

4'-Fluoruridin: ein neuer oraler antiviraler Wirkstoff gegen Covid-19

Die Covid-19-Pandemie hat den dringenden Bedarf an Breitband-Antivirenmitteln deutlich gemacht. Jetzt haben amerikanische Forscher in Atlanta mit 4'-Fluoruridin einen oral verfügbaren antiviralen Wirkstoff entwickelt, der gegen zahlreiche RNA-Viren einschließlich dem Schwere-Akuten-Respiratorischen-Syndrom-Coronavirus Typ 2 (SARS-CoV-2) effektiv ist. Der Wirkstoff führt zur Hemmung der SARS-CoV-2-RNA-Polymerase und verhindert dadurch die Vermehrung der Viren in infizierten Zellen. Eine tägliche orale Dosis von 20 mg/kg ist ausreichend, um eine SARS-CoV-2-Infektion beim Frettchen erfolgreich zu behandeln. 4'-Fluoruridin hemmt auch die als besorgniserregend eingestuften Alpha-, Gamma- und Delta-Varianten von SARS-CoV-2 mit gleicher Effektivität, was darauf hindeutet, dass das Mittel auch gegen zukünftige Coronavirusvarianten wirksam sein wird.

Molnupiravir (N⁴-Hydroxycytidin-5'-(2-methylpropanoat)) ist bislang das einzige oral anwendbare antivirale Medikament zur Behandlung von Covid-19-Erkrankungen; es erhielt im November 2021 die Zulassung von der britischen Arzneimittelbehörde zur Behandlung von leichten bis mittelschweren Fällen von Covid-19-Infektionen bei Patienten mit Risikofaktoren sowie bei älteren Personen über 60 Jahre. Im Dezember 2021 erteilten auch die amerikanische Food and Drug Administration und die japanische Behörde für Arzneimittel und Medizinprodukte vergleichbare Notfallzulassungen für Molnupiravir. In der Europäischen Union hat das Medikament hingegen bisher keine Zulassung erhalten. Allerdings wurden aufgrund der Mutagenität von Molnupiravir Sicherheitsbedenken gegenüber dem Mittel geäußert. Da der Wirkmechanismus des Medikaments darauf beruht, Mutationen in der viralen RNA zu erzeugen, besteht die Sorge, dass es auch Mutationen in der menschlichen DNA hervorrufen kann. Zudem scheint die Effektivität von Molnupiravir geringer zu sein als zunächst berichtet. Die Covid-19-Pandemie hat jetzt gezeigt, dass es einen dringenden Bedarf an sicheren und effektiven, oral bioverfügbaren antiviralen Mitteln mit Breitbandwirkung gibt, um auch zukünftige, neu auftauchende pathogene Viren bekämpfen zu können.

Nun hat ein amerikanisches Forschungsteam unter der Leitung der Georgia State Universität in Atlanta 4'-Fluoruridin (Abb. 1a) als ein oral verfügbares Breitband-Antivirenmittel mit vielversprechender Wirkung auch gegen SARS-CoV-2 identifiziert [1]. Die Verbindung wurde im Rahmen der Suche nach neuen antiviralen Wirkstoffen ausgehend von dem Molnupiravir-Vorläufermolekül N⁴-Hydroxycytidin entwickelt. Der Fokus auf 4'-Fluorribose als Grundstruktur beruhte auf dem Kenntnis, dass Fluorsubstituenten gewöhnlich die Selektivität, die Lipophilizität und die Stabilität von Wirkstoffmolekülen verbessern [2]. Darüber hinaus ist 4'-Fluoruridin eine Prodrug (Arzneivorläufermolekül), was den Vorteil hat, dass es erst nach Aufnahme in Zellen zum bioaktiven 4'-Fluoruridintriphosphat (Abb. 1b) umgewandelt wird und somit vor rascher Metabolisierung und Eliminierung geschützt ist.

4'-Fluoruridin ist ein Ribonukleosidanalogen, das RNA-Viren in ihrer Vermehrung hemmt. Nach Phosphorylierung zum Nukleotid konkurriert das 4'-Fluoruridintriphosphat mit Uridintriphosphat (UTP) um den Einbau in neu synthetisierte virale RNA durch die SARS-CoV-2-RNA-Polymerase. Sobald mehrere 4'-Fluoruridine in die virale RNA eingefügt worden sind, kommt es zur Hemmung der SARS-CoV-2-RNA-Polymerase und zum Kettenabbruch bei der RNA-Replikation, wodurch die Vermehrung des Virus in den infizierten Zellen gestoppt wird.

Die Wirksamkeit von 4'-Fluoruridin gegen verschiedene Varianten des Covid-19 Erregers SARS-CoV-2 (Alpha, Gamma und Delta) wurde in der Zellkultur mit VeroE6-Zellen untersucht. Die Verbindung hemmte die Vermehrung der Coronaviren in den Zellen dosisabhängig mit halbmaximalen effektiven Konzentrationen von 0,2-0,6 µM. Da 4'-Fluoruridin bis zu einer Konzentration von 500 µM die metabolische Aktivität verschiedener menschlicher und tierischer Zellen nicht beeinträchtigte, kann davon aufgegangen werden, dass die beobachtete antivirale Wirkung nicht auf zytotoxische Effekte der Verbindung zurückzuführen war.

