

Aus dem Institut für Medizinische Statistik und Bioinformatik  
der Universität zu Köln  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. rer. nat. A. Tresch

# **Azelastin-Nasenspray bei COVID-19 positiven Patienten**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der ärztlichen Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Freya Kilders  
aus Bern, Schweiz

promoviert am 17. März 2023

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln  
2022

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. U. Fuhr
2. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. R. Mösges

## Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Der dieser Arbeit zugrunde liegenden Datensatz wurde ohne meine Mitarbeit in dem Institut für Medizinische Statistik und Bioinformatik im Rahmen einer Studie ohne meine Mithilfe erhoben.

Die durchgeführten Visiten und Untersuchungen wurden ohne meine Beteiligung von den Prüfärzten Dr. Henning Morr und Dr. Helal Al Saleh unter der Leitung von Prof. Dr. Jens Peter Klußmann durchgeführt.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Messergebnisse wurden ohne meine Mitarbeit im Labor der Universitätsklinik der Universität zu Köln von Herrn Prof. Dr. med. Florian Klein ermittelt.

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten wurde ohne meine Mithilfe von Prof. Cengizhan Acikel angefertigt.

Die Interpretation der gegebenen Daten wurde von mir selbständig durchgeführt.

Bei Einzelschritten wurde ich sowohl von meinem Doktorvater, Universitätsprofessor Dipl. Ing. Dr. med. Ralph Mösges, wie auch den Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Statistik und Bioinformatik der Universität zu Köln, beraten.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 11.09.2022

Unterschrift:

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'F. Ullrich', written over a horizontal line.

# Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich auf meinem Weg der Promotion begleitet, motiviert und unterstützt haben.

Ein besonderer Dank gilt vor allem meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Dipl. Ing. Ralph Mösges, der mir nicht nur die Anfertigung dieser Dissertation ermöglicht hat, sondern mich auch hervorragend betreut hat. Sein großes Engagement in der Studie und seine herausragenden fachlichen Hinweise, sowie Anregungen und konstruktiver Kritik, waren mir eine große Hilfe zum gelungenen Abschluss meiner Dissertation.

Auch danke ich Herrn Prof. Dr. Klein und Herrn Dr. Grüll, die die Auswertung der entnommenen Proben im Labor des Instituts für Virologie der Universität zu Köln geleitet haben.

Ich danke Frau Prof. Dr. Lehmann für die Unterstützung beim Entwurf des Prüfplans sowie bei der Rekrutierung der Patienten.

Ebenso, möchte ich dem gesamten ClinCompetence Team danken, das mich sehr herzlich willkommen geheißen hat. Explizit möchte ich mich hiermit bei den Prüfärzten Dr. med. Henning Morr und Dr. med. Helal Al Saleh bedanken, die keine Mühen gescheut haben, mir alle Fragen zur Studie zu erläutern.

Ich danke allen, die an der Realisierung der Studie beteiligt waren, ohne die, diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Weiterhin danke ich meinen lieben Freunden, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen und mich stets motiviert haben.

Gleichfalls danke ich meiner Schwester Donata Kilders, die es immer schafft mich auf andere Gedanken zu bringen, wenn es mal nicht so läuft, wie ich es mir vorgestellt habe.

Zuletzt möchte ich einen ganz besonderen Dank an meine Eltern Barbara Kilders-Engels und Dr. med. Thomas Kilders aussprechen, die mich nicht nur auf dem langen Weg meines Studiums und Promotionsverfahrens uneingeschränkt unterstützt haben, sondern bereits mein ganzes Leben lang fest hinter mir standen. Ich danke euch für euer Verständnis, Vertrauen und eure Geduld und dafür, dass ihr immer ein offenes Ohr für mich habt.

Für meine Eltern.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>8</b>
<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>11</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1. SARS-Cov-2.....</b>	<b>16</b>
1.1.1. Epidemiologie .....	16
1.1.2. Coronaviridae .....	17
1.1.3. Pathophysiologie und Lebenszyklus .....	18
1.1.4. Pathogenese .....	20
1.1.5. Varianten .....	21
1.1.6. Diagnose .....	22
1.1.7. Therapie und Prävention .....	22
<b>1.2. Azelastinhydrochlorid .....</b>	<b>24</b>
1.2.1. Pharmakologie und Wirkweise .....	24
1.2.2. Anwendungsbereiche .....	25
1.2.3. Nebenwirkungen .....	26
1.2.4. Azelastinhydrochlorid bei einer SARS-CoV-2 Infektion.....	26
<b>1.3. Fragestellungen und Ziel der Arbeit.....</b>	<b>30</b>
<b>2. Material und Methoden.....</b>	<b>32</b>
<b>2.1. Studiendesign und Ablauf der Studie.....</b>	<b>32</b>
<b>2.2. Einschluss und Ausschlusskriterien.....</b>	<b>33</b>
<b>2.3. Randomisierung und Verblindung .....</b>	<b>34</b>
<b>2.4. Prüfmedikation .....</b>	<b>35</b>
<b>2.5. Methoden .....</b>	<b>35</b>
2.5.1. Klinische Untersuchung .....	35
2.5.2. Nasopharyngealer Abstrich und quantitativer RT-PCR Test .....	37
2.5.3. SF-36 Fragebogen zur Lebensqualität.....	37
2.5.4. WHO Patienten-Status.....	38
2.5.5. Symptome.....	38
2.5.6. Nebenwirkungen und Verträglichkeit.....	39
<b>2.6. Patientenkollektiv .....</b>	<b>39</b>

2.7. Statistische Auswertung.....	40
<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>41</b>
3.1. Patienten .....	41
3.2. Primäre Endpunkte .....	43
3.3. Sekundäre Endpunkte .....	49
3.4. Post hoc Analyse .....	55
3.5. Sicherheit.....	63
<b>4. Diskussion.....</b>	<b>67</b>
4.1. Einordnung in den aktuellen Forschungsstand.....	75
4.2. Limitationen.....	78
<b>5. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>80</b>
<b>6. Anhang .....</b>	<b>88</b>
6.1. Abbildungsverzeichnis.....	88
6.2. Tabellenverzeichnis.....	89

