



## Press release

Nuovi approcci molecolari al trattamento dell' infezione da SARS-CoV2 (COVID-19):

Ricercatori dell' Università Federico II di Napoli e dell' Università di Perugia identificano molecole endogene in grado di impedire con l'ingresso di SARS-COV2 nelle cellule umane.

I gruppi di ricerca del **Prof. Stefano Fiorucci** (Gastroenterologia del Dipartimento di Scienze Chirurgiche e Biomediche dell' Università degli Studi di Perugia) e del **Dr. Bruno Catalanotti** e della **Prof.ssa Angela Zampella** (entrambi appartenenti al Dipartimento di Farmacia dell' Università di Napoli, "Federico II") sono i co-autori della ricerca appena pubblicata in *pre-print* sul sito BioRxiv che riporta l'identificazione di nuovi target molecolari in grado di interferire con il meccanismo d'ingresso del SARS-CoV2 nelle cellule bersaglio.

Lo studio ha combinato approcci computazionali del gruppo del Dr. Bruno Catalanotti, di chimica sintetica, Prof.ssa Angela Zampella, e di biologia molecolare della Dr.ssa Adriana Carino del gruppo guidato dal prof. Stefano Fiorucci, ed ha coinvolto anche i gruppi della microbiologia e delle malattie infettive dell' Università di Perugia.

Lo studio è stato condotto attraverso un primo screening *in silico* (computazionale) di librerie di sostanze naturali e di farmaci approvati per uso clinico dalla *Food and Drug Administration* (FDA, USA) ed ha consentito l'identificazione di "tasche" funzionali nella struttura del *receptor binding domain* (RBD) della proteina Spike del virus SARS-CoV2. L'ulteriore caratterizzazione di tali strutture ha portato alla sorprendente scoperta dell'esistenza di sostanze endogene in grado di interferire nel legame dell' RBD di spike con il recettore ACE2 (*Angiotensin Converting Enzyme 2*).

Le molecole endogene descritte in questo lavoro sono di natura steroidea ed alcune di esse sono degli acidi biliari, ovvero sostanze prodotte nel fegato e nell' intestino dal metabolismo del colesterolo.

Gli acidi biliari primari (ossia quelli generati nel fegato) legano, anche se con bassa efficienza, l' RBD di Spike, mentre acidi biliari attualmente usati in terapia (acido ursodessocolico) e loro metaboliti inibiscono il legame tra RBD di Spike ed ACE2 di circa il 50%. Anche acidi biliari semisintetici possiedono la tale capacità.

Analogamente ad acidi biliari endogeni, sostanze naturali, quali alcuni triterpenoidi (acido beutulinico, acido oleanoico ed acido glicirizzico), sono in grado di legare l'RBD di Spike e sono moderatamente efficaci nel ridurre il legame con ACE2.

Infine farmaci e loro metaboliti a struttura steroidea (es. canenoato di potassio) interferiscono con il legame tra Spike ed ACE2.

Il lavoro è stato supportato da un grant di ricerca della società Bar Pharmaceuticals SrL alle due università ed i risultati della ricerca sono stati oggetto di una domanda di brevetto italiano.

La ricerca è stata pubblicata sul sito di *preprint* BioRxiv ed è reperibile al seguente **doi:** <https://doi.org/10.1101/2020.06.10.144964>

stata anche sottomessa per la pubblicazione:

Adriana Carino<sup>1,#</sup>, Federica Moraca<sup>2,3,#</sup>, Bianca Fiorillo<sup>2</sup>, Silvia Marchianò<sup>1</sup>, Valentina Sepe<sup>2</sup>, Michele Biagioli<sup>1</sup>, Claudia Finamore<sup>2</sup>, Silvia Bozza<sup>4</sup>, Daniela Francisci<sup>4</sup>, Eleonora Distrutti<sup>5</sup>, Bruno Catalanotti<sup>2\*</sup>, Angela Zampella<sup>2</sup> and Stefano Fiorucci<sup>1</sup>

Hijacking SARS-Cov-2/ACE2 receptor interaction by natural and semi-synthetic steroidal agents acting on functional pockets on receptor binding region.

<sup>1</sup>University of Perugia, Department of Surgical and Biomedical Sciences, Perugia, Italy

<sup>2</sup>University of Naples Federico II, Department of Pharmacy, Naples, Italy.

University "Magna Græcia" of Catanzaro, Campus Universitario "S. Venuta", Catanzaro, Italy.

Perugia, Università degli Studi di Perugia, Gastroenterologia, Dipartimento di Scienze e Chirurgiche e Biomediche



**Napoli, Università degli Studi, "Federico II", Dipartimento di Farmacia**



In merito alla ricerca appena pubblicata il prof. Stefano Fiorucci, la Prof.ssa Angela Zampella ed il Dr. Bruno Catalanotti a nome anche degli altri co-autori, hanno dichiarato quanto segue:

*“Da quando la malattia da coronavirus COVI-19 causata dal virus di SARS-CoV2 si è diffusa all’inizio del 2020 è stato fatto uno sforzo senza precedenti per identificare nuovi trattamenti in grado di arrestare la progressione di COVID-19. Questo sforzo ha coinvolto centri di ricerca in tutto il mondo consentendo di identificare rapidamente i meccanismi molecolari che consentono al virus entrare nelle cellule bersaglio dell’ospite e quindi replicarsi.*