Die Aufnahme und die Stabilität von 4'-Fluoruridin wurde mit krankheitsrelevanten Atemwegsepithelzellen (human airway epithelial cells; HAE-Zellen) ermittelt. Die Verbindung wurde rasch von HAE-Zellen aufgenommen (3.42 nmol/10⁶ Zellen/h) und in den Zellen effektiv in 4'-Fluoruridintriphosphat umgewandelt. Nach 4 Stunden wurden

intrazelluläre Konzentrationen von durchschnittlich 10 nmol/10⁶ Zellen/h erreicht. Darüber hinaus war das phosphorylierte 4'-Fluoruridin mit einer Halbwertszeit von 9,7 Stunden recht stabil in den Zellen.

4'-Fluoruridin war auch wirksam in der Hemmung der Vermehrung von Coronaviren in infizierten HAE-Organoiden. Bei einer basolateralen Konzentration von 50 µM 4'-Fluoruridin war die apikale Freisetzung von Coronaviren 100-fach reduziert. Mittels konfokale Mikroskopie konnte zudem gezeigt werden, dass das Organioderithel weitgehend frei von SARS-CoV-2-Nukleokapsidproteinen war.

Die *In-vivo*-Wirksamkeit von 4'-Fluoruridin wurde mit Frettchen untersucht. Frettchen sind ein geeignetes SARS-CoV-2 Tiermodell, da sie die typischen Merkmale einer unkomplizierten menschlichen Covid-19-Erkrankung zeigen. Bereits 48-60 Stunden nach intranasaler Infektion ist der Gipfel der Ausscheidung von Coronaviren bei den Frettchen erreicht. Wenn die Tiere jedoch 12 Stunden nach Infektion mit 20 mg 4'-Fluoruridin per kg Körpergewicht oral behandelt wurden, war die Viruslast 36-48 Stunden später (48-60 Stunden post infectionem) in nasalen Spülungen 1000-fach geringer. Zweieinhalb Tage nach Behandlung (3 Tage post infectionem) schieden die Frettchen keine Viruspartikel mehr aus. Gleiche Ergebnisse wurden auch mit den als besorgniserregend eingestuften Alpha-, Gamma- und Delta-Varianten von SARS-CoV-2 erhalten.

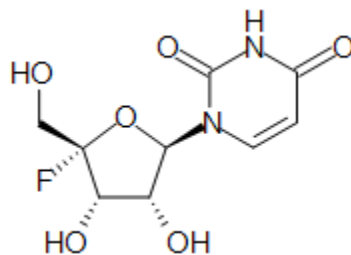
Mit 4'-Fluoruridin wurde ein antiviraler Wirkstoff entwickelt, der nicht nur gegen SARS-CoV-2 effektiv ist. Die Verbindung ist auch gegen andere Atemwegserkrankung verursachenden RNA-Viren wie das Respiratorische Synzytial-Virus (RSV) und das Parainfluenzavirus wirksam [1]. In allen Fällen bewirkt 4'-Fluoruridin eine verzögerte Hemmung der viralen RNA-Polymerasen, ähnlich der Wirkungsweise des antiviralen Mittels Remdesivir [1]. Eine orale Tagesdosis des Wirkstoffes war ausreichend, um die SARS-CoV-2 Viruslast in infizierten Frettchen deutlich zu senken, wenn die Behandlung 12 Stunden nach Infektion begonnen wurde. Da eine SARS-CoV-2-Infektion im Menschen im Vergleich zum Frettchen langsamer verläuft, steht für die menschliche Behandlung sogar ein noch breiteres therapeutisches Fenster zur Verfügung. Zudem zeigte 4'-Fluoruridin keinen Unterschied in der Wirksamkeit gegenüber besorgniserregend eingestuften SARS-CoV-2-Varianten, was

Zuversicht gibt, dass das Mittel auch gegen zukünftige Varianten des Virus effektiv sein wird. Hinsichtlich der Nebenwirkungen und Risiken lässt sich feststellen, dass 4'-Fluoruridin von Frettchen gut vertragen wurde und keine schädigenden Effekte auf das blutbildende System in Mäusen festgestellt wurden [1]. Bevor jedoch 4'-Fluoruridin zur Behandlung von Covid-19-Erkrankungen beim Menschen eingesetzt werden kann, muss der Arzneimittelstoff auf seine Verträglichkeit und Wirksamkeit im Rahmen von Tolerabilitätsstudien und klinischen Effektivitätsstudien in Menschen getestet werden.

[1] J. Sourimant et al., *Science* **375**, 161 (2022). – [2] P. Richardson, *Expert Opin. Drug Discov.* **16**, 1261 (2021).

PD Dr. Dietmar Steverding, Norwich, England

a



b

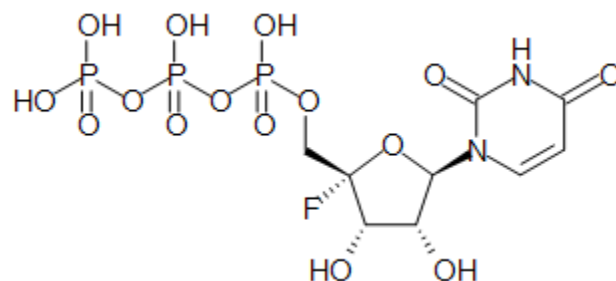


Abb. 1. Molekularstruktur von 4'-Fluoruridin (**a**) und 4'-Fluoruridintriphosphat (**b**).