## Abkürzungsverzeichnis

(m)RNA	(messenger)RNA
°C	Grad Celsius
ACE-2	Angiotensin-konvertierendes-Enzym-2-Rezeptor
ANCOVA	Kovarianzanalyse
AUC	Fläche unter der Kurve
BMI	Body-mass-index
CARVIN	Covid-19: Azelastine Reduces Virus-load In Nasal Swabs
CEBINA	Central European Biotech Incubator and Accelerator Studie
CI	Konfidenzintervall
COVID-19	Coronavirus Erkrankung
cp/ml	Kopien pro Mililiter
Ct	Zyklusschwelle (engl.: Cycle treshold)
ECMO	Extrakorporale Membranoxygenierung
EKG	Elektrokardiogramm
EMA	Europäische Arzneimittel Agentur (engl.: European Medicines Agency)
E-Protein	Virushüllen-Protein (engl.: envelope-protein)
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ERGIC	Endoplasmatisches-Retikulum-Golgi intermediäres Kompartiment
FDA	Food and Drug Administration
FiO2	inspiratorische Sauerstofffraktion
h	Stunden (engl.: hour)
H1	Histamin-1
ID	Identifikationsnummer
IMB SPSS	Statistik Software der Softwarefirma IMB
ITT	Intention-to-treat Gruppe
kb	Kilobase
log10	Dekadischer Logarithmus
MedDRA	Medizin Terminologie Verzeichnis (Medical Dictionary for Regulatory Activities)
MersCov	Middle eastern respriatory syndrome related coronavirus

mg	Miligramm
mg/ml	Miligramm pro Mililiter
Mio.	Millionen
mITT	modifizierte Intention-to-treat Gruppe
Mpro	Hauptprotease (engl.: main protease)
M-Protein	Membran-Protein
n	Anzahl (engl.: number)
nm	Nanometer
N-Protein	Nukleo-Protein
NSP1a/b	Nichtstrukturprotein 1a/1b
N-Terminus	Amino-Terminus
ORF	Offene Leserahmen (engl.: open reading frames)
PLPpro	Papain-ähnliche Protease (engl.: papain-like protease)
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
PP	Per Protokoll
QoL	Lebensqualität (engl.: Quality of life)
QT	QT-Strecken Verlängerung
RBS	Rezeptor bindende Domäne
Rep1a / Rep1b	Replikasegen 1a/1b
RKI	Robert Koch Institut
RNA	Ribonukleinsäure (engl.: ribonucleic acid)
RTK	Replikase-Transkriptase-Komplex
RT-PCR	Echtzeit Polymerase-Ketten-Reaktion (engl.: real-time polymerase-chain-reaction)
S1	Subdomäne 1
S2	Subdomäne 2
SARS-CoV-1	Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 1
SARS-CoV-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
SD	Standardabweichung
SF-36	Kurze Form des Fragebogens für Lebensqualität (engl.: Short Form (36) Health Survey)
SpO <sub>2</sub>	Sauerstoffsättigung
S-Protein	Spike-Protein
TMPRSS2	Transmembran-Serin-Protease-2

V

WHO

z.B.

µm

Visite

Weltgesundheitsorganisation

zum Beispiel

Mikrometer

## Zusammenfassung

Das neuartige Coronavirus Sars-Cov-2 beherrscht seit nun mehr als zwei Jahren große Teile der Weltbevölkerung. Neue Varianten entwickeln sich stetig und sorgen weiterhin für hohe Infektionszahlen. Im Falle einer ausgeprägten Symptomatik der Infektion und der entzündlichen Ausbreitung dieser auf die unteren Atemwege kann die Erkrankung tödlich enden.

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt gibt es keine Medikation zur Behandlung von leichten Verläufen der Erkrankung, das kostengünstig und für eine breite Bevölkerungsgruppe zugänglich ist.

Azelastinhydrochlorid, ein Antihistaminikum der zweiten Generation, weist Interaktionen mit den zelleigenen ACE-2 und Sigma-1 Rezeptoren, sowie der viralen Hauptprotease auf, und soll dadurch den Eintritt und die Replikation des Virus in seinem Wirt hemmen. Daher stellt sich die Frage, ob Azelastinhydrochlorid als frühzeitige Therapie *in vivo* wirksam ist.

CARVIN, ist eine sich in Phase II befindende, prospektive, randomisierte, doppelblinde, Placebo kontrollierte, proof-of-concept Studie, die eben dieser Frage zugrunde liegt. Insgesamt 90 an Sars-Cov-2 erkrankte Patienten, wurden in drei Gruppen randomisiert und erhielten entweder 0.1% Azelastin-haltiges, 0.02% Azelastin-haltiges oder Placebo Nasenspray.

In einem Zeitraum von 11 Tagen wendeten die Patienten das Nasenspray dreimal täglich an. Der Verlauf der klinischen Symptomatik wurde kontinuierlich in Tagebüchern dokumentiert und es wurden sieben RT-PCR Abstriche im gegebenen Zeitraum ausgewertet. Die Reduktion der Viruslast wurde dabei an zwei Genen, dem ORF-1a/b und dem E-Gen, gemessen. Aus den Messungen ergab sich der CT-Wert, anhand dessen eine Kopien-Nummer pro Milliliter berechnet werden konnte. Die auffällige Reduktion der Viruslast nach Azelastin Gabe, war ein Anhaltspunkt für dessen Wirksamkeit.

Alle drei Gruppen zeigten einen Abfall der Viruslast im gegebenen Zeitraum. Es ergaben sich keine statistisch auffälligen Unterschiede zwischen den Gruppen. Dennoch zeigte sich, bei der zusätzlichen Untersuchung der Fläche unter der Kurve, dass die 0.1% Azelastin Gruppe einen auffällig bedeutenderen Abfall aufwies als die Placebo-Gruppe ( $p=0.007$ ).

Stützend, zeigten sich ähnliche Ergebnisse in der post-hoc angefertigten Subgruppen Analyse, bei der Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe mit einem Ct-Wert < 25 an Tag 4 einen statistisch größeren Abfall der Viruslast verzeichneten (E-Gen:  $p=0.006$ , ORF-1a/b Gen:  $p=0.005$ ) als Patienten der Placebo Gruppe. Ebenso ergab sich, dass auch Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe mit einem Ct-Wert < 20 eine raschere Abnahme der Viruslast an Tag 8 verzeichneten als Patienten der Placebo-Gruppe (ORF-1a/b:  $p=0.014$ ).

Im Hinblick auf die Symptomatik der Patienten zeigten sich nur bezogen auf einzelne Symptome Unterschiede zwischen den Gruppen.

Das Nebenwirkungsprofil der verabreichten Medikation, Azelastinhydrochlorid Nasenspray, erwies sich als sehr gut.

Die erlangten Ergebnisse lassen annehmen, dass eine handelsübliche Dosierung des Azelastin-haltigen Nasensprays die Abnahme der Viruslast in Sars-CoV-2 infizierten Patienten positiv beeinflusst. Besonders Patienten, deren anfängliche Viruslast höher war, profitierten von der Behandlung. Eine natürliche Abnahme der Viruslast im Behandlungszeitraum muss dabei jedoch ebenso beachtet werden.

## Abstract

The novel coronavirus Sars-CoV-2 controls most parts of the world for now more than two years. Constant changes of the virus and the development of new variants still lead to high numbers of infection in the population. The infection, when extended to the lower respiratory system, can be fatal.

Currently, there is no medication for the treatment of a mild to moderate course of the disease available, which is accessible for a broad population.

