

## Réunion du groupe AvATher

### Recommandations du groupe AvATher à la suite de la réunion avec Atriva Therapeutics GmbH (Allemagne) sur le zapnometinib (ATR-002)

18 Septembre 2025

#### A. Contexte

Les données de surveillance de l'OMS montrent qu'en janvier 2025, les activités grippales mondiales restent élevées, en particulier dans l'hémisphère nord. La circulation des souches saisonnières de la grippe A(H1N1)pdm09 et A(H3N2) continue d'augmenter en Europe, en Amérique du Nord et dans certaines régions d'Afrique et d'Asie. Parallèlement, la pandémie actuelle de grippe aviaire, avec des preuves croissantes de transmission interspèces aux mammifères, soulève des inquiétudes quant à l'émergence potentielle de nouvelles souches pandémiques réassorties chez l'homme.

Dans ce contexte, le groupe de travail AvATher de l'ANRS MIE a priorisé l'identification et l'évaluation de candidats antiviraux prometteurs pour la grippe. Les options thérapeutiques actuelles, telles que les inhibiteurs de la neuraminidase (par exemple, l'oseltamivir) et les inhibiteurs de l'ARN polymérase (par exemple, le baloxavir), restent les piliers du traitement de la grippe, mais leur efficacité est limitée par le risque de résistance virale et leur efficacité clinique variable, en particulier dans les cas graves. De même, la protection modeste offerte par les vaccins antigrippaux existants souligne la nécessité de stratégies thérapeutiques complémentaires.

Dans ce contexte, le groupe AvATher a invité **Atriva Therapeutics GmbH (Allemagne)** à présenter son candidat **zapnometinib (ATR-002)**, un antiviral dirigé contre l'hôte actuellement en cours de développement clinique. Son mécanisme d'action novateur ciblant la voie de signalisation Raf/MEK/ERK, associé à des preuves d'activité antivirale et immunomodulatrice, positionne le zapnometinib comme une option prometteuse pour une évaluation plus approfondie, en particulier dans le cadre de la grippe grave.

#### B. Zapnometinib (ATR-002) : Résumé du mécanisme d'action et des caractéristiques principales<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup> Schreiber A, Viemann D, Schöning J, Schloer S, Mecate Zambrano A, Brunotte L, Faist A, Schöfbänker M, Hrinčius E, Hoffmann H, Hoffmann M, Pöhlmann S, Rescher U, Planz O, Ludwig S. The MEK1/2-inhibitor ATR-002 efficiently blocks SARS-CoV-2 propagation and alleviates pro-inflammatory cytokine/chemokine responses. Cell Mol Life Sci. 2022 Jan 10;79(1):65. doi: 10.1007/s00018-021-04085-1.

<sup>2</sup> Laure M, Hamza H, Koch-Heier J, Quernheim M, Müller C, Schreiber A, Müller G, Pleschka S, Ludwig S, Planz O. Antiviral efficacy against influenza virus and pharmacokinetic analysis of a novel MEK-inhibitor, ATR-002, in cell culture and in the mouse model. Antiviral Res. 2020 Jun;178:104806. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.

PariSanté Campus | 2 rue d'Oradour-sur-Glane | 75015 Paris  
Tél. : +33 (0)1 53 94 60 00

L'ATR-002 est un inhibiteur des isoformes de kinase MEK1 et MEK2. Il est dérivé de l'inhibiteur MEK CI-1040, une petite molécule qui inhibe les kinases à double spécificité MEK1 et MEK2. Ce médicament a été initialement développé par Pfizer il y a environ 25 ans. L'ATR-002 a été conçu en exploitant le fait que de nombreux virus détournent la voie de signalisation Raf/MEK/ERK pour assurer leur réplication.

Dans le cas d'une infection par le virus de la grippe, cette voie est activée en deux phases, la phase tardive étant la plus importante sur le plan fonctionnel, car elle entraîne l'exportation nucléaire des complexes ribonucléoprotéiques contenant le génome viral (vRNP) vers le cytoplasme. L'inhibition de cette voie par des inhibiteurs spécifiques de MEK1/2 empêche cette exportation. Il en résulte une rétention nucléaire des vRNP, une propagation virale altérée et une activité antivirale globale.

Dans le cas du SARS-CoV-2, qui ne nécessite pas de phase nucléaire pour se répliquer, l'ATR-002 inhibe le transfert du matériel viral vers l'appareil ER/Golgi, ce qui perturbe l'assemblage viral (résultats non publiés et non évalués par des pairs).

