19 patients (90,5 %). Le pourcentage de lymphocytes dans le sang périphérique est revenu à la normale chez 52,6 % des patients (10/19) au cinquième jour après traitement. Enfin, le taux anormalement élevé de protéine C-réactive a diminué de façon significative chez 84,2 % des patients (16/19) (Xiaoling Xu et al., chinaXiv:202003.00026v1). A noter qu'un essai thérapeutique est conduit actuellement à Paris en utilisant des anticorps dirigés contre le récepteur de l'interleukine-6.

7°/ *M101 est une molécule d'hémoglobine extracellulaire* obtenue à partir de l'arénicole (un ver de mer) développé par la start-up Hemarina. Elle a une capacité de transport de l'oxygène 40 fois plus importante que l'hémoglobine humaine (FL Lemaire, J Cell Molec Med, 2020 <https://doi.org/10.1111/jcmm.14666>). A noter que ce transporteur d'oxygène est compatible avec tous les groupes sanguins. Déjà utilisée comme additif pour la conservation des greffons, M101 a fait l'objet d'une étude clinique en transplantation rénale (OxyOp) au CHRU de Brest et à la Pitié-Salpêtrière Paris. L'utilisation de cette molécule pour le traitement de patients atteints de COVID-19 pourrait être utile dans le cas de patients en dépression respiratoire. Des essais ponctuels semblent avoir été interrompus en raison d'une mortalité importante (100%) observée chez le porc.

*Cette fiche a été conçue et rédigée par la cellule de crise Coronavirus de l'Académie des sciences. Créée à l'initiative de Pascale Cossart, Secrétaire perpétuel de l'Académie, celle-ci réunit des académiciens experts du domaine : Jean-François Bach, Pierre Corvol, Dominique Costagliola, Pascale Cossart (coordinatrice), Patrick Couvreur, Olivier Faugeras, Daniel Louvard, Félix Rey, Philippe Sansonetti, Alain-Jacques Valleron.*

*Les informations qui figurent sur cette fiche ont été produites collectivement et sont susceptibles d'évoluer. Elles seront éventuellement réactualisées en fonction des avancées des connaissances scientifiques.*