

Remdesivir, nitazoxanida e ivermectina na COVID-19

Claiver Renato Esprefico Junior¹, Maria Vitória do Nascimento Antonio¹, Carlos Henrique L Imperador¹, Chung Man Chin^{1,2}, Priscila Longhin Bosquesi^{1,2}

¹ CEPAM - Centro de Pesquisa Avançada em Medicina da UNILAGO, Faculdade de Medicina - UNILAGO, União das Faculdades dos Grandes Lagos, SJRP, SP, ²Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, Araraquara, SP. [autor correspondente. PLB:priscila.bosquesi@unesp.br]

RESUMO:

A COVID-19 é uma doença nova, descoberta em dezembro de 2019, provocada pelo vírus SARS-CoV-2, levando a mais de 400 mil mortes em 6 meses, no mundo inteiro. Até momento não há fármacos ou vacinas capazes de atenuar os sintomas da doença. Dessa forma, o reaproveitamento de substâncias é amplamente estudado como estratégia para determinar a eficiência de uma substância rapidamente. O remdesivir é, até 22 de junho de 2020, o único fármaco aprovado para o tratamento da COVID-19, em fase severa. Outros fármacos como a nitazoxanida e ivermectina possuem atividade antiviral *in vitro* contra SARS-CoV-2, sendo bastante discutido a utilização na COVID-19, no Brasil, devido à falta de comprovação científica dos benefícios do uso. Assim, este trabalho visa apresentar uma revisão dos mecanismos de ação e resultados obtidos sobre a eficácia antiviral destes fármacos no combate a COVID-19.

Palavras-chave: remdesivir, nitazoxanida, ivermectina, antivirais, COVID-19, SARS-CoV-2

ABSTRACT:

COVID-19 is a new disease, uncovered in December of 2019, caused by the virus SARS-CoV-2, which has led to more than 400 thousand deaths in six months, worldwide. Until now, there are no drugs or vaccines that are capable of alleviate the symptoms of the disease. In this regard, drug repurposing is widely studied as a strategy to rapidly determine the efficiency of a substance. The remdesivir is, until June 22 (2020), the only approved drug for the treatment of COVID-19 in severe phase. Other drugs such as nitazoxanide and ivermectine showed *in vitro* antiviral activity against SARS-CoV-2 and their use in COVID-19 have been widely discussed in Brazil because the lack of scientific beneficial proof of their use. Thus, this work aims to present a review on the proposed mechanisms and the results obtained about the efficacy of these drugs against COVID-19.

Key words: remdesivir, nitazoxanide, ivermectine, antiviral, COVID-19, SARS-CoV-2

INTRODUÇÃO

O remdesivir, produzido pela *Gilead Sciences* em 2009, foi desenvolvido como possível tratamento para a Hepatite C. Porém, não

apresentou eficácia farmacológica contra o vírus da hepatite. Contudo, outros estudos demonstraram a capacidade antiviral do fármaco em infecções virais pelo vírus

causador da Ebola e o vírus de Marburg (MARV). Testes realizados pela própria empresa desenvolvedora, houve a verificação de atividade antiviral *in vitro* contra filovírus, pneumovírus, paramixovírus e coronavírus.¹

Em 2015, Warren e colaboradores², realizaram testes pré-clínicos, em macacos Rhesus, nos quais foi demonstrado o potencial farmacológico da substância no tratamento do vírus Ebola. Esses dados levaram o centro de controle de doenças (CDC) e a empresa Gilead a produzir novos testes e considerar o fármaco como possível tratamento para a doença. No período de 2013 a 2016, no contexto da pandemia do vírus no continente africano, o fármaco foi utilizado em pacientes infectados obtendo resultados promissores. Utilizado até agosto de 2019, seu uso foi descontinuado para o tratamento desta doença, uma vez que os tratamentos com anticorpos monoclonais, a saber, mAb114 e REGN-EB3 se mostraram mais eficazes. Contudo, um perfil para o uso

farmacológico dessa substância foi estabelecido para a utilização futura.³

Com base nos estudos apresentados, o remdesivir foi considerado uma alternativa para o tratamento da COVID-19 com expectativas de que o fármaco apresente capacidade antiviral contra o SARS-CoV-2. Sua estrutura química (GS-5734) consiste em um éster carboxílico, análogo ao nucleosídeo adenosina, classificado como pró-fármaco metabolizado pelas células em nucleosídeo trifosfato ativo (trifosfato de GS-441524) (NTP), como demonstrado na figura 1⁴.