La voie de signalisation Raf/MEK/ERK est également impliquée dans la régulation immunitaire. Son inhibition interfère donc non seulement avec la réplication virale, mais contribue également à rétablir l'équilibre immunitaire. Il en résulte un double effet : (1) un effet antiviral direct par l'inhibition de la propagation virale en ciblant les kinases des cellules hôtes, et (2) un effet immunomodulateur en atténuant les processus pathologiques des réponses immunitaires innées et adaptatives. Le ciblage des voies des cellules hôtes réduit encore le risque de résistance virale et favorise une large applicabilité. De plus, les premières données sur la sécurité et la pharmacocinétique soutiennent une transposition clinique favorable.

## C. Évaluation préclinique du Zapnometinib (ATR-002)

### I. Grippe

- **Activité antivirale in vitro<sup>2</sup>**

L'ATR-002 réduit les titres viraux des souches pandémiques H1N1pdm09 et saisonnières H3N2 de manière dose-dépendante. À une concentration de **10 µM**, les titres viraux ont diminué d'environ 50% pour la souche H1N1pdm09 et d'environ 87 % pour la souche H3N2, tandis qu'une concentration de 1 µM s'est avérée inefficace. Par rapport au CI-1040, une concentration presque **10 fois plus élevée d'ATR-002** était nécessaire pour obtenir une réduction similaire. Les valeurs EC50 variaient entre **4,2 et 6,4 µM** pour les souches H1N1pdm09, H3N2 et influenza B/Lee/40, avec des valeurs CC50 de **271,8 µM (A549)** et **188,6 µM (MDCK II)**, ce qui a donné des indices de sélectivité de 42,8, 60,4 et 45,0, respectivement. Au niveau moléculaire, l'ATR-002 a bloqué l'exportation nucléaire des vRNP virales, provoquant leur rétention dans le noyau.

Au-delà des souches pandémiques H1N1pdm09 et saisonnières H3N2, le zapnometinib a été testé contre un large panel de virus grippaux. Pour la grippe A, il s'agissait notamment des souches H1N1 (y compris les variants résistants à l'oseltamivir et au

baloxavir), des souches H3N2 (y compris les variants résistants au baloxavir), ainsi que des virus aviaires H5N1 et H7N9. Pour la grippe B, l'efficacité a été démontrée contre les souches B/Lee, B/Münster/341-200/18 et B/Münster/356-200/18.

- **Pharmacocinétique et biodisponibilité (souris)**

Des études pharmacocinétiques menées chez des souris NMRI ont démontré que l'ATR-002 a obtenu une exposition plasmatique nettement plus élevée que le CI-1040 à la fois par voie intraveineuse (AUC 860 vs 223  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ ) et par voie orale (AUC 1954 vs 156  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ ). Contrairement au CI-1040, l'ATR-002 est resté détectable après administration orale tout au long de la période d'observation, indiquant une biodisponibilité améliorée.

- **Efficacité in vivo (modèle murin létal H1N1pdm09)<sup>2</sup>**

Des souris C57BL/6 ont été infectées avec une dose létale de H1N1pdm09 et traitées par voie orale avec ATR-002 (8,4 à 75 mg/kg/jour, trois fois par jour) ou CI-1040 (25 à 450 mg/kg/jour, trois fois par jour). Les titres viraux pulmonaires ont été mesurés 24 heures après l'infection. L'ATR-002 a diminué de manière significative les titres viraux pulmonaires à des doses plus faibles que le CI-1040. Alors que le CI-1040 nécessitait 450 mg/kg/jour pour obtenir un effet mesurable, l'ATR-002 était efficace à des doses de 25 et 75 mg/kg/jour.

Dans les études de survie, les souris ont reçu 50 mg/kg/jour d'ATR-002 par voie orale à 24, 48 ou 72 heures après l'infection. **Les taux de survie étaient de 75 % (6/8) à 24 heures, 37,5 % (3/8) à 48 heures et 25 % (2/8) à 72 heures**, résultats statistiquement significatifs par rapport aux témoins. Les animaux survivants ont initialement perdu du poids et développé des symptômes légers à modérés, mais ils se sont complètement rétablis au bout de 14 jours, avec une résolution complète de la maladie et une reprise de poids. L'ATR-002 a été bien toléré chez les souris non infectées, ne provoquant qu'une perte de poids transitoire mineure (< 5 %).

## II. SARS-Cov-2

- **Activité antivirale in vitro<sup>3</sup>**

Le zapnométinib a inhibé la propagation du SARS-CoV-2 omicron et d'autres coronavirus humains pathogènes alpha (HCoV-OC43, HCoV-229E, SARS-CoV-1) dans les tests Virospot et de réduction du rendement viral. Les valeurs EC50 variaient de 16,1  $\mu\text{M}$  (HCoV-OC43) à 37,9  $\mu\text{M}$  (SARS-CoV-2 omicron), sans cytotoxicité observée. Ces résultats prolongent les résultats antérieurs montrant l'efficacité contre les variants alpha, bêta et delta du SARS-CoV-2, confirmant son large potentiel antiviral et sa résistance contre les variants émergents<sup>4</sup>.

