

新型口服广谱抗病毒药物—EIDD-2801

孟晗^{1,2}, 于芳¹, 何宇鹏¹, 李行舟^{2*}

1. 辽宁石油化工大学 化学化工与环境学部, 辽宁 抚顺 113001; 2. 国家应急防控药物工程技术研究中心 中国人民解放军军事科学院军事医学研究院, 北京 100850

【摘要】 EIDD-2801 是核苷类似物 N4-羟基胞苷(NHC)的异丙酯前体药物, 对严重急性呼吸综合征冠状病毒 2(SARS-CoV-2)、中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)、严重急性呼吸综合征病毒(SARS-CoV)以及 A 型流感病毒等具有广谱抗病毒活性。在体外模型中, NHC 能够有效抑制 MERS-CoV、SARS-CoV 和 SARS-CoV-2(包括瑞德西韦耐药株)复制, 对委内瑞拉马脑炎病毒和鼠肝炎病毒等也有显著的抑制作用; 无明显的细胞毒性; 食蟹猴中口服生物利用度较差。EIDD-2801 旨在改善 NHC 体内药代动力学以及人类和非人类灵长类动物的口服生物利用度。EIDD-2801 在体内被水解为 NHC, 进入宿主细胞后代谢为具有药理活性的 NHC 5'-三磷酸形式。在 H1N1 流感病毒感染雪貂的动物模型中, EIDD-2801 口服给药, 在 7 mg/kg 剂量下, 可将流感病毒载量降低数个数量级, 并可减轻发热、呼吸道上皮组织病变和炎症。目前 EIDD-2801 已经进入临床研究阶段, 是一个有前途的治疗 SARS-CoV-2 的药物。本文就 EIDD-2801 的基本信息, 作用机制, 药代动力学, 临床前研究以及临床试验等作一概述。

【关键词】 EIDD-2801; N4-羟基胞苷; 口服给药; 抗病毒活性

【中图分类号】 R987.7

【文献标识码】 B

【文章编号】 1672-3384(2020)07-0012-04

Doi: 10.3969/j.issn.1672-3384.2020.07.004

EIDD-2801: a novel orally bioavailable broad-spectrum antiviral

MENG Han^{1,2}, YU Fang¹, HE Yu-peng¹, LI Xing-zhou^{2*}

1. College of Chemistry, Chemical Engineering and Environmental Engineering, Liaoning Shihua University, Liaoning Fushun 113001, China; 2. National Engineering and Technology Center of Emergency Prevention and Control Drugs, Institute of Pharmacology & Toxicology of AMMS, Beijing 100850, China

2019 年暴发的严重急性呼吸综合征冠状病毒 2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)感染在全球范围内造成巨大损失, 截至 2020 年 6 月 27 日, 全球累计确诊病例超过 969 万例, 累计死亡超过 491 595 例, 至今还没有一种对 SARS-CoV-2 有特效的药物。

EIDD-2801 是核苷类似物 N4-羟基胞苷(N4-hydroxycytidine, NHC)的异丙酯前体药物, 是一种广谱抗病毒药物, 最初被开发用于治疗流感, 对 A 型流感病毒、丙型肝炎病毒、马脑炎病毒和冠状病毒等多种病毒具有广谱抑制作用。相比于 NHC, EIDD-

2801 在非人类灵长类动物中具有更好的口服生物利用度。最新研究发现, EIDD-2801 对包括对瑞德西韦耐药的 SARS-CoV-2 有很好的抑制作用, 可改善受感染小鼠的肺功能, 并降低病毒滴度和体重减轻, 且生物利用度好, 可以口服给药, 通过在病毒 RNA 复制过程中诱导复制错误来发挥其抗病毒作用^[1-2]。本文就 EIDD-2801 的基本信息, 作用机制, 药代动力学, 临床前研究以及临床试验等作一概述。

1 基本信息

EIDD-2801 是一种核苷类似物, 分子式为

*通信作者: 李行舟, E-mail: xingzhouli@aliyun.com

$C_{13}H_{19}N_3O_7$, 相对分子质量为 329.31, 化学结构如图 1。目前正在研究 EIDD-2801 对多种病毒感染的活性, 包括流感病毒, 中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)和 SARS-CoV-2 等。