Azelastine Hydrochloride, which is a second-generation antihistamine drug, shows interaction with the cellular ACE-2 and Sigma-1 receptor, prohibiting the cell entry of the virus by down-regulating the receptors. Furthermore, there also is an interaction shown with the viral main protease, which interferes with its replication. These mechanisms raise hope for a possible efficacy of azelastine nasal spray in the treatment of Sars-CoV-2 infections in an early stage.

CARVIN, a phase II, prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind, interventional clinical trial, looks exactly into that question. In total 90 patients were randomized into three groups. They either received, 0.1% azelastine, 0.02% azelastine or placebo containing nasal spray.

During a period of 11 days, the participants applied the nasal spray three times daily. The occurrence of symptoms were documented by the patients in diaries at each end of the day. Nasopharyngeal swabs were taken for quantitative PCR analysis on seven occasions during the active study period. The reduction in viral load was then measured for the ORF-1a/b gen as well as the E-gen. The given Ct-value was used to calculate a copy-number per millilitre. A statistically significant reduction in viral load after the usage of azelastine nasal spray was assessed as a reference for efficacy.

Resulting, all three groups show a reduction in viral load in the given time period. There was no statistically significant difference in-between the three study groups. However, when analysing the area under the curve, a statistically significant difference among the 0.1% azelastine groups and the placebo group was proven ( $p=0.007$ ), in favour of the 0.1% azelastine group.

Similarly, the post-hoc analysis of subgroups showed results putting emphasis on the aforementioned findings. Patients belonging to the 0.1% azelastine group with a Ct-value  $< 25$

revealed to have a significantly greater reduction in viral load on day 4 than participants of the placebo group (E-Gen:  $p=0.006$ , ORF-1a/b Gen:  $p= 0.005$ ). Likewise, it was observed, that participants of the 0.1% azelastine group with an initial Ct-value  $< 20$  had a significantly greater reduction in viral load on day 8, than patients belonging to the placebo group (ORF-1a/b:  $p=0.014$ ).

Looking at the sum of symptoms experienced by the patients during the study period, there were no significant differences observed among the groups.

There were no serious side effects documented, and the overall safety profile of the given medication was reviewed as very good.

The obtained results show, that the commercially available dose of 0.1% azelastine nasal spray has a positive impact on the reduction of viral load in Sars-CoV-2 infected individuals. Especially patients, who suffer from an initially high viral load, benefit from the use of azelastine. However, a natural clearance of the virus in the given time period cannot be excluded.

# 1. Einleitung

Pan•de•mie

*“sich weit ausbreitende, ganze Landstriche, ländererfassende Seuche; Epidemie großen globalen Ausmaßes”*

~ Duden<sup>1</sup>

Seit nun mehr als zwei Jahren beherrscht SARS-CoV-2, ein Virus aus der Familie der Coronaviridae, das Leben vieler Menschen.

Dezember, 2019: die 11 Mio. Einwohner Metropole Wuhan, in der Provinz Hubei, China, verzeichnete erste Fälle von Pneumonien unklarer Genese. Bei den betroffenen Patienten konnte rückwirkend eine Verbindung zum „Huanan“ Fischmarkt hergestellt werden <sup>2,3</sup>.

Die ersten Coronaviren wurden bereits 1930 im Zuge der Untersuchung von infektiöser Bronchitis bei Hühnern isoliert. Die Infektion von domestizierten Tieren blieb auch vorerst der primäre Fokus der Forschung, bis in den 1960er Jahren auch Infektionen im Menschen nachgewiesen werden konnten, die jedoch harmlose Verläufe der Atemwegserkrankung verursachten <sup>4,5</sup>.

Einigen Arten des Virus, ist es demnach möglich, die bis dahin sicher geglaubte Artenbarriere, zu überwinden und auch den Menschen als Wirt zu befallen, eine sogenannte Zoonose <sup>5</sup>.

Ende des Jahres 2002 kam es zum ersten epidemischen Ausbruch durch Coronaviren.

Die Provinz Guangdong, China, verzeichnete erste Fälle von SARS (severe acute respiratory syndrome) unklarer Genese <sup>4,6</sup>. Nach ausgiebiger Forschung wurde SARS-CoV-1 als Ursache der Erkrankung festgestellt <sup>7,6</sup>.

Ein weiterer Ausbruch, mit dem später als MersCov (middle east respiratory syndrome-related coronavirus) bezeichneten Coronavirus, wurde im Jahre 2012 in Saudi Arabien datiert <sup>5</sup>.

Der aktuelle Ausbruch des neuartigen Coronavirus SARS-CoV-2, vermerkt demnach den dritten großflächigen Ausbruch in einer nur kurzen Zeitspanne von 20 Jahren. Am 3. März 2020 wurde der Zustand von der WHO als Pandemie ausgerufen <sup>8</sup>.

SARS-CoV-2 verändert sich fortlaufend, durch Mutationen im viralen Genom und schafft es dadurch Varianten mit höherer Virulenz und Transmission sowie geringerer Immunität zu erzeugen <sup>9</sup>.

Die aktuell dominierende Variante ist die sich rasant ausbreitende Omikron Variante.

Seit Anbeginn der Pandemie konnte bis zum jetzigen Zeitpunkt kein wirksames Medikament zur Therapie der Krankheit gefunden werden, das für die breite Bevölkerung kostengünstig, risikoarm und verschreibungsfrei zugänglich ist. Erst kürzlich wurde von der EMA bekannt gegeben, dass zwei Medikamente, Lageviro® und Paxlovid®, kurz vor der Zulassung stehen

und bereits in Notfällen eingesetzt werden dürfen<sup>10</sup>. Diese Präparate, sind die ersten oral verabreichten Präparate, die auch für eine ambulante Anwendung in Frage kämen.

Diese Dissertation soll sich eben dieser Problematik widmen.

Einige Studien untersuchten bereits die Wirksamkeit von H1-Antihistamin Präparaten zur Bekämpfung von COVID-19 Infektionen und erzielten vielversprechende Ergebnisse.

Im Speziellen wird die Testung der Wirksamkeit von Azelastinhydrochlorid Nasenspray im Falle einer SARS-CoV-2 Infektion im Rahmen der, sich in Phase II befinden CARVIN Studie, der Universität zu Köln, der zentrale Gegenstand dieser Arbeit sein.

Den Leser erwartet eine kurze Vorstellung des SARS-CoV-2 Virus sowie eine Einführung in die Wirkweise von Azelastin-Nasenspray.

Zudem, wird der aktuelle Forschungsstand von Azelastin in der Behandlung von SARS-CoV-2 näher beleuchtet.

Anschließend, wird das allgemeine Augenmerk auf die zentrale Fragestellung nach der Wirksamkeit von Azelastin-Nasenspray in COVID-19 erkrankten Patienten gerichtet.

Die aus den erworbenen Daten erlangten Erkenntnisse werden im Teil der Ergebnisse vorgestellt und anschließend vor dem Hintergrund der verfügbaren Literatur eingeordnet und kritisch diskutiert.