<sup>3</sup> Füll Yvonne , Schüssele Lara M. , Hamza Hazem , Hoffmann Helen , Bauer Martin , Stenglein Stephan , Pötz Oliver , Steinhilber Andreas , Anselm Viktoria , Delany Mark W. , Van den Brand Judith M. A. , Van Amerongen Geert , De Waal Leon , Pleschka Stephan , Ludwig Stephan , Planz Oliver. Antiviral and immunomodulatory effect of zapnometinib in animal models and hospitalized COVID-19 patients. Front. Immunol., 22 September 2025, Sec. Viral Immunology, Volume 16 - 2025, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1631721>

<sup>4</sup> Schreiber A, Viemann D, Schöning J, Schloer S, Mecate Zambrano A, Brunotte L, Faist A, Schöfbänker M, Hrincius E, Hoffmann H, Hoffmann M, Pöhlmann S, Rescher U, Planz O, Ludwig S. The MEK1/2-inhibitor ATR-002 efficiently blocks

- **Pharmacocinétique du zapnometinib chez les hamsters<sup>3</sup>**

La pharmacocinétique du zapnometinib a été évaluée chez des hamsters syriens afin de déterminer la posologie pour les études d'efficacité in vivo et d'évaluer la tolérance. Les animaux ont reçu des doses orales uniques de 15, 30 ou 60 mg/kg, et des échantillons sanguins ont été prélevés jusqu'à 24 heures après l'administration. Les courbes de concentration du sérum en fonction du temps ont montré un profil monophasique avec des augmentations proportionnelles à la dose de l'exposition. Le temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale (Tmax) était de 2 heures à 15 et 30 mg/kg et de 4 heures à 60 mg/kg, tandis que la demi-vie était constante dans tous les groupes, à 2-3 heures. À la dose la plus élevée, les concentrations plasmatiques à 24 heures ont atteint 5,32 µg/mL (13 µM), soit un niveau inférieur aux 10 µg/mL (24,4 µM) requis pour une inhibition de 50% de la MEK. Toutes les doses ont été bien tolérées, sans effet indésirable. Au vu de ces résultats, un schéma posologique de 100 mg/kg de dose de charge suivie de 75 mg/kg par jour a été choisi pour les tests d'efficacité, correspondant au schéma posologique de phase 2 chez l'homme et garantissant des concentrations de sérum durables supérieures au seuil d'inhibition de la MEK. L'exposition pulmonaire chez les hamsters n'a pas été étudiée.

- **Efficacité in vivo du zapnometinib chez des hamsters infectés par le SARS-CoV-2<sup>3</sup>**

Une étude in vivo menée sur des hamsters syriens infectés par le SARS-CoV-2 a évalué l'efficacité du zapnometinib administré par voie orale à une dose initiale de 100 mg/kg suivie d'une dose quotidienne de 75 mg/kg, à partir de +4 h ou +24 h après l'infection. Le traitement a été bien toléré et a entraîné une réduction significative des titres viraux dans les prélèvements buccaux et nasaux, en particulier lorsqu'il était administré à un stade précoce, tandis que les traitements tardifs ont permis d'obtenir de meilleures améliorations de la pathologie pulmonaire. L'histopathologie a confirmé une réduction de l'inflammation, de l'œdème, de l'hémorragie et de l'hyperplasie pneumocytaire chez les animaux traités. Dans l'ensemble, le zapnometinib a montré une activité antivirale et des effets protecteurs dans le modèle hamster, le moment du traitement influençant les résultats.

**Conclusion :** Bien que le zapnometinib présente une efficacité encourageante, certaines limites des antiviraux ciblant l'hôte doivent être prises en compte. Dans le développement des médicaments antiviraux, les valeurs **IC<sub>50</sub>** et **CC<sub>50</sub>** **sont souvent utilisées comme références de référence**; cependant, ces paramètres ne sont pas entièrement comparables entre les différentes classes de médicaments. Les **antiviraux à action directe** atteignent généralement des valeurs **IC<sub>50</sub>** nanomolaires en ciblant les protéines virales, ce qui se traduit par des indices de sélectivité élevés. En revanche, les **médicaments ciblant l'hôte** comme le zapnometinib agissent sur les voies cellulaires, où les concentrations efficaces se situent généralement dans la gamme micromolaire. Cette différence n'implique pas un potentiel thérapeutique moindre,

mais reflète plutôt un mécanisme d'action fondamentalement différent. Ainsi, les valeurs IC<sub>50</sub> et CC<sub>50</sub> ne doivent pas être les seuls déterminants de la puissance du composé, car les approches ciblant l'hôte peuvent offrir **des avantages uniques en matière de gestion de la résistance et d'activité à large spectre**, constituant ainsi une stratégie complémentaire aux antiviraux à action directe. À ce jour, les données précliniques démontrent que le zapnométinib présente une efficacité antivirale non seulement contre les virus de la grippe A et B, mais aussi contre toute une série d'autres agents pathogènes, notamment le hantavirus, le VRS, le hMPV, le SARS-CoV-2, le SARS-CoV-1, le MERS-CoV, les virus de la dengue de types 1 à 4, le virus du Nil occidental, le virus Zika et le virus de la fièvre jaune.