O fármaco atua como inibidor da RNA polimerase, impedindo a replicação viral. O coronavírus replica seu genoma pela utilização do complexo proteico RNA replicase (RdRp), e a inibição do complexo pelo remdesivir se dá pela competição de seu metabólito NTP com a adenosina trifosfato pela incorporação na cadeia de RNA, comprometendo o processo de síntese, uma vez que o metabólito causa a terminação do processo (Figura 2).

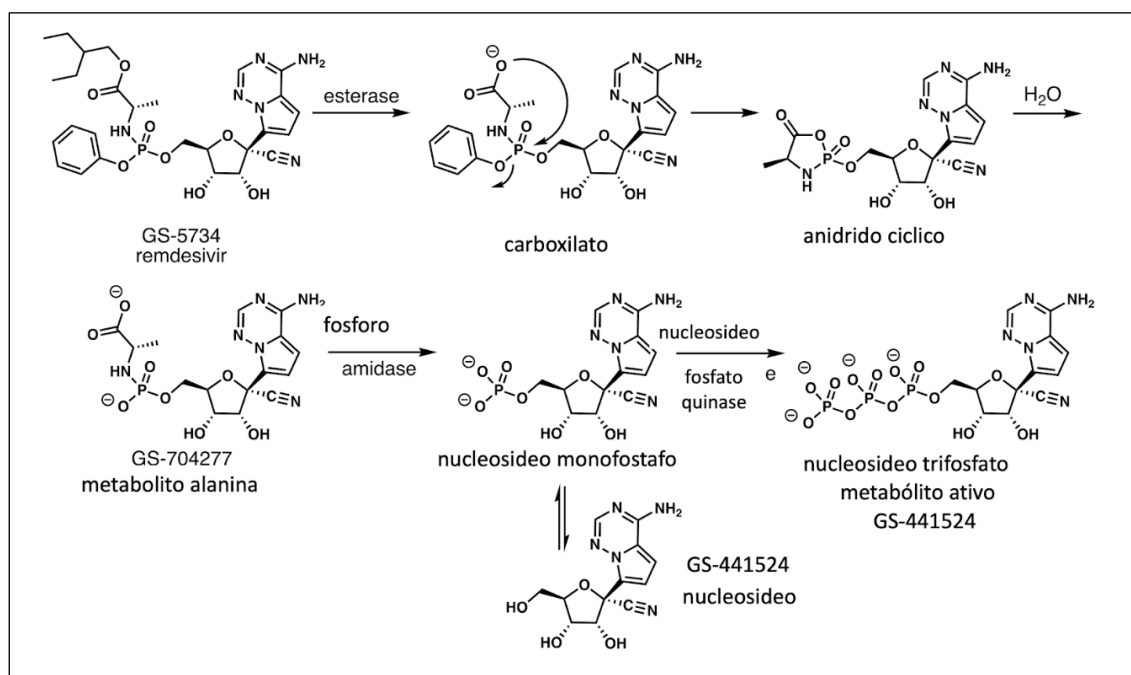


FIGURA 1. Metabolismo do remdesivir em nucleosídeos ativos.