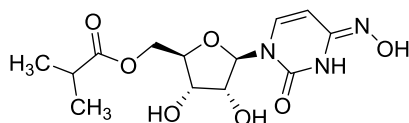


图 1 EIDD-2801 的化学结构图

2 作用机制

EIDD-2801 是 NHC 的前体药物, 旨在改善 NHC 体内药代动力学以及人类和非人类灵长类动物的口服生物利用度。EIDD-2801 在体内被水解为 NHC 并分布到组织中, NHC 进入细胞后被磷酸化为活性的 5'-三磷酸形式, 并取代胞嘧啶核苷掺入新生病毒的基因组中, 引起病毒 RNA 失活突变的积累, 最终导致病毒无法复制而死亡^[3]。核苷类似物如利巴韦林(ribavirin)和氟尿嘧啶(5-fluorouracil)等在抑制冠状病毒(coronaviruses, CoV)方面是无效的, 这归因于病毒 3', 5'-核糖核酸外切酶(exoribonuclease, ExoN)的校对活性。实验发现, NHC 对野生型小鼠肝炎病毒(mouse hepatitis virus, MHV)和缺乏 3', 5'-核糖核酸外切酶活性的 MHV 的抑制作用相似, 表明其能够规避或克服 ExoN^[6]。

3 药物代谢动力学

Yoon 等^[4]发现 NHC 在小鼠模型中具有良好的口服生物利用度, 在 50 mg/kg 剂量下口服给药, 半衰期约为 5.2 h, 生物利用度为 56%, 但在食蟹猕猴模型中口服生物利用度较差, 100 mg/kg 给药剂量下, 生物利用度为 5.7%, 进而推断 NHC 可能在人类的生物利用度较差。为了克服这一局限性, 研究人员合成了 NHC 的异丙酯前体药物 EIDD-2801, 在食蟹猕猴模型显示出更高的口服生物利用度, 在 130 mg/kg 给药剂量下, 半衰期约为 1.77 h, 生物利用度为 32.5%。另外, EIDD-2801 和 NHC 在小鼠中显示出相似的口服生物利用度, 且 EIDD-2801 在吸收后可在体内有

效水解, 使血浆中仅检测到游离 NHC^[1]。

4 临床前研究

4.1 EIDD-2801 对 A 型流感病毒的抑制作用

在雪貂鼻内感染 A/California/07/2009 (H1N1) (Ca/09) 病毒的动物模型中, EIDD-2801 口服给药每日 2 次, 给药剂量分别为 7.0、2.3 或 0.8 mg/kg。结果显示, 在 7 mg/kg 剂量下, 可将病毒载量降低数个数量级, 并可减轻发热、呼吸道上皮组织病变和炎症; 2.3 mg/kg 剂量下病毒载量也略有降低, 但并未观察到显著减轻发热; 0.8 mg/kg 剂量无明显治疗效果。分别在上述雪貂模型感染 Ca/09 病毒后的 36 和 48 h, 以 7 mg/kg, 每日 2 次口服给药, 结果显示, 36 h 组病毒滴度显著降低, 而 48 h 组与对照组相比, 差异无统计学意义, 证明感染后 36 h 内可用 EIDD-2801 进行有效治疗^[2]。

4.2 NHC 对委内瑞拉马脑炎病毒的抑制作用

在鼻内感染致死量委内瑞拉马脑炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus, VEEV)强毒株特立尼达驴株(TRD)的小鼠模型中, NHC 每日给药 2 次, 给药剂量分别为 150、300 和 500 mg/kg。结果显示, 在 300 和 500 mg/kg 剂量下, 小鼠存活率达 90%, 在 150 mg/kg 剂量下存活率达 80%。所有被感染的小鼠体重均显著减轻, 与对照组相比, 治疗组体重减轻较少, 且在治疗期间和之后体重减轻现象得到改善, 脑内病毒滴度远低于对照组。然后在小鼠模型感染病毒 6、12、24 和 48 h 后以 500 mg/kg, 每日 2 次口服给药, 持续 6 d, 结果显示, 对照组小鼠均出现特征性疾病症状, 并在 5.5 ~ 6.0 d 后死亡; 6 h 后给药组和 12 h 后给药组所有动物均存活; 24 h 后给药组存活率达 90%; 而 48 h 后给药组存活率仅为 40%。所有被感染的小鼠体重均显著减轻, 但在染毒后 48 h 内治疗的小鼠体重减轻较少, 且在治疗期间和之后体重减轻现象得到改善。6、12 和 24 h 后给药组中所有存活的小鼠均显示出很少或没有疾病的临床症状, 而 48 h 后给药组在感染 5 ~ 7 d 后均出现明显的临床症状, 但在 9 d 后所有症状在存活的小鼠中消失。这些数据表明 NHC 可开发为用于预防和治疗 VEEV 以及其他可能的 α 属病毒感染^[5]。

4.3 NHC对小鼠肝炎病毒的抑制作用

在体外细胞模型中,NHC能够抑制MHV的复制,呈剂量依赖性降低病毒滴度且细胞毒性很小, EC_{50} 为 $0.17\ \mu\text{mol/L}$ 。NHC只有在感染早期使用时才能抑制MHV,降低病毒特异性感染,并增加单一感染后出现的G→A和C→U转换突变的数量和比例^[6]。