#### **D. Modulation de la réponse immunitaire dans des modèles expérimentaux**

Au-delà de ses effets antiviraux directs, le zapnométinib module également la réponse immunitaire de l'hôte. Il agit à deux niveaux : la régulation des cytokines/chimiokines et l'immunité antivirale cellulaire. Dans les cas graves de grippe et de COVID-19, la production excessive de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6, le TNF- $\alpha$  et le CXCL10 peut entraîner des réponses nocives de type «cytokine storm». Le zapnométinib réduit ces médiateurs pro-inflammatoires sans les supprimer complètement, atténuant ainsi l'inflammation excessive tout en préservant l'activité antivirale essentielle. En parallèle, il rétablit l'équilibre immunitaire en orientant les réponses vers un profil Th1/Th2 plus contrôlé et en limitant l'immunopathologie. Au niveau cellulaire, le zapnométinib renforce les populations de lymphocytes T naïfs et de mémoire centrale, préserve l'activité des lymphocytes T effecteurs nécessaire à l'élimination virale et favorise l'élimination des lymphocytes T épuisés ou différenciés de manière terminale, favorisant ainsi à terme une compétence immunitaire à long terme et un paysage immunitaire plus résilient.

ATR-002 a été testé pour son impact sur les réponses cytokiniques et chimiokines induites par le virus dans des modèles d'infection par le SARS-CoV-2 et dans des cellules stimulées par le polyI:C. Dans les cellules infectées Calu-3 et A549-ACE2/TMPRSS2, le traitement avec ATR-002 (100–150  $\mu$ M) a entraîné une réduction marquée de l'expression des cytokines/chimiokines pro-inflammatoires, notamment IL-6, CXCL8, CXCL10, CCL2 et CCL5, avec les effets les plus prononcés sur CXCL8 (~89 % de réduction) et CXCL10, et des effets plus faibles sur IL-6 et CCL5 (~45–50 % de réduction). Il est important de noter que les gènes antiviraux médiés par l'interféron (IFN $\beta$ , MxA) n'ont pas été affectés, ce qui montre que le médicament réduit sélectivement les médiateurs inflammatoires<sup>1</sup>.

Des résultats similaires ont été obtenus dans des systèmes sans virus utilisant une stimulation par polyI:C, où ATR-002 a significativement réduit l'ARNm et la sécrétion des cytokines/chimiokines sans altérer la réponse à l'interféron. Ces observations indiquent qu'ATR-002 peut atténuer la tempête cytokinique associée aux formes sévères de COVID-19, en réduisant la signalisation pro-inflammatoire tout en préservant les mécanismes de défense antivirale<sup>1</sup>.

Dans le modèle hamster infecté par le SARS-CoV-2, les niveaux de cytokines et de chimiokines n'ont augmenté que marginalement, limitant son utilisation pour l'évaluation immunomodulatrice. En revanche, dans un modèle murin de lésion pulmonaire aiguë induite par le LPS, le zapnométinib (25 mg/kg) a largement diminué l'expression des gènes inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-6, Ccl2, Cxcl1, Cxcl10, Ccl3) tout en laissant l'IFN- $\alpha$  (Ifna2) non

affecté, ce qui indique une préservation des réponses antivirales. De même, dans des PBMC humaines stimulées par le LPS, le zapnometinib a significativement réduit IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1 $\alpha$  et TNF- $\alpha$ . Ces résultats apportent la première confirmation *in vivo* de l'effet anti-inflammatoire direct du zapnometinib, réduisant sélectivement les médiateurs pro-inflammatoires tout en laissant l'expression de l'IFN- $\alpha$  inchangée<sup>3</sup>.

## E. Développement clinique du Zapnometinib (ATR-002)

À ce jour, deux essais de Phase I (un dans la grippe, un dans la COVID-19) et un essai de Phase II (COVID-19) ont été réalisés.