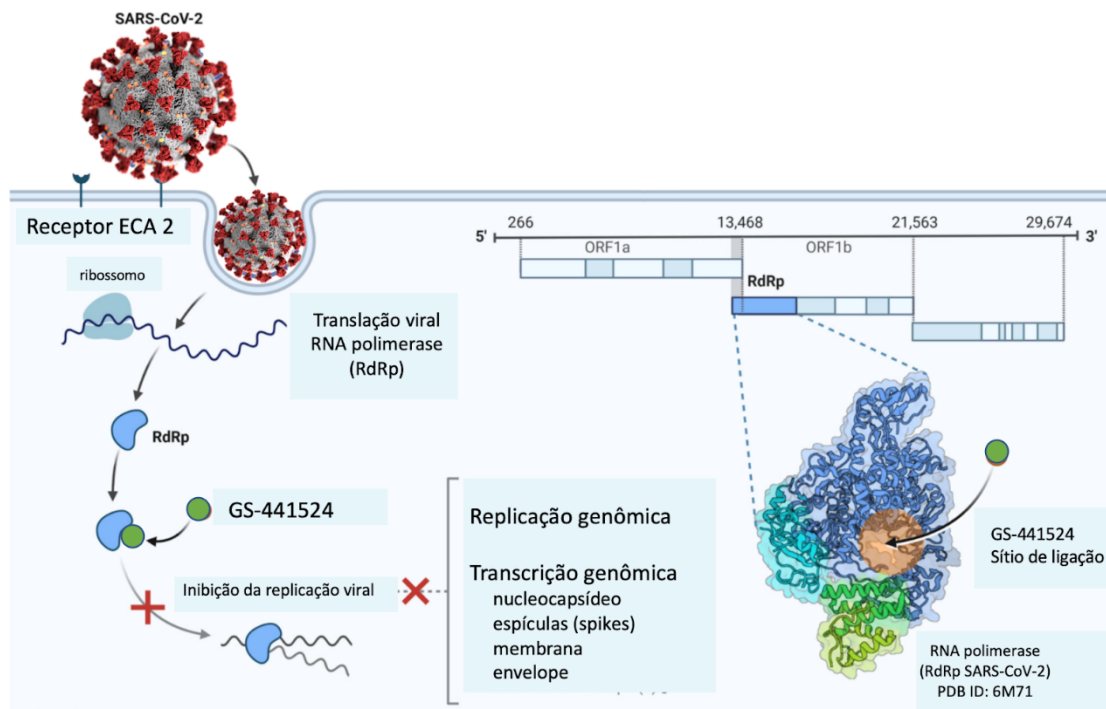


FIGURA 2. Mecanismos de ação anti-SARS-CoV-2 proposto para o remdesivir (adaptado de Mokobi, 2020).

O remdesivir também apresenta capacidade de evitar a detecção pelo processo de correção realizado pelo coronavírus, garantindo sua capacidade antiviral. Ademais, ainda há indícios de que o fármaco possua outros mecanismos ainda não descritos, permitindo ação antiviral mesmo frente a mutações ⁴.

Wang e colaboradores⁵, em 2020, demonstraram que a concentração efetiva do remdesivir contra o SARS-CoV-2 poderia ser alcançada *in vivo*, especialmente em humanos, onde dados preliminares já demonstraram que essa concentração é efetiva em linhagens celulares humanas em testes *in vitro*. Gordon e colaboradores⁶, em 2020, realizaram experimentos avaliando a bioquímica do fármaco e confirmaram dados descritos anteriormente, apontando a RNA polimerase como alvo específico da substância, corroborando as suposições levantadas por Amiriam e colaboradores ⁴, também em 2020, a cerca da competição de seus metabólitos com a adenosina trifosfato (ATP), explicando o

elevado potencial antiviral do remdesivir no tratamento de RNA vírus.

Ensaio clínico foram realizados para determinar a segurança e a farmacocinética do fármaco, nos quais foram utilizadas infusões intravenosas de 3 a 225 mg, sem quaisquer evidências de toxicidade hepática ou renal. A farmacocinética demonstrou-se linear dentro de um intervalo de doses e uma meia-vida de 35 horas, com elevações reversíveis nos níveis de aspartato aminotransferase e alanina transaminase. Atualmente, os ensaios são realizados com doses únicas de 200 mg com infusão diária posterior de 100 mg ⁷.

No estudo de Wang e colaboradores⁵, o resultado do ensaio multicêntrico, randomizado, duplo-cego e controlado, realizado com 237 participantes com quadros de COVID-19, nos quais não foram possíveis associar uma melhoria clínica estatisticamente significativa nos 158 pacientes tratados com remdesivir. Ademais, estudos realizados pelo *National Institute of Health* (NIH) tem demonstrado resultados divergentes, mostrando

um aumento de 31% na velocidade da recuperação dos doentes⁸.

Com base nos resultados apresentados, o FDA (*Food and Drug Administration*), agência norte-americana reguladora, aprovou no dia primeiro de maio de 2020, o uso emergencial do remdesivir para o tratamento da COVID-19, devido a redução do tempo de interação dos pacientes, evitando possíveis colapsos dos sistemas de saúde.