*Gli studi fondamentali di vari gruppi di ricerca hanno mostrato che la mutazione della proteina Spike di SARS-CoV2 conferisce al virus affinità per una sequenza proteica complementare localizzata sulla regione carbossipeptidica del recettore umano ACE 2 (Angiotensin Converting Enzyme 2), un recettore che metabolizza l’angiotensina II per generare angiotensina 1-7. Il legame con il recettore è necessario affinché un altro enzima, TMPRSS2, separi la sequenza S1 da S2 di Spike. La porzione S2 della proteina una volta esposta aggancia la membrana cellulare dell’ospite dando inizio al meccanismo molecolare di ingresso del virus. In breve il virus SARS-Cov2 “pirata” un recettore umano.*

*Nell’indagare il meccanismo di azione del virus ci siamo accorti però che l’organismo è in grado di mettere in campo contromisure non immunologiche, ovvero molecole endogene non derivanti dalla risposta immunitaria, che legando alcune regioni localizzate nell’ RBD di Spike ne prevengono/riducono il legame con ACE2, impedendo l’ingresso del virus nelle cellule bersaglio. Queste molecole sono di natura steroidea e potrebbe*

*Se il virus funziona quindi come un “pirata” che utilizza un recettore umano per entrare in una cellula bersaglio, il nostro organismo possiede anche meccanismi difensivi in grado di ridurre la capacità del virus di legare il suo recettore target.*

*A nome di tutti gli autori ci preme sottolineare, che il risultato raggiunto è frutto di un lavoro durato alcuni mesi e che è proseguito in modo ininterrotto anche durante tutta la fase della pandemia di COVID-19 ed a cui hanno collaborato anche Dottorandi, post-doc e Medici in formazione delle due Università.*

*I risultati attuali sono una dimostrazione di come il sistema della ricerca universitaria biomedica in Italia sia in grado di produrre risultati utili e di dare soluzioni tempestive a problemi complessi.*

*Dal punto di vista della terapia di COVID-19, sembra probabile che l’approccio sviluppato non consentirà di trattare pazienti con quadri gravi di distress respiratorio, perché gli anticorpi del siero iperimmune ottenuto da pazienti guariti da COVID-19 sono molto più efficaci nell’inibire il legame tra Spike con ACE2 delle molecole da noi scoperte. Tuttavia, le sostanze studiate ed altre che speriamo di poter investigare a breve, sono in alcuni casi molecole endogene o farmaci già ampiamente utilizzati da molti anni, con un consolidato profilo di sicurezza, il che ne consentirebbe un uso immediato nei pazienti con COVID-19. Questo approccio, potrebbe quindi consentire di ridurre in modo drastico i tempi per l’esecuzione di trial clinici.*

*Lo studio è prodromico alla stesura di un protocollo terapeutico che verrà proposto all’attenzione di AIFA.*

*Vogliamo infine ringraziare la società BAR Pharmaceuticals Srl, che ci ha consentito di condurre questi studi in piena autonomia.”*

## A proposito di SARS-CoV2

Il virus SARS-CoV-2 (acronimo dall'inglese Severe Acute Respiratory Syndrome - Coronavirus - 2) è l'agente eziologico della malattia diffusasi dalla Città di Whuan (Cina) a partire dalla fine del 2019 e denominata COVID-19 (CORonaVirus Disease-2019).

Alla data odierna la pandemia è diffusa in 216 paesi con oltre 7 milioni di casi accertati e 407.159 morti confermate Fonte <https://www.who.int>).

L'impatto economico della pandemia di COVID-19 è enorme con ricadute severe di ordine economico e sociale. In Italia ci sono stati oltre 235.000 casi accertati con oltre 34.000 morti alla data del 10 giugno 2020.

Il virus responsabile di COVID-19, SARS-CoV2 è un ceppo virale della specie SARS-related coronavirus/SARS-CoV, facente parte del genere dei Betacoronavirus (famiglia Coronaviridae), ed è stato scoperto alla fine del 2019.

Si tratta del settimo coronavirus riconosciuto in grado di infettare esseri umani.

Il virus presenta una struttura molecolare analoga a quella degli altri SARS-CoV responsabili delle pandemie del 2002/3 e della Sindrome Respiratoria Medio-orientale (MERS) del 2013. SARS-CoV2 è un virus ad RNA di circa 100-150 nM di dimensioni che condivide una omologia di circa il 76% con SARS-CoV.

Il virus ha una morfologia sferica ma presenta sulla superficie del virione assemblato delle proiezioni conosciute come proteina Spike della lunghezza di circa 20 nm. Tre glicoproteine S unite compongono un trimero. La proteina Spike del virus SARS-CoV-2 possiede una sequenza proteica denominata receptor binding domain (RBD) lega una sequenza complementare sul sito carbossicatalitico del recettore ACE2 (*angiotensin converting enzyme 2*), espresso su numerose cellule dell'organismo umano ma altamente concentrato a livello delle cellule alveolari polmonari. Da ciò la localizzazione profonda dell'infezione nelle vie respiratorie e la sindrome respiratoria che ne segue.

**Avvertenze. Nessuna delle sostanze menzionate in questo studio è approvata per l'uso in pazienti affetti da COVID-19.**