- **Grippe (Phase I)** : Une étude d'escalade de dose unique et multiple chez des volontaires sains a évalué la sécurité (événements indésirables liés au traitement), la tolérance et la pharmacocinétique ( $AUC_{0-t}$ ,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $t_{1/2}$ ) de l'ATR-002 administré pendant sept jours<sup>5</sup>.
- **COVID-19 (Phase II – RESPIRE)** : Un essai chez des patients adultes hospitalisés a évalué la sécurité et l'efficacité de l'ATR-002, en se concentrant sur la résolution des symptômes cliniques<sup>6</sup>.
- **COVID-19 (Phase I)** : Une étude d'escalade de dose chez des volontaires sains a examiné la sécurité et la tolérance par rapport au placebo, ainsi que la pharmacocinétique, la pharmacodynamie (interaction avec la cible) et les interactions potentielles aliment-médicament et médicament-médicament (FDI/DDI)<sup>7</sup>.

## Efficacité clinique du zapnometinib (RESPIRE, COVID-19, Phase II)<sup>8</sup>

Le zapnometinib a montré une tendance non significative vers une amélioration de l'état clinique par rapport au placebo au jour 15, dans les analyses primaires, « as-treated » et « per-protocol » ( $p = 0,15$  et  $p = 0,35$ ). Les analyses de sous-groupes ont suggéré un bénéfice plus marqué chez les patients atteints de maladie plus sévère (statut de sévérité clinique [CSS] 4 ;  $p = 0,13$ ) et chez ceux infectés par des variants non-Omicron ( $p = 0,10$ ).

Concernant la sortie de l'hôpital, le zapnometinib a réduit la durée médiane de séjour d'environ 1,5 jour chez les patients CSS 4 (8,5 contre 10,0 jours), bien que la différence ne soit pas statistiquement significative ( $p = 0,25$ ). Les effets dans la population globale étaient plus faibles ( $p = 0,27$ ) par rapport au placebo. Les autres critères secondaires ont généralement confirmé une tendance à un bénéfice accru chez les patients atteints de maladie sévère.

## Sécurité et tolérance (RESPIRE, COVID-19, Phase II)<sup>8</sup>

<sup>5</sup> <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04385420?intr=ATR-002&rank=1>

<sup>6</sup> <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04776044?intr=ATR-002&rank=2>

<sup>7</sup> <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05555823?intr=ATR-002&rank=3>

<sup>8</sup> Rohde G, Stenglein S, Prozesky H, Manudhane G, Sandulescu O, Bauer M, Overend T, Koch W, Neuschwander D, Planz O, Torres A, Witzernath M. Efficacy and safety of zapnometinib in hospitalised adult patients with COVID-19 (RESPIRE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre, proof-of-concept, phase 2 trial. *EClinicalMedicine*. 2023 Oct 4;65:102237. doi: 10.1016/j.eclinm.2023.102237.

La fréquence des événements indésirables (EI) était faible et comparable entre les deux groupes de traitement. Les EI liés au traitement les plus fréquents étaient des augmentations légères de l'alanine aminotransférase et des diarrhées, tous deux survenant à des taux faibles. La majorité des EI étaient légers ou modérés; des événements sévères sont survenus chez 6,8 % des patients au total, plus souvent dans le groupe placebo (9,6 %) que dans le groupe zapnometinib (3,9 %). La dyspnée sévère était le seul EI grave rapporté chez plus de 5 % des patients, et elle n'est survenue que dans le groupe placebo. Aucun EI grave n'a été signalé chez plus de 5 % des patients. Trois décès sont survenus (deux dans le groupe placebo, un dans le groupe zapnometinib), tous avant le jour 30 et tous jugés sans lien avec le traitement.

### **Effet antiviral du zapnometinib dans l'essai clinique<sup>3</sup>**

Chez les patients hospitalisés atteints de COVID-19, la charge virale a été mesurée par RT-qPCR dans des échantillons de sputum et nasopharyngés jusqu'au jour 30. Le zapnometinib a été associé à des réductions plus importantes de la charge virale moyenne par rapport au placebo, en particulier dans les échantillons de sputum à partir du jour 8. Chez les patients infectés par des variants non-Omicron, le zapnometinib a entraîné une réduction significative de  $+1,57 \log_{10}$  copies/ml au jour 8 ( $p=0,010$ ), avec des réductions de  $>1 \log_{10}$  maintenues entre les jours 11 et 30 ( $p=0,055-0,067$ ). Les échantillons nasopharyngés ont également montré des réductions de la charge virale, bien que moins prononcées.

Ces résultats confirment que le zapnometinib exerce à la fois des effets immunomodulateurs et antiviraux chez les patients atteints d'une infection sévère par le SARS-CoV-2.