NITAZOXANIDA

Na busca de novos fármacos, entre os fármacos escolhidos para o reposicionamento de uso para ensaio contra o COVID-19, os antiparasitários, também chamados de vermífugos, a nitazoxanida (NTZ), conhecida como Annita[®], foi um dos medicamentos antiparasitários

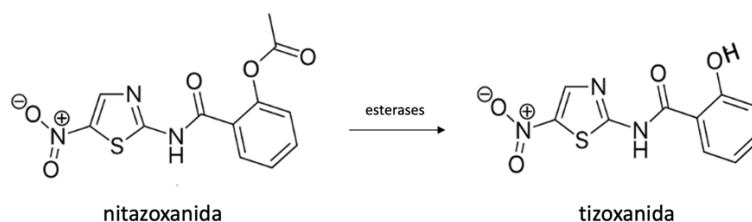


FIGURA 3. Biotransformação da nitazoxanida em tizoxanida, após reação de esterases hepáticas¹⁰

Após a ação a tizoxanida é conjugada com o ácido glicurônico no fígado e eliminado pelas fezes como tizoxanida e tizoxanida glucoronida e também excretado via urinária. A tizoxanida possui meia-vida no plasmática de aproximadamente 1,3 horas e cerca de 99,9% da tizoxanida circulante permanece ligada às proteínas plasmáticas.¹¹ Uma formulação de liberação controlada (comprimido de 300 mg) foi desenvolvido para fornecer concentrações plasmáticas apropriadas para o tratamento de infecções respiratórias virais¹².

Inicialmente, a NTZ foi desenvolvida como agente antiparasitário oral e foi estudada quanto à sua atividade contra protozoários e infecções helmínticas *in vitro* e *in vivo* em cães, ovelhas, gatos e camundongos¹³. Sendo licenciada nos EUA para tratamento de

discutido para a infecção contra o SARS-CoV-2.

A nitazoxanida é um pró-fármaco, anti-infeccioso tiazolida de primeira classe e de amplo espectro que atua inibindo a replicação de várias cepas do vírus Influenza, inclusive aquelas mais resistentes aos inibidores da neuraminidase, e bloqueando a maturação da hemaglutinina viral no nível pós-traducional.⁹ Estudos de culturas celulares mostraram que a nitazoxanida tem sua ação sinergicamente com os inibidores da neuraminidase, além de inibir a replicação de alguns vírus respiratórios como vírus sincicial respiratório, parainfluenza e coronavírus.¹⁰ A nitazoxanida, após a administração oral, é absorvida pelo trato intestinal e hidrolisada pela ação das esterases plasmáticas obtendo-se a tizoxanida, metabólito ativo da NTZ (figura 3).

infecções por *Cryptosporidium parvum* e *Giardia lamblia*, ambos causam diarreia¹⁴. Na América Latina e na Índia, é um fármaco indicado para infecções parasitárias intestinais¹².

Além da capacidade antiparasitária da nitazoxanida e de seu metabólito circulante ativo, a tizoxanida, são ativas *in vitro* contra bactérias gram-positivas e gram-negativas anaeróbicas obrigatórias e facultativas¹⁵.

Em relação às cepas de Influenza, foram realizados estudos *in vitro*. A tizoxanida inibiu a replicação de 16 cepas de Influenza A / H1N1, H3N2, H3N2v, H3N8, H5N9, H7N1 e uma cepa de Influenza B¹⁵. Nesse estudo não foi observado resistência para vírus Influenza coletados de pacientes tratados com

NTZ, e não foi observado efeito adverso na resposta imune humoral¹².

Haffizulla e colaboradores realizaram uma pesquisa clínica de fase 2/3 para tratamento de Influenza não complicada em adultos e adolescentes. No estudo, 624 pacientes foram escolhidos para o estudo controlado e randomizado, sendo que 212 receberam placebo duas vezes ao dia e 201 receberam 300 mg de NTZ duas vezes ao dia e 211 receberam NTZ 600 mg/dia. A duração média dos sintomas foi contabilizado por tempo, em horas. No grupo controle, os sintomas duraram 116,7 h enquanto que na dose de 300 mg/2 x dia foi de 109,1 h enquanto que pacientes que receberam 600 mg/dia, os sintomas duraram 95,5 h. Nesses estudos, os pesquisadores sugerem como mecanismo de ação contra as cepas do vírus Influenza, o bloqueio da maturação da hemaglutina viral no estágio pós traducional.¹² Esse fármaco não teve efeitos descritos contra outras glicoproteínas e neuraminidasas, que são alvos de zanamivir e de oseltamivir, ou contra a proteína M2, alvo de amantadina. Também não teve efeito na infectividade viral, adsorção ou entrada nas células alvo^{16, 9, 17}.