## **1.1. SARS-Cov-2**

### **1.1.1. Epidemiologie**

Seit Anbeginn der Pandemie vermerkte die WHO weltweit 349.641.119 bestätigte Fälle (Stand: 24.01.2022)<sup>11</sup>. Als bestätigter Fall galten dabei all diejenigen, die ein positives Testergebnis erhalten haben, unabhängig der Ausprägung ihrer Symptomatik.

Es wurden bereits 5.592.266 Todesfälle weltweit mit SARS-CoV-2 in Verbindung gebracht (Stand : 14.01.2022)<sup>11</sup>. Ähnlich wie andere Viren, die den menschlichen Respirationstrakt befallen, zeigt sich auch bei SARS-CoV-2 eine Tendenz zur Saisonalität. So wird die Transmission durch ein Zusammenspiel von Umwelteinflüssen (Kälte, Wind, Humidität) sowie menschlichem Verhalten (Aufhalten in geschlossenen Räumen) in den Wintermonaten begünstigt<sup>12,13</sup>.

## 1.1.2. Coronaviridae

Coronaviren konnten erstmalig im Jahre 1965 von Tyrell *et al.* aus den Proben menschlicher Nasenspülungen kultiviert werden <sup>14</sup>. Erst zwei Jahre später, 1967, schaffte es June Almeida, die damals noch von Tyrell als "Stamm B 814" bezeichneten Viren, morphologisch unter dem Elektronenmikroskop darzustellen. Es bildete sich ein membranumhüllter Viruspartikel mit Projektionen ab <sup>15</sup>. Der kranzförmigen Anordnung dieser Projektionen, verdankte das Virus später seinen Namen, abgeleitet durch seine Ähnlichkeit zur Sonnenkorona (Sonnenkorona = leuchtender Sonnenkranz im Falle einer totalen Sonnenfinsternis; lat.: Corona: Kranz) <sup>16</sup>.

Die Familie der Coronaviridae hat zwei Unterfamilien - die Coronavirinae sowie die Toroviridae - und gehört zur Ordnung der Nidoviridae. Die Coronaviridae Familie ist wiederum unterteilt in drei Gattungen, die Alpha-, Beta- und Gammacoronaviren. Sowohl Alpha- als auch Betacoronaviren nutzen Säugetiere als Wirt, wohingegen Gammacoronaviren hauptsächlich aus infizierten Vögeln isoliert wurden <sup>4</sup>.

SARS-CoV-1 wie auch SARS-CoV-2 werden taxonomisch der Gattung der Betacoronaviren zugeordnet <sup>4,17</sup>.

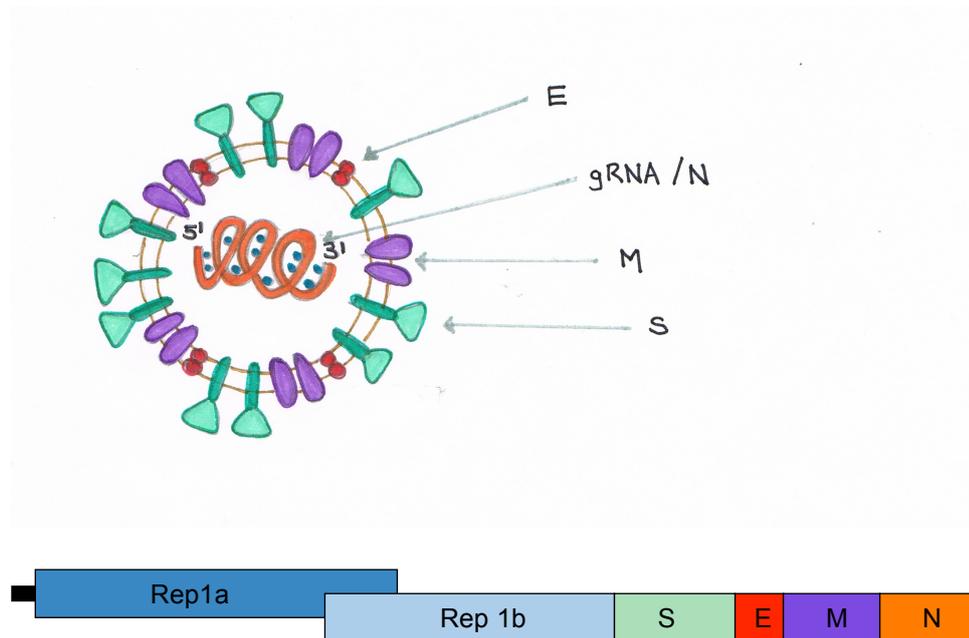
Coronaviren sind kugelförmige, membranumhüllte Virionen mit einem Durchmesser von 80-120nm. Ihre einzelsträngige RNA ist nicht segmentiert und von positiver Polarität <sup>4,16</sup>. Mit einer Genomgröße von 26 – 32kb haben Coronaviren das größte aller RNA Viren <sup>4</sup>.

Die Virushülle (engl.: envelope) der Coronaviren enthält mehrere eingebettete Membranproteine. Zum einen das M-Protein (engl.: membrane-protein) und das E-Protein (engl.: envelope-protein), die zur Struktur des Virions beitragen und zum anderen das S-Protein (engl.: spike-protein), das durch Rezeptoren Bindung den Zelleintritt in die Wirtszelle ermöglicht <sup>3,4,8,18</sup>. Das S-Protein ist ein Klasse I Fusionsprotein mit einer Ektodomäne, einem Transmembrananker sowie einer kurzen intrazellulären Einheit. Die Ektodomäne ist wiederum unterteilt in die rezeptorbindende S1 Untereinheit (RBD = engl.: receptor binding side) sowie die Fusionsproteine beinhaltende S2 Untereinheit <sup>18</sup>.

Das letzte der vier kodierten Strukturproteine ist das N-Protein (engl.: nuclear-protein). Es befindet sich im Inneren des Viruspartikels und bildet, durch Bindung der einzelsträngigen Genom-RNA, ein Nukleokapsid von helikaler Struktur <sup>4,16</sup>. Neben seiner strukturformenden Aufgabe ist das N-Protein an der viralen Replikation, Translation und Transkription beteiligt <sup>19,20</sup>.

Das Genom, welches einen für Eukaryoten üblichen Aufbau, mit einer cap-Struktur am 5'Ende und einem poly(A)-Schwanz am 3'Pol aufweist, besteht aus mehreren offenen Leserahmen (engl.: open reading frames, ORF), die neben den vier Strukturproteinen ebenfalls Nichtstrukturproteine (NSP1a/b) und einige akzessorische Proteine kodieren. Das größte

Nichtstrukturprotein ist der Replikase-Transkriptase Komplex (RTK). Dieser wird vom Replikase-Gen (Rep1a / Rep1b) kodiert, das zwei Drittel des coronaviralen Genoms beansprucht<sup>4</sup>.