### **Effet sur les cytokines et les chimiokines dans l'essai clinique<sup>3</sup>**

Dans l'étude de phase II RESPIRE (patients COVID-19 CSS 3–4), l'ELISA multiplex sur des échantillons de sérum collectés jusqu'au jour 30 a montré que le zapnometinib réduisait significativement **MCP-1**, **MIP-1 $\alpha$**  et **IFN- $\gamma$**  (tous  $p<0,0001$ ), ainsi que l'IL-6 ( $p=0,0017$ ), par rapport au placebo. Aucune modification n'a été observée pour le TNF- $\alpha$ , et l'IL-8/CXCL8 a montré une légère augmentation non significative. Ces résultats soutiennent les données précliniques démontrant la capacité du zapnometinib à réduire l'expression des cytokines et chimiokines pro-inflammatoires.

### **Modulation de la réponse immunitaire adaptative dans l'essai clinique<sup>3</sup>**

Le traitement par zapnometinib a augmenté les cellules immunitaires circulantes par rapport au placebo. Sur 30 jours, le nombre de lymphocytes a augmenté de **44,5%**, avec une hausse plus marquée des cellules T (**+73,7%,  $p=0,040$** ) et des plasmocytes B (**+61,8 %**). En revanche, les cellules B mémoires ont diminué (**-37,4%,  $p=0,037$** ). Ces effets sont restés constants au cours des jours d'observation, indiquant que le zapnometinib exerce un effet immunomodulateur positif à la fois sur les réponses immunitaires innées et adaptatives.



## Conclusion

Les études cliniques ont montré que le zapnometinib est généralement sûr et bien toléré, avec un profil de sécurité favorable et des signaux d'efficacité encourageants, notamment une réduction de la charge virale, en particulier chez les patients atteints de COVID-19 plus sévère. Avant les essais cliniques, on pensait que le zapnometinib agissait principalement grâce à son effet antiviral. Cependant, les résultats de l'essai RESPIRE suggèrent que son activité immunomodulatrice joue un rôle encore plus important, tout en conservant son activité antivirale. Ce changement met en évidence que le zapnometinib équilibre la défense antivirale avec la modulation de l'inflammation excessive, élargissant ainsi son potentiel pour des indications virales et non virales.

## F. Discussion

**Q1 : Je suis d'accord que pour les antiviraux dirigés contre l'hôte, les valeurs IC<sub>50</sub> et EC<sub>50</sub> issues des études in vitro sont plus difficiles à interpréter que pour les antiviraux à action directe. Dans vos modèles animaux de grippe, quelle est la réduction absolue maximale de la charge virale que vous observez, exprimée en termes quantitatifs plutôt qu'en pourcentages relatifs ? Par exemple, êtes-vous capable de dépasser une diminution de 1 log, pour atteindre 2 ou même 3 logs ?**

Comme démontré dans l'article de Laure et al. (2020)<sup>2</sup>, nous avons obtenu une réduction de la charge virale d'environ 1,5 à 2 logs. Dans l'étude sur le hamster avec le SARS-CoV-2, l'effet était plus faible, autour d'une réduction de 1 log.

Un phénomène similaire a été observé avec le molnupiravir : en culture cellulaire, le CC<sub>50</sub> semblait excellent par rapport au zapnometinib, et dans les expériences animales, les réductions de charge virale étaient comparables entre le molnupiravir et le zapnometinib. Cependant, chez les patients hospitalisés, le molnupiravir n'a pas réduit la charge virale, tandis que le zapnometinib a montré des réductions dans l'essai RESPIRE.

Cela renforce notre confiance dans la pertinence translationnelle du zapnometinib, d'autant plus que nous avons déjà démontré des effets d'inhibition de MEK plus forts dans la grippe que dans le SARS-CoV-2, bien que nous n'ayons pas encore de données chez des patients hospitalisés sévères pour confirmer le succès dans la grippe.

**Q2: Je suis tout à fait d'accord pour dire que le mécanisme d'action décrit contre la grippe est solide et bien démontré. Étant donné que la réduction de la charge virale observée dans les modèles précliniques de grippe n'était pas très forte, avez-vous envisagé d'évaluer le zapnometinib en combinaison avec d'autres antiviraux contre la grippe afin de renforcer son activité et de réduire le risque d'émergence de résistances ?**

C'est un excellent point, et nous avons effectivement déjà testé cela dans des modèles précliniques. Nous avons évalué le zapnometinib en différentes combinaisons, d'abord avec Tamiflu puis avec le baloxavir, afin de déterminer si ces associations interféraient avec l'efficacité. Sur la base des résultats, je recommanderais personnellement de le combiner avec Tamiflu plutôt qu'avec le baloxavir.



Il est important de noter que ni Tamiflu ni le baloxavir ne montrent d'efficacité chez les patients atteints de grippe sévère, mais les deux peuvent fortement réduire la charge virale dans la phase précoce de l'infection. L'ajout de zapnometinib pourrait alors inhiber les particules virales qui se propagent de manière systémique. C'est la stratégie que je recommanderais.