Outros estudos demonstraram que a NTZ potencializou a produção de interferons 1 (alfa e beta), que são produzidos pelos fibroblastos do hospedeiro, nas células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), que foram estimuladas pelo Influenza, *in vitro*¹⁸.

Com a descoberta da atividade antiviral de amplo espectro da NTZ, os laboratórios estão investindo na ampla atividade desse medicamento para produzir uma nova classe de fármacos antivirais buscando a inclusão da nitazoxanida e de outros tiazolidínicos¹⁵.

Com o surgimento de novas infecções virais respiratórias, como é o caso do MERS e SARS, o estudo da atividade da nitazoxanida em SARS-CoV-2 teve ênfase novamente buscando o desenvolvimento de estudos em modelos animais e ensaios clínicos. Já estão em andamento alguns estudos pré-clínicos a fim de avaliar a eficácia do fármaco contra o COVID-19. No mundo, são 14 ensaios

clínicos envolvendo NTZ, sozinho ou em combinação com outros fármacos, sendo conduzidos neste momento (28/06/2020)¹⁹.

IVERMECTINA

Assim como a nitazoxanida, a ivermectina é outro antiparasitário que tem seu uso discutido para o tratamento da COVID-19.

A ivermectina é um fármaco (figura 4) muito usado em humanos para o tratamento de infecções por nematóides, como oncocercose, além de piolhos e sarnas.²⁰ É um antiparasitário de amplo espectro que nos últimos anos demonstrou ter uma atividade antiviral contra vários vírus *in vitro*.^{20; 21; 22; 23} Esse fármaco se encontra amplamente disponível devido ser incluído na lista modelo da OMS de medicamentos essenciais.

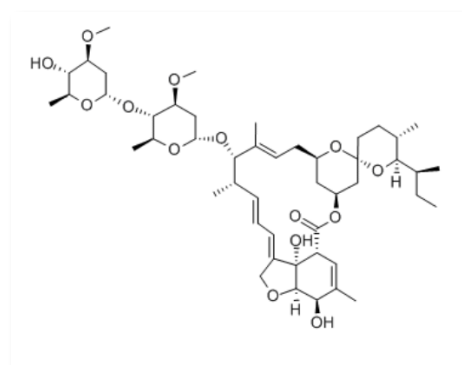


FIGURA 4. Estrutura química da ivermectina

De início, a ivermectina foi identificada como um inibidor da interação entre a proteína integrase do vírus da imunodeficiência humana-1 (HIV-1) e o heterodímero alfa / beta1 da importina responsável pela importação nuclear de proteína integrase.²⁴ Outras ações da ivermectina já foram relatadas, como a inibição da importação nuclear de hospedeiro e de proteínas virais.^{25; 26}

Com a finalidade de testar a atividade antiviral da ivermectina, um grupo realizou a infecção de células Vero / hSLAM com SARS-CoV-2. Como resultado, depois de 48 h houve uma redução de aproximadamente

5.000 vezes o RNA viral em amostras tratadas com ivermectina em comparação com as amostras controle. Isso indicou que o tratamento com esse fármaco possibilitou a perda efetiva de quase todo o material viral (cerca de 99,98%) em 48h. Não foi observado toxicidade da ivermectina durante o teste.²³

Os resultados desse estudo indicaram que a ivermectina possui uma ação antiviral contra o isolado clínico SARS-CoV-2 *in vitro*, com uma dose única capaz de controlar a replicação viral de 24 a 48h, o que gerou uma grande expectativa.²³