**Abbildung 1: Schematische Struktur eines Coronavirus Partikels sowie des RNA-Genoms**

Rep 1a/Rep 1b: offene Leserahmen zur Kodierung des Replikase-Transkriptase-Komplexes

Strukturproteine: S (spike), M (membrane), E (envelope), N (nucleocapsid)

(Abbildung modifiziert nach Masters & Perlmann, Field's Virology, 2013)<sup>4</sup>

### 1.1.3. Pathophysiologie und Lebenszyklus

Ein sehr wichtiger zentraler Schritt im Replikationszyklus des Virus ist es, die Wirtszelle zu befallen und den zelleigenen Stoffwechsel als Grundlage für die virale Replikation zu nutzen.

So umgeht das Virus seine Bekämpfung durch die körpereigene Immunabwehr<sup>21</sup>.

Der Zelleintritt wird durch das Andocken des viralen S-Proteins an einen Rezeptor der Zielzelle ermöglicht<sup>4,22</sup>. SARS-CoV-2 Virionen spezifisch, binden an ACE-2 Rezeptoren der körpereigenen Zellen (engl.: Angiotensin-Converting-Enzyme-2), die vor allem im Dünndarm, in der Nieren, im Herzen und in der Lunge exprimiert werden<sup>22</sup>. Durch die Konversion von

Angiotensin I zu Angiotensin II ist der ACE-2 Rezeptor insbesondere an der Homöostase des Blutdrucks beteiligt und bildet einen Teil des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems<sup>23</sup>.

Das virale S-Protein verfügt über zwei Einheiten. Die sich am N-Terminus befindende S1 Untereinheit interagiert mit dem ACE-2 Rezeptor mittels der Rezeptor-Binde-Domäne<sup>4,22</sup>. Eine S1 Einheit kann drei Rezeptoren binden<sup>24</sup>. Zudem gibt es die S2 Einheit, die Fusionsproteine beinhaltet und so die Verschmelzung von Virus- und Zellmembran ermöglicht<sup>25</sup>. Nach der Bindung des ACE-2 Rezeptors spaltet eine Wirtszellen Protease die beiden Untereinheiten des S-Proteins und aktiviert dadurch den Prozess der Fusion durch die S2 Einheit<sup>4,25</sup>. Die Spaltung des S-Proteins kann entweder durch die Internalisierung durch Endosomen und die darauffolgende Spaltung durch die Protease Cathepsin L geschehen, oder direkt über die an der Zelloberfläche agierende Transmembran-Serin-Protease-2 (TMPRSS2)<sup>4,25-27</sup>.

Nach Aktivierung der Fusionsproteine verschmelzen die Membranen und das virale RNA-Genom wird in das Zytoplasma der Wirtszelle freigesetzt.

Auch der ACE-2 Rezeptor selber kann von TMPRSS2 gespalten werden. Als Folge dessen steigt die Eintrittswirksamkeit der Virionen<sup>26</sup>.

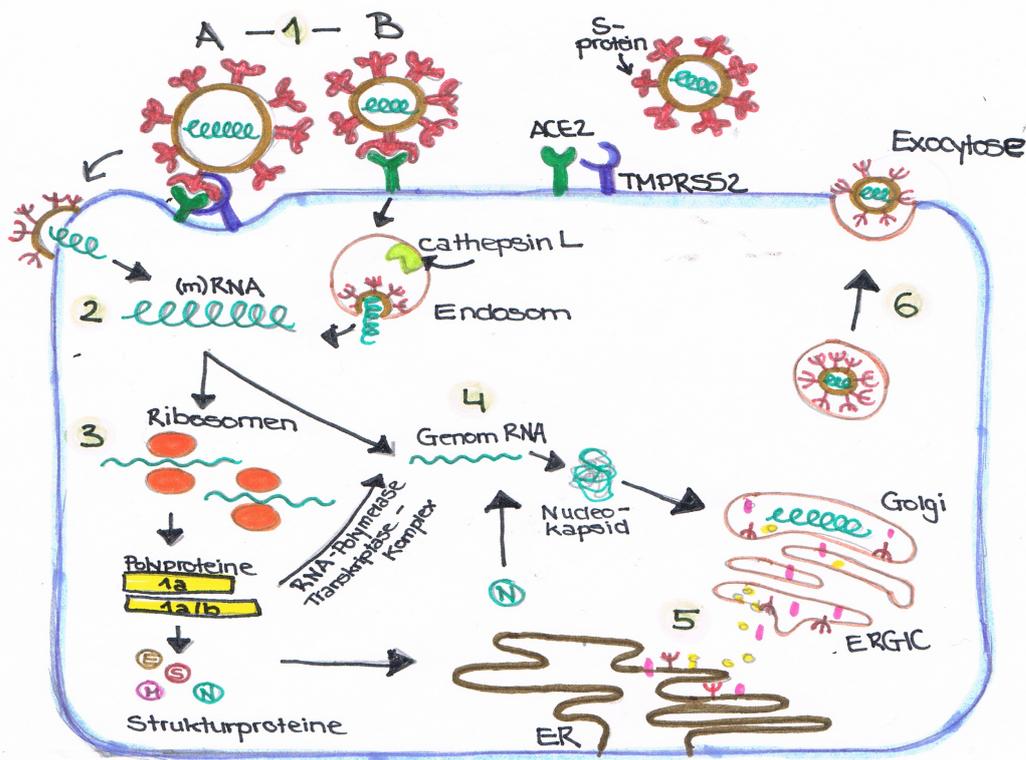
Nun beginnt der Replikationsprozess. Dazu werden vorerst die ersten beiden offenen Leserahmen des viralen Genoms an den zelleigenen Ribosomen in die Polypeptide pp1a und pp1a/b übersetzt. Diese werden von der viralen Hauptprotease „Mpro“ (auch „3CLpro“ genannt) und der Papain-ähnlichen Protease „PLPpro“ (engl.: papain-like protease) prozessiert und bilden daraufhin den für die Replikation unabkömmlichen Replikase-Transkriptase-Komplex (RTK)<sup>4,16,28</sup>.

Mittels des RTKs wird nun ein negativ komplementärer Strang der RNA erstellt, welcher wiederum als Matrize für einen weiteren positiv orientierten RNA Strang dient. Zudem reguliert der RTK die Synthese subgenomischer mRNA, die zur Proteinsynthese bereitgestellt wird<sup>28</sup>.

Der im Endoplasmatischen Retikulum befindliche Sigma-1 Rezeptor stellt ein Transmembranprotein dar, das an der Stressreaktion der Zelle beteiligt ist. SARS-CoV-2 verändert diese Stressantwort entsprechend, um den eigenen Lebenszyklus positiv zu begünstigen<sup>29</sup>.

Nach ausreichender Synthese von Genom-Kopien sowie Strukturproteinen, bilden das N-Protein und eine Genom-Kopie ein neues Nukleokapsid<sup>4,28</sup>.