**Q3: J'ai une question concernant les réponses immunitaires que vous avez évaluées dans les contextes in vivo et in vitro. Avez-vous étudié les voies de l'immunité innée, telles que les interférons de type I et de type III, par exemple IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  et IFN- $\lambda$  ?**

Nous avons étudié cela et l'avons rapporté dans l'article de Schreiber et al. (2020)<sup>1</sup>. Nous avons constaté que le zapnometinib n'interfère pas avec la signalisation des interférons de type I et, de manière importante, n'affecte pas l'expression de **MxA**. Ainsi, la réponse immunitaire innée antivirale reste intacte. Cela s'explique par le fait que la voie est régulée par les facteurs régulateurs d'interféron **IRF3 et IRF7**, qui ne sont pas influencés par la voie de signalisation Raf/MEK/ERK ciblée par le zapnometinib.

**Q4: Dans le modèle murin de lésion pulmonaire aiguë, vous montrez une diminution des cytokines pro-inflammatoires. Cependant, j'ai compris que l'IL-1 $\beta$  et le TNF- $\alpha$  ne sont pas modulés par votre médicament. Cela pourrait-il être lié à l'activité de NF- $\kappa$ B, ou quelle est votre explication?**

Dans ce programme de développement, nous avons également rencontré des données qui ne concordent pas toujours parfaitement, comme vous l'avez mentionné. Dans le modèle animal, nous savons que la voie de signalisation **NF- $\kappa$ B** est très forte. Par le passé, nous avons également testé des inhibiteurs de NF- $\kappa$ B avec ce médicament et observé un effet beaucoup plus marqué sur les réponses en cytokines et chimiokines. Il n'est pas toujours possible d'obtenir une concordance à 100 % lorsqu'on passe de la culture cellulaire aux modèles animaux, mais les deux sont des étapes importantes avant les tests chez l'humain. Cela dit, chez les humains, nous observons des réductions du **TNF- $\alpha$**  et de l'**interféron- $\gamma$** .

Nous reconnaissons que le TNF- $\alpha$  est un facteur crucial, et des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre comment le zapnometinib influence spécifiquement le TNF- $\alpha$ , y compris des études se concentrant uniquement sur cette cytokine.

**Q5: Vous nous montrez moins d'épuisement des cellules T naïves, mais pas des cellules effectrices. Dans le domaine du VIH, nous regardons généralement l'épuisement des cellules effectrices plutôt que des cellules T naïves. Est-ce correct?**

C'est exact, et je m'excuse de ne pas avoir montré les données sur les cellules effectrices. La raison est que ces résultats sont très récents et encore non publiés. Nous disposons déjà d'ensembles de données complets pour toutes les populations cellulaires. Comme nous avons observé des effets sur les cellules naïves et les cellules mémoires centrales, nous avons ensuite étendu nos analyses aux cellules effectrices, en utilisant les données

de l'essai RESPIRE. Cependant, en raison du grand nombre de sous-populations, les résultats sur les cellules effectrices n'ont pas encore été présentés.

**Q6: J'ai une question concernant les données pharmacocinétiques de ce composé. Je comprends que la demi-vie est assez longue chez l'humain comparée aux animaux, autour de 19 heures. Est-ce correct ? Cela signifierait que l'état d'équilibre est atteint après environ 5 à 7 jours, rendant difficile une apparition rapide de l'effet sauf à faibles concentrations ?**

Nous avons mesuré cela sur 96 heures. La demi-vie chez l'humain est dépendante de la dose, allant d'environ **22 à 30 heures**. Vous avez raison, l'état d'équilibre est atteint après environ **5 jours**.

**Q7: Dans votre étude de phase 1, les concentrations plasmatiques du médicament étaient d'environ 1 à 2 µM. Est-ce exact ?**

Cela dépend du schéma posologique, comme rapporté dans l'article de Rhode et al (2023)<sup>8</sup>. Nous avons commencé avec une dose initiale de **900 mg**, suivie de **600 mg**. Je m'excuse de ne pas encore avoir montré les données de phase 2 : nous avons testé des doses de **1500, 1200, 900 et 600 mg**, et le manuscrit est en préparation. Nous avons des preuves que le composé est sûr à **900 mg** et également à **1200 mg**. D'un point de vue immunologique, je recommanderais **1200 mg**.

**Q8: Qu'en est-il du métabolisme de ce médicament ? Est-il métabolisé par les enzymes du cytochrome P450, par exemple le CYP3A4, comme c'est courant pour les inhibiteurs de kinases ? Si oui, cela pourrait-il conduire à une variabilité d'exposition entre patients ? Pourriez-vous nous indiquer la fourchette de variabilité que vous avez observée dans les concentrations plasmatiques au cours de la phase 2 ?**

Oui, je peux confirmer que le médicament est métabolisé via le **CYP3A4**. Je n'ai pas les données exactes sous la main, mais la variabilité était, à ma connaissance, inférieure à un facteur **10** entre patients.