4.4 EIDD-2801对冠状病毒的抑制作用

在过去的20年中,发现了3种新的能感染人类的冠状病毒:2002年的严重急性呼吸综合征病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)、2012年的MERS-CoV和2019年的SARS-CoV-2^[7-8]。这3种冠状病毒被认为是人畜共患病毒,这些冠状病毒可以在人类原代肺细胞中高效复制,引起严重的呼吸道疾病甚至可发展为急性肺损伤(acute lung injury, ALI)^[8-10]。

4.4.1 严重急性呼吸综合征病毒 在SARS-CoV感染的原代气道上皮细胞模型中,NHC能够降低病毒滴度,NHC浓度为 $10\ \mu\text{mol/L}$ 时,病毒载量下降 $>3\ \log$, $IC_{50}=0.14\ \mu\text{mol/L}$ 。在SARS-CoV感染的C57BL/6小鼠模型中,预防性(感染前2 h)给予EIDD-2801 50、150或500 mg/kg,结果显示,小鼠肺病毒滴度呈剂量依赖性降低,与对照组相比,在50 mg/kg剂量下,小鼠体重减轻状况显著改善,在150和500 mg/kg剂量下,明显改善了肺功能。由于只有500 mg/kg剂量组可明显改善体重减轻及肺出血症状,并将病毒滴度降低至检测不到的水平,因此该剂量下测试了在感染SARS-CoV后12、24或48 h给予EIDD-2801对病毒的影响。所有小鼠每12 h给药一次,结果显示,12 h后给药组病毒滴度显著降低,小鼠体重减轻明显改善;24 h后给药组也明显改善了小鼠体重的减轻及肺出血症状,尽管效果不如12 h后给药组;48 h后给药组病毒滴度也有明显降低,小鼠体重减轻及肺出血症状缓解,但相比其他两组效果最差。总之,预防性和治疗性给予EIDD-2801在体内对SARS-CoV均具有强效抗病毒作用。

4.4.2 中东呼吸综合征冠状病毒 在人肺上皮细胞系Calu-3 2B4(Calu3细胞)中,发现NHC对MERS-CoV具有很强的抗病毒作用, IC_{50} 为 $0.15\ \mu\text{mol/L}$ 且无细胞毒性;在MERS-CoV感染的原代气道上皮细胞模型中,NHC大大降低了MERS-CoV病毒滴度, IC_{50}

为 $0.024\ \mu\text{mol/L}$ 。由于小鼠DPP4受体与人类DPP4(hDPP4)在与MERS-CoV刺突蛋白结合的关键部位结构不同,正常小鼠不能感染MERS-CoV,因此所有体内研究均在编码鼠DPP4受体的转基因小鼠中进行。与SARS-CoV数据相似,预防性(感染前2 h)给予EIDD-2801 50、150或500 mg/kg,小鼠肺病毒滴度呈剂量依赖性降低并明显改善体重减轻及肺出血症状。研究人员发现,在治疗性(感染MERS-CoV后12、24或48 h)给予EIDD-2801的实验中,根据体重减轻数据,仅在感染MERS-CoV后12 h开始治疗的组中观察到正常的肺功能。这些数据表明,在预防性和早期治疗条件下,EIDD-2801都能有效降低MERS-CoV滴度。

4.4.3 严重急性呼吸综合征冠状病毒2 由于SARS-CoV-2病毒刺突糖蛋白和小鼠ACE2受体的不相容性,目前感染SARS-CoV-2的小鼠模型尚不存在,因此缺少体内数据。在非洲绿猴肾细胞(Vero)中,发现NHC抑制SARS-CoV-2临床分离株(2019-nCoV/USA-WA1/2020)的 IC_{50} 为 $0.3\ \mu\text{mol/L}$,50%细胞发生病变时的药物浓度(50% cytotoxic concentration, CC_{50}) $>10\ \mu\text{mol/L}$;在Calu-3 2B4细胞中,NHC抑制SARS-CoV-2的 IC_{50} 为 $0.08\ \mu\text{mol/L}$,并观察到病毒滴度呈剂量依赖性降低。这些数据表明NHC对SARS-CoV-2具有强效抗病毒作用,活性强于瑞德西韦对SARS-CoV-2的体外抑制活性(在Vero E6细胞上,瑞德西韦对SARS-CoV-2的半数有效浓度 EC_{50} 为 $0.77\ \mu\text{mol/L}$)^[11]。为了确定NHC在原代人类细胞中是否具有相似的抗病毒活性,研究人员在原代气道上皮细胞模型中进行了一系列研究。首先发现较高浓度($100\ \mu\text{mol/L}$)的NHC不会引起细胞基因表达的明显变化,从一定程度上支持了它的安全性。蚀斑减数实验结果显示,NHC能够有效抑制SARS-CoV-2的复制,使病毒滴度呈剂量依赖性降低。