Assim, Rajter e colaboradores fizeram uma pesquisa não randomizado em hospitalizados em quatro hospitais da *Broward Health* no sul da Flórida, com SARS-CoV-2 confirmado. O estudo contou com 280 participantes, idade média de 59,6 anos, 45,4% do sexo masculino. Desse grupo 173 foram tratados com ivermectina e 107 foram tratados com cuidados habituais (não há clareza sobre quais estes cuidados). Os pacientes foram classificados em dois grupos de tratamento tendo como base se receberam pelo menos uma dose de ivermectina durante a hospitalização. Como resultado, o grupo da ivermectina teve uma menor mortalidade em fase severa, inclusive nos 75 pacientes com doença pulmonar grave tratados com ivermectina, porém não houve diferença significativa nas taxas de extubação bem-sucedidas. Entretanto, após análise detalhada do trabalho, o mesmo possui vários vieses, sendo o primeiro, o tratamento concomitante com hidroxicloroquina e azitromicina; segundo, não há descrição clara dos grupos controles. Não há clareza, também, quanto às comorbidades dos pacientes (controle e tratados), entre vários outros aspectos que comprometem a qualidade científica. Ressaltamos que este trabalho encontra-se em fase de publicação e análise por pares²⁷, publicado apenas em um site sem cunho científico, porém passível de visualização.

De acordo com a *Clinical Trials*, há 31 estudos clínicos sendo conduzidos neste momento (28/06/2020), no mundo, envolvendo o uso de ivermectina

isoladamente ou em associação, contra COVID-19.

CONCLUSÃO

O fármaco remdesivir mostrou ser eficaz em diminuir a permanência dos pacientes com COVI-19 nos hospitais, gerando grande expectativa para diminuição da mortalidade na fase severa da doença. Outros compostos como nitazoxanida e ivermectina, apesar dos efeitos amplos antivirais, até o momento, mostrou atividade contra o SARS-CoV-2 apenas *in vitro*. Um único trabalho, com ivermectina em pacientes encontra-se ainda em fase de avaliação, mostrando eficácia na diminuição de mortalidade, nos casos severos da doença, porém de qualidade científica muito baixa, o que compromete os resultados obtidos. Assim, até o momento, não há nenhum fármaco eficaz para o tratamento da COVID-19.

REFERÊNCIAS

1. Lo MK, Jordan R, Arvey A, Sudhamsu J, Shrivastava-Ranjan P, Hotard AL, et al. GS-5734 and its parent nucleoside analog inhibit Filo-, Pneumo-, and Paramyxoviruses. *Sci Rep.* 06 de 2017;7:43395.
2. Warren T, Jordan R, Lo M, Soloveva V, Ray A, Bannister R, et al. Nucleotide Prodrug GS-5734 Is a Broad-Spectrum Filovirus Inhibitor That Provides Complete Therapeutic Protection Against the Development of Ebola Virus Disease (EVD) in Infected Non-human Primates. *Open Forum Infect Dis* [Internet]. 1º de dezembro de 2015 [citado 1º de julho de 2020];2(suppl_1). Disponível em: https://academic.oup.com/ofid/article/2/suppl_1/LB-2/2633814
3. Warren TK, Jordan R, Lo MK, Ray AS, Mackman RL, Soloveva V, et al. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature.* 17 de março de 2016;531(7594):381–5.
4. Amirian ES, Levy JK. Current knowledge about the antivirals remdesivir (GS-5734) and GS-441524 as therapeutic options for coronaviruses. *One Health.* junho de 2020;9:100128.
5. Wang Y, Zhang D, Du G, Du R, Zhao J, Jin Y, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet.* 16 de 2020;395(10236):1569–78.
6. Gordon CJ, Tehesnokov EP, Feng JY, Porter DP, Götte M. The antiviral compound remdesivir potently