Dieses wandert von der Replikationsseite zum ERGIC (engl.: ER-Golgi intermediate compartment), in welchem die Zusammenführung (engl.: assembly) neuer Viruspartikel vollzogen wird<sup>19</sup>. Zuletzt werden die neu synthetisierten Viruspartikel, mithilfe von vesikulärem Transport zur Zellmembran gebracht und im Prozess der Knospung (engl.: budding), aus der Wirtszelle ausgeschleust<sup>4,19,28</sup>. Durch den extrazellulären Raum gelangen die Virionen zu benachbarten Zellen und sind in der Lage auch diese zu infizieren<sup>16</sup>.



**Abbildung 2: Übersicht des viralen Replikationszyklus**

**1(A):** Andocken an ACE-2 Rezeptor und Spaltung durch TMPRSS2, Zelleintritt

**1(B):** Andocken an ACE-2 Rezeptor und Internalisierung durch Endosomen. Dort Spaltung durch Cathepsin L. **2:** Freisetzung der viralen (m)RNA. **3:** Translation der ORF1a, 1a/b an den zelleigenen Ribosomen mit resultierenden Polypeptiden 1a/ 1ab.

**4:** Genom Replikation durch Replikase-Transkriptase-Komplex, Zusammenführung RNA + N-Protein zum Nucleokapsid. **5:** Strukturproteine wandern vom ER zur Zusammenführungsseite des Golgi (ERGIC). **6:** Ausschleusung der Viruspartikel

(Abbildung modifiziert nach Masters & Perlmann, Field's Virology, 2013)<sup>4</sup>

#### 1.1.4. Pathogenese

Die Eintrittspforte des Coronavirus ist der Nasopharynx. Die Übertragung von Viruspartikeln findet von Mensch-zu-Mensch durch Niesen, Husten und Sprechen statt<sup>30</sup>. Die dadurch frei werdenden Aerosole und Tröpfchen können dann von einer nicht infizierten Person eingeatmet werden und führen so zum Kontakt zwischen Viruspartikel und Atemwegsschleimhaut<sup>8,31,30</sup>. Aerosole sind kleinste Tröpfchen mit einem Durchmesser von unter 5µm, die einige Minuten bis Stunden in der Luft schweben, wohingegen Tröpfchen einen

Diameter über 5µm haben und innerhalb von Sekunden absinken<sup>31-33</sup>. Daraus ergibt sich jedoch die Möglichkeit einer Kontaktinfektion, da die mit Viruspartikeln kontaminierten Tröpfchen sich auf Oberflächen ablagern<sup>8</sup>. SARS-CoV-2 Viruspartikeln ist es möglich, mehrere Tage auf Oberflächen zu überdauern<sup>34</sup>. Nach erfolgreicher Übertragung beginnt der Replikationszyklus des Virus. Anfänglich, nur im Epithel des Nasopharynx, breitet sich die Infektion jedoch folglich rasch auf die unteren Atemwege aus. Dort erleiden die Alveolen einen diffusen Schaden durch die Bildung von Hyalin-Membranen in den dort befindlichen Typ II Pneumozyten<sup>4,35</sup>. Außerdem wurden histologisch interstitielle Infiltrate beobachtet<sup>4,35</sup>. Diese zeigen sich auf dem Röntgenbild als diffus, mit oft fleckenförmigen Konsolidierungen (engl.: ground glass opacities = Milchglastrübung)<sup>8,35</sup>.

SARS-CoV-2 ist eine systemische Erkrankung, die durch die Blutbahn an distale Organe weitergetragen werden kann<sup>35</sup>. Nach einer initialen Inkubationszeit von 1 bis 14 Tagen, treten grippeähnliche Symptome wie Fieber, Gliederschmerzen, Kopfschmerzen und generelles Unwohlsein auf<sup>4,35,36</sup>. Zudem kommt es gehäuft zu Geschmacksverlust oder Veränderung des Riechvermögens<sup>8</sup>. Nach weiteren 1-2 Tagen kann es zu trockenem Husten und darauffolgender Dyspnoe kommen. In schwerwiegenden Fällen vermag ein Verlauf hin zum akuten Atemnotsyndrom sowie Multiorganversagen dokumentiert werden<sup>35</sup>. Einen solchen schweren Verlauf der Infektion, wurde besonders in Patienten mit multiplen systemischen Vorerkrankungen (Diabetes mellitus, kardiovaskuläre Erkrankungen, Fettleibigkeit), sowie eines fortgeschrittenen Alters, verzeichnet<sup>8,35,37</sup>. Überlebende zeigten größtenteils eine vollständige Genesung. In einzelne Ausnahmen jedoch kämpfen Patienten nach der Erkrankung noch weiterhin mit eingeschränkter Lungenfunktion<sup>4</sup>.

### **1.1.5. Varianten**

Der anfängliche Wild-Typ, des SARS-CoV-2 Virus, wurde seit Dezember 2020 von der sogenannten Alpha Variante (B.1.1.7) dominiert. Die sich schnell ausbreitende Variante zeichnete sich durch größere Viruslast in Betroffenen und ihre höhere Übertragbarkeit aus<sup>38,39</sup>. Im Oktober desselben Jahres breitete sich daraufhin die nochmals infektiösere Delta Variante (B1.617.2) aus, die einige Impfdurchbrüche verzeichnen ließ<sup>40</sup>.

Unabhängig breitete sich seit November 2021 die neue Virusvariante Omikron (B1.1.529) aus<sup>38</sup>. Diese, auch aktuell dominierende Variante, zeichnet sich durch noch rasantere Ausbreitung, jedoch geringer schwerwiegende Symptomatik aus.

### 1.1.6. Diagnose

Der Goldstandard in der Diagnosestellung von SARS-CoV-2, ist die Ermittlung durch die RT-PCR (engl.: real-time quantitative polymerase-chain-reaction)<sup>41,42</sup>. Dazu wird eine Abstrichprobe aus dem Nasopharynx entnommen. Getestet wird auf spezielle Genregionen des Virus. Gemessen werden wie viele Amplifikationen gebraucht werden, um ein Signal herbeizuführen. Daraus ergibt sich der sogenannte Ct-Wert (engl.: cycle treshold). Ein Ct-Wert von >30 wird als hoch definiert und somit ist die Viruslast sehr gering<sup>42</sup>. Das Robert-Koch-Institut hat einen Ct-Wert von >30 als Grenze zur Beendigung der Isolierung angesetzt<sup>43</sup>.

Eine schnellere, jedoch weniger aussagekräftige Alternative, bieten SARS-CoV-2 spezifische Antigen-Tests. Bei hoher Viruslast erzielen diese hohe Sensitivität, dennoch bedarf es einer Bestätigung mittels RT-PCR<sup>42</sup>.