EIDD-2801与瑞德西韦相似,均为核糖核苷类似物,通过掺入病毒RNA链,替代某些病毒原有正常复制时产生的核酸碱基序列,引起病毒复制的核酸序列发生错误而阻止病毒复制。研究发现瑞德西韦耐药株在EIDD-2801的作用下会受到更强的抑制作用,这表明可以将2种药物联合使用以提高疗效,并防止耐药性的产生。与瑞德西韦必须通过静脉滴注

不同的是,EIDD-2801可以口服给药,这为治疗病情较轻的患者或进行预防提供了潜在的优势^[12]。

5 临床试验

目前EIDD-2801已获批进入治疗SARS-CoV-2的临床试验阶段。I期临床试验结果表明,EIDD-2801表现出良好的安全性,而且在患者血液中达到的浓度高于在动物模型和人气道上皮模型产生有效抗病毒效果的水平。2020年6月22日,Ridgeback Biotherapeutics公司宣布,启动2项II期临床试验,检验候选疗法EIDD-2801治疗COVID-19患者的疗效。这2项随机,含安慰剂对照的II期临床试验将招募18岁以上COVID-19患者,其中名为2003的研究将招募医院之外显示症状的确诊COVID-19患者;名为2004的临床研究将招募住院COVID-19患者。这2项研究的主要临床终点是检测病毒的PCR测试结果达到阴性时所需要的时间和疗法的安全性。

综上所述,EIDD-2801跨多种物种具有良好的口服生物利用度,对A型流感病毒、委内瑞拉马脑炎病毒和冠状病毒等多种病毒具有广谱抑制作用。目前,EIDD-2801已经进入临床研究阶段并表现出良好的安全性,该化合物对多种冠状病毒的治疗功效和口服生物利用度,以及可与瑞德西韦联合使用可提高疗效并防止耐药性的特性,凸显了其成为有效抗SARS-CoV-2药物的潜力。

【参考文献】

- [1] Toots M, Yoon J J, Cox R M, et al. Characterization of orally efficacious influenza drug with high resistance barrier in ferrets and human airway epithelia [J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11 (515):10.
- [2] Toots M, Yoon J J, Hart M, et al. Quantitative efficacy paradigms of the influenza clinical drug candidate EIDD-2801 in the ferret model [J]. *Transl Res*, 2020, 218(11):16-28.
- [3] Hampton T. New flu antiviral candidate may thwart drug resistance [J]. *JAMA*, 2020, 323(1):17.
- [4] Yoon J J, Toots M, Lee S, et al. Orally efficacious broad-spectrum ribonucleoside analog inhibitor of influenza and respiratory syncytial viruses [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62(8):766-718.
- [5] Painter G R, Bowen R A, Bluemling G R, et al. The prophylactic and therapeutic activity of a broadly active ribonucleoside analog in a murine model of intranasal venezuelan equine encephalitis virus infection [J]. *Antiviral Res*, 2019, 171:104597.
- [6] Agostini M L, Pruijssers A J, Chappell J D, et al. Small-molecule antiviral β -D- N⁴-hydroxycytidine inhibits a proofreading-intact coronavirus with a high genetic barrier to resistance [J]. *J Virol*, 2019, 93(24):1-14.
- [7] Wit E D, van Doremalen N, Falzarano D, et al. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(Suppl): S523-S534.
- [8] Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China [J]. *JAMA*, 2020, 93 (24) : 1061-1069.
- [9] Zaki A M, Boheemen V S, Bestebroer T M, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia[J]. *N Engl J Med*, 2013, 367: 1814-1820.
- [10] Hsu L Y, Lee C C, Green G A, et al. Severe acute respiratory syndrome (SARS) in Singapore: clinical features of index patient and initial contacts [J]. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9(6): 713-717.
- [11] Wang M, Cao R, Zhang L, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro [J]. *Cell Research*, 2020, 30(3): 1-3.
- [12] Sheahan TP, Sims A C, Zhou S T, et al. An orally bioavailable broad-spectrum antiviral inhibits SARS-CoV-2 in human airway epithelial cell cultures and multiple coronaviruses in mice [J/OL]. (2020-04-03) [2020-05-08]. *SciTransl Med*. <https://stm.sciencemag.org/content/early/2020/04/03/scitranslmed.abb5883>.

收稿日期:2020-05-08

本文编辑:郭美晨