- inhibits RNA-dependent RNA polymerase from Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J Biol Chem.* 10 de 2020;295(15):4773–9.
7. Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA.* 13 de abril de 2020.
 8. Adaptive COVID-19 Treatment Trial (ACTT) - Tabular View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [citado 1º de julho de 2020]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT04280705>
 9. Rossignol JF, La Frazia S, Chiappa L, Ciucci A, Santoro MG. Thiazolidines, a New Class of Anti-influenza Molecules Targeting Viral Hemagglutinin at the Post-translational Level. *J Biol Chem.* 23 de outubro de 2009;284(43):29798–808.
 10. Abstract: Nitazoxanide, a Novel Potential Anti-Influenza Drug, Acting in Synergism with Neuraminidase Inhibitors (49th Annual Meeting) [Internet]. [citado 1º de julho de 2020]. Disponível em: <https://idsa.confex.com/idsa/2011/webprogram/Paper31075.html>
 11. Broekhuysen J, Stockis A, Lins RL, De Graeve J, Rossignol JF. Nitazoxanide: pharmacokinetics and metabolism in man. *Int J Clin Pharmacol Ther.* agosto de 2000;38(8):387–94.
 12. Haffizulla J, Hartman A, Hoppers M, Resnick H, Samudrala S, Ginocchio C, et al. Effect of nitazoxanide in adults and adolescents with acute uncomplicated Influenza: a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2b/3 trial. *The Lancet Infectious Diseases.* 1º de julho de 2014;14(7):609–18.
 13. Euzeby J, Tep SP, Rossignol JF. Experimentation des propriétés anthelminthiques de la nitazoxanida chez le chien, le chat et les ovins. *Revue de Médecine Vétérinaire,* 1980.
 14. Rossignol JF, Kabil SM, El-Gohary Y, Elfert A, Keeffe EB. Clinical trial: randomized, double-blind, placebo-controlled study of nitazoxanide monotherapy for the treatment of patients with chronic hepatitis C genotype 4. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* 2008;28(5):574–80.
 15. Rossignol J-F. Nitazoxanide: A first-in-class broad-spectrum antiviral agent. *Antiviral Research.* 1º de outubro de 2014;110:94–103.
 16. La Frazia S, Ciucci A, Arnoldi F, Coira M, Gianferretti P, Angelini M, et al. Thiazolidines, a new class of antiviral agents effective against rotavirus infection, target viral morphogenesis, inhibiting viroplasm formation. *J Virol.* outubro de 2013;87(20):11096–106.
 17. Shi Z, Wei J, Deng X, Li S, Qiu Y, Shao D, et al. Nitazoxanide inhibits the replication of Japanese encephalitis virus in cultured cells and in a mouse model. *Virol J.* 23 de janeiro de 2014;11:10.
 18. The anti-infective nitazoxanide shows strong immunomodulating effects [abstract] | Request PDF [Internet]. [citado 1º de julho de 2020]. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/285843962_The_anti-infective_nitazoxanide_shows_strong_immunomodulating_effects_abstract.
 19. ClinicalTrials.gov [Internet]. [citado 28 de junho de 2020]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/>.
 20. Wagstaff KM, Sivakumaran H, Heaton SM, Harrich D, Jans DA. Ivermectin is a specific inhibitor of importin α/β -mediated nuclear import able to inhibit replication of HIV-1 and dengue virus. *Biochem J.* 1º de maio de 2012;443(Pt 3):851–6.
 21. Götz V, Magar L, Dornfeld D, Giese S, Pohlmann A, Höper D, et al. Influenza A viruses escape from MxA restriction at the expense of efficient nuclear vRNP import. *Sci Rep* [Internet]. 18 de março de 2016 [citado 1º de julho de 2020];6. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4796820/>
 22. Lundberg L, Pinkham C, Baer A, Amaya M, Narayanan A, Wagstaff KM, et al. Nuclear import and export inhibitors alter capsid protein distribution in mammalian cells and reduce Venezuelan Equine Encephalitis Virus replication. *Antiviral Research.* 1º de dezembro de 2013;100(3):662–72.
 23. Tay MYF, Fraser JE, Chan WKK, Moreland NJ, Rathore AP, Wang C, et al. Nuclear localization of dengue virus (DENV) 1–4 non-structural protein 5; protection against all 4 DENV serotypes by the inhibitor Ivermectin. *Antiviral Research.* 1º de setembro de 2013;99(3):301–6.
 24. Caly L, Druce JD, Catton MG, Jans DA, Wagstaff KM. The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Res.* junho de 2020;178:104787.
 25. Kosyna FK, Nagel M, Kluxen L, Kraushaar K, Depping R. The importin α/β -specific inhibitor Ivermectin affects HIF-dependent hypoxia response pathways. *Biol Chem.* dezembro de 2015;396(12):1357–67.
 26. van der Watt PJ, Chi A, Stelma T, Stowell C, Strydom E, Carden S, et al. Targeting the Nuclear Import Receptor Kpn β 1 as an Anticancer Therapeutic. *Mol Cancer Ther.* 2016;15(4):560–73.
 27. Rajter JC, Sherman M, Fatteh N, Vogel F, Sacks J, Rajter J-J. ICON (Ivermectin in COvid Nineteen) study: Use of Ivermectin is Associated with Lower Mortality in Hospitalized Patients with COVID19 [Internet]. *Public and Global Health;* 2020 jun [citado 1º de julho de 2020]. Disponível em: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.06.06.20124461>