Eine durchlebte Infektion kann serologisch anhand von Antikörpertitern nachgewiesen werden. Die Immunität ist jedoch zeitlich begrenzt und eine Reinfektion ist möglich<sup>35</sup>.

Die höchste Viruslast wurde in Studien in der Zeit des Symptombeginns gemessen. Darüber hinaus zeigte sich, dass mit einer höheren Viruslast oftmals eine schwerere Symptomatik und längerer Krankheitsverlauf, einherging<sup>44</sup>.

### 1.1.7. Therapie und Prävention

Im Verlauf der Pandemie wurden bereits viele Präparate auf ihre Wirksamkeit im Falle einer SARS-CoV-2 Infektion getestet. Der Fokus lag insbesondere darin, die Entwicklung hin zu einem schweren bis tödlichen Verlauf der Erkrankung zu vermeiden. Bis zur Zulassung von Paxlovid® und Lagevrio® zu Beginn dieses Jahres, konnte jedoch kein Medikament gefunden werden, das zuverlässige und sichere Wirksamkeit gegen SARS-CoV-2, nicht nur bei schweren, sondern auch bei milderer ambulant behandelten Verläufen, zeigte. Der allgemeine Standard zu Behandlung blieb wie folgt eine unterstützende Versorgung durch symptomlindernde Medikation und im schweren Verlauf eine Intubation und Beatmung<sup>45</sup>. Mögliche Angriffspunkte für therapeutisch wirksame Medikamente, stellten vor allem das virale Spike-Protein, der zelleigene ACE-2 und Sigma-1 Rezeptor, die TMPRSS2 Protease sowie der virale Replikationszyklus dar<sup>37,46</sup>. Zudem erforschten einige Studien die Wirksamkeit von monoklonalen Antikörpern<sup>45,47</sup>.

**Remdesivir:** Remdesivir ist ein RNA-Polymerase Hemmer und war eines der ersten zugelassenen Medikamente. In einer randomisierten Studie zeigte sich eine Verkürzung der Krankheit in hospitalisierten Patienten, jedoch wurde das Medikament nur zur Linderung von schwereren Verläufen empfohlen<sup>45,48,49</sup>.

Derzeitig zugelassene Medikamente sind unter anderem:

**Dexamethason:** Dexamethason ist ein Kortikosteroid. In einer randomisierten Studie (RECOVERY) zeigte sich, dass beatmungspflichtige Patienten von einer Einnahme von Dexamethason profitierten, während Patienten mit mildem Verlauf nicht positiv auf das Medikament ansprachen<sup>45,50</sup>.

**Tocilizumab:** Tocilizumab ist ein monoklonales Antikörperpräparat gegen den IL-6 Rezeptor, das Entzündungen hemmt. Aus Studien ergaben sich geringe Anzeichen einer positiven Wirkung, dennoch wurde es im Dezember 2021 von der EMA zugelassen<sup>49,51,52</sup>.

Regdanvimab, Casirivimab/Imdevimab und Sotrovimab sind ebenfalls zugelassene monoklonale Antikörperpräparate, die an das S-protein des SARS-CoV-2 Virus binden<sup>53</sup>.

Eine Studie von Gottlieb *et al.* testete die Wirksamkeit von Bamlaivimab in Kombination mit Etesevimab in Patienten, die einen moderaten bis milden Krankheitsverlauf hatten, und fand heraus, dass sich am 11. Tag der Behandlung ein auffällig größerer Abfall der Viruslast in der Gruppe, der mit dem Kombinationspräparat behandelten Patienten, ergab, als in der Placebo-Gruppe<sup>54</sup>.

**Thromboembolie Prophylaxe:** Eine SARS-CoV-2 Infektion steigert das Risiko für ein thromboembolisches Ereignis, daher wird eine Thromboembolie Prophylaxe für hospitalisierte Patienten empfohlen<sup>45</sup>.

**Paxolavid und Molunpiravir** wurden erst kürzlich (Stand 02.02.2022) zur Behandlung von SARS-CoV-2 Infektionen zugelassen. Beide Medikamente wirken intrazellulär durch Hemmung der Hauptprotease bzw. der RNA Polymerase des Virus. Dabei zeigte sich Molunpiravir besonders wirksam<sup>55</sup>.

Zu diesem Zeitpunkt sind fünf Impfstoffe von der EMA in der EU zugelassen. COVID-19 Vakzin Janssen sowie Vaxzevria sind Vektorenimpfstoffe, wohingegen Comirnaty und Spikevax mRNA für die Herstellung des S-Proteins beinhalten, welche so direkt verabreicht wird. Nuvaxovid wurde erst kürzlich zugelassen und ist ein Protein-basierter Impfstoff<sup>56</sup>.

Da trotz dreifacher Impfung während der derzeitigen Omikron-Welle viele Impfdurchbrüche verzeichnet wurden, bleiben auch weiterhin präventive Maßnahmen, wie Abstand halten und das Tragen einer Gesichtsmaske unabkömmlich.

Untersuchungen haben gezeigt, dass allein diese Maßnahmen das Risiko einer Ansteckung maßgeblich verringern<sup>57,58</sup>.

Trotzdem ist es sehr wichtig, ein wirksames und erschwingliches Medikament zu finden, das nicht nur in der Therapie von schweren Erkrankungen zum Einsatz kommt, sondern auch zur Medikation von milderen Verläufen geeignet ist oder gar zu Prävention eingesetzt werden kann. Ein vielversprechender Ansatz dazu, ist die Erforschung von H1-Antihistamin

Präparaten, die, im speziellen Azelastinhydrochlorid Nasenspray, im nachfolgenden Kapitel, näher beleuchtet werden.

## **1.2. Azelastinhydrochlorid**

Azelastinhydrochlorid ist ein Wirkstoff der Klasse der H1-Antihistaminika der zweiten Generation. In Deutschland ist es seit 1974 von den Asta-Werke AG patentiert und seit 1992 (Allergodil®) in Form von Nasenspray und Augentropfen zugelassen<sup>59,60</sup>. In dieser Form, wie auch in Tablettenform, ist es in Deutschland frei verkäuflich. Es wird unter verschiedenen Markennamen vertrieben, unter welchen die bekanntesten Handelsnamen in Deutschland Vividrin Akut®, Allergodil® und Pollival® sind<sup>61</sup>. Darüber hinaus findet Azelastinhydrochlorid Einsatz als Kombinationspräparat mit dem nasalen Steroid Fluticasonpropionat, das unter dem Handelsnamen Dymista® vertrieben wird. Es handelt sich um eine weißliche, geruchslose Flüssigkeit mit bitterem Nachgeschmack<sup>59,62</sup>.

### **1.2.1. Pharmakologie und Wirkweise**

Azelastinhydrochlorid ist ein Antihistaminikum der zweiten Generation. Der wesentliche Unterschied gegenüber der ersten Generation ist die verminderte Passage der Blut-Hirn-Schranke und die daraus resultierende geringere Nebenwirkung der Sedierung<sup>63</sup>.