**Q9: Vous avez mentionné assez brièvement la sécurité de votre produit. Quelles données préliminaires avez-vous issues des modèles animaux concernant le profil de sécurité de ce composé ?**

Nous avons mené des études de sécurité et de toxicologie dans des modèles **rat** et **chien**, et ces résultats ont également été publiés. Les conclusions favorables de ces études ont soutenu le lancement de deux études de phase I puis des essais de phase II. Dans les modèles animaux, comme chez l'humain, le composé a été bien toléré et a montré un bon profil de sécurité.

**Q10: Qu'en est-il de votre plan de développement clinique ? Vous avez mené des études de phase II dans la COVID-19 mais pas dans la grippe. Quelles sont les**

**prochaines étapes ? Avez-vous prévu de passer à une phase III dans la COVID-19 ou dans les infections grippales ?**

Notre expertise est dans la grippe, et le programme de développement complet était initialement centré sur les patients hospitalisés pour grippe. Pendant la pandémie de COVID-19, nous avons réorienté nos efforts pour développer des essais cliniques dans la COVID-19, comme beaucoup d'autres l'ont fait. Par la suite, notre plan a été de poursuivre avec un essai de phase II chez des patients hospitalisés pour grippe. Tout est prêt, mais le financement reste la pièce manquante. Nous avons un plan complet pour mener un essai dans la grippe. À ce stade, nous ne pensons pas qu'il soit pertinent de poursuivre dans la COVID-19, car notre stratégie repose entièrement sur des patients hospitalisés, et le zapnometinib n'est pas destiné aux infections non compliquées.

**Q11: Concernant votre plan de développement pour l'essai de phase II dans la grippe, pensez-vous qu'il serait possible de le mener en France, avec le soutien de l'ANRS MIE, si un financement était disponible ?**

Oui, nous accueillerions très volontiers une telle opportunité.

**G. Évaluation générale et recommandations du groupe AvATher**

Contrairement à la COVID-19, la situation dans la grippe est plus simple. Le mécanisme d'action est bien défini et étayé par des données expérimentales robustes, avec une activité antivirale démontrée in vivo dans des modèles précliniques. Bien que l'ampleur de l'effet observé à ce jour apparaisse modeste, en particulier lorsqu'on la compare à celle du molnupiravir, qui montre une efficacité plus forte dans les modèles précliniques, **le zapnometinib demeure d'un intérêt scientifique évident.**

Les points à considérer incluent **sa demi-vie relativement longue, d'environ 19 heures** (nécessitant 5 jours pour atteindre l'état d'équilibre et pouvant ainsi retarder l'apparition de l'effet clinique chez les patients grippés), son métabolisme via le cytochrome CYP3A4 (introduisant une variabilité entre les sujets), et ses valeurs d'**EC<sub>50</sub> relativement élevées dans la gamme supra-micromolaire** (avec des concentrations plasmatiques résiduelles de 2 à 3 µM).

**En conclusion, le groupe estime que le zapnometinib pourrait être davantage exploré dans des thérapies combinées, car son mécanisme d'action dirigé contre l'hôte pourrait offrir une complémentarité avec les antiviraux à action directe et contribuer à la gestion des résistances.**

## Évaluation générale du zapnometinib

Pre-exposure Prophylaxis	Post-Exposure Prophylaxis	Out-patient Treatment	In-patient Treatment
X	X	X	To follow*

\* = in combination thérapies.

---

## Members of the AvATher Group:

Coordinateurs : Lionel PIROTH (CHU Dijon), Laurence WEISS (Université Paris Cité)

Alban DHANANI (ANSM), Alexandre DUVIGNAUD (CHU Bordeaux), Astrid VABRET (CHU Caen), Brigitte AUTRAN (COVARIS), Claire ANDREJAK (CHU Amiens), Delphine PLANAS (Pasteur Institute, Paris), François GOERINGER (CHU Nancy), Franck TOURET (IRD), Guillaume MARTIN-BLONDEL (CHU Toulouse), Hervé WATIER (Université de Tours), Jérémie GUEDJ (Inserm), Julie HELMS (CHRU Strasbourg), Mathieu MOLIMARD (Université de Bordeaux), Robert MANFREDI (MSP/Sous-direction Santé des Populations), Slim FOURATI (APHP), THOMAS MAITRE (APHP Paris), Yvanie CAILLE (Renaloo).

Support from ANRS Emerging Infectious Diseases: Meena MURMU