Azelastinhydrochlorid hemmt vor allem, die durch H1-Rezeptoren vermittelte Histamin-Freilassung. H1-Histaminrezeptoren befinden sich in hohem Maße in der glatten Muskulatur der Atemwege, dem Endothel der Gefäße, der Haut und dem Herzen. Ihre Aktivierung durch Histamin bewirkt unter anderem, eine Dilatation der Kapillaren und eine höhere Durchlässigkeit dieser, was zu Ödemen und Blutdruckabfall führt.

Die glatte Muskulatur der Bronchien kontrahiert und es kommt des Weiteren zu Atemwegsobstruktionen. Zudem führt eine Ausschüttung von Histamin in der Haut zu Schwellungen und Juckreiz, ausgelöst durch die Irritation von Nozizeptoren<sup>64</sup>.

Azelastinhydrochlorid stoppt die Frühphase dieser allergischen Reaktionen durch das kompetitive Binden an den H1-Rezeptor und die darauffolgende Hemmung dessen Aktivierung durch Histamin. Wirksam ist ein H1-Antagonist Präparat besonders vor der übermäßigen Ausschüttung von Histamin durch den Kontakt mit Allergenen, da es mit Histamin um die Bindestellen konkurriert<sup>65</sup>. Außerdem hat Azelastinhydrochlorid eine Mastzellen stabilisierende Wirkung und reduziert daher die Ausschüttung von Histamin, Leukotrienen, Serotonin, des plättchenaktivierenden Faktors, Prostaglandinen und anderen

entzündungsfördernden Mediatoren und stoppt so auch spätere Phasen der allergischen Reaktion<sup>59,66</sup>.

In Studien zeigte sich, dass Azelastinhydrochlorid über eine anti-entzündliche Wirkung verfügt, in dem es die Freilassung von Leukotrienen, Kininen und Zelladhäsionsmolekülen aus Mastzellen und basophilen Granulozyten hemmt, die maßgeblich an der erhöhten Permeabilität von Gefäßen und der Rekrutierung von weiteren Entzündungszellen beteiligt sind<sup>62</sup>. Shin *et al.* führten eine Studie hinsichtlich der Wirksamkeit von Azelastinhydrochlorid auf die Frühphase einer allergischen Reaktion durch, indem sie den Histamin, Kinin, Leukotrien, und Prostaglandin-D2 Spiegel bei Patienten bestimmten, die zuvor mit Allergenen stimuliert wurden. Ergebnisse dieser Studie machten deutlich, dass Patienten, die zuvor mit Azelastinhydrochlorid behandelt wurden, eine auffällige Reduktion des Leukotrien und Kinin Spiegel zeigten<sup>67</sup>.

Diese Reduktion wird erklärt, durch die hemmende Wirkung von Azelastinhydrochlorid auf spezielle Enzyme, die für die Leukotrien-Synthese benötigt werden<sup>68</sup>.

Erste Wirkungen zeigen sich 15 Minuten nach Einnahme und halten bis zu 12 Stunden an<sup>69</sup>.

Nach der Administration von Azelastinhydrochlorid Nasenspray erreicht der Wirkstoff seine maximale Konzentration im Plasma nach etwa 2-3 Stunden, mit einer Bioverfügbarkeit von rund 40 %<sup>69,62</sup>. Azelastinhydrochlorid wird in der Leber verstoffwechselt und im Stuhl ausgeschieden.

### **1.2.2. Anwendungsbereiche**

Azelastinhydrochlorid wird in Form von Nasenspray für allergische Rhinitis, sowie nicht-allergische vasomotorische Rhinitis eingesetzt. Allergische Rhinitis kann hierbei als saisonale Erkrankung (Heuschnupfen) auftreten oder als perenniale Rhinitis, bei welcher Allergene ganz jährlich präsent sind<sup>62</sup>.

Azelastinhydrochlorid Nasenspray (Azelastinhydrochlorid 1mg/ml) wird nach Angaben des Herstellers URSAPHARM Patienten ab einem Alter von 6 Jahren empfohlen. Die Anwendung soll zweimal täglich (morgens und abends) mit jeweils einem Sprühstoß je Nasenloch durchgeführt werden. Es ergibt sich täglich eine maximale Dosis von 0.56mg Azelastinhydrochlorid. Eine Anwendung länger als 6 Monate wird nicht empfohlen<sup>70</sup>.

### 1.2.3. Nebenwirkungen

Der Hersteller URSAPHARM (Azelastinhydrochlorid 1mg/ml Nasenspray) gibt als häufigste Nebenwirkung einen bitteren Geschmack an, der jedoch meist nicht durch systemische Geschmacksveränderung, sondern den natürlich bitteren Geschmack des Medikaments erklärt wird. Als gelegentlich Nebenwirkung werden lokale Reizungen im Nasen-Rachen-Raum angegeben und seltene Nebenwirkungen stellen nach Angaben des Herstellers Übelkeit und Erschöpfung dar <sup>70</sup>.

Azelastinhydrochlorid soll nicht während des ersten Trimenons einer Schwangerschaft eingenommen werden, da mögliche teratogene Wirkungen nicht ausgeschlossen werden können. Vom Verzehr von alkoholischen Getränken wird abgeraten <sup>70</sup>. Da vereinzelt Müdigkeitssymptomatik mit der Einnahme von Azelastinhydrochlorid in Verbindung gebracht wird, soll bei der Steuerung von Maschinen Vorsicht geboten sein.

Mehrere Studien zeigten, dass Azelastinhydrochlorid sehr verträglich ist und keine schwerwiegenden Nebenwirkungen hervorruft. Als häufigste Nebenwirkungen wurden ebenso ein bitterer Geschmack nach Applikation, Kopfschmerzen, Müdigkeit und ein Brennen in der Nase beschrieben <sup>62,69</sup>. Müdigkeit und Erschöpfung wurde in einigen Studien als Nebenwirkung angegeben, jedoch ergaben sich verschiedene Signifikanzen im Vergleich von Azelastin- und Placebo Nasenspray <sup>62</sup>. Während Patienten mit allergischer Rhinitis zur Zeit der Behandlung auffällig mehr Müdigkeit angaben als die Placebo-Gruppe, waren die Ergebnisse für Patienten mit vasomotorischer Rhinitis nicht auffällig <sup>62,69</sup>. Berger *et al.* und LaForce *et al.* wiederum verzeichneten ähnliche Inzidenzen von Müdigkeit in beiden Gruppen <sup>71,72</sup>.

Einige Präparate, der zweiten Generation der Antihistaminika, wurden mit Wechselwirkungen assoziiert. Eine gleichzeitige Einnahme von Antibiotika oder Antimykotika führte vor allem beim Gebrauch von Terfendadin und Astemizol zu Arrhythmien <sup>62</sup>. Studien, die sowohl Azelastin mit Erythromycin als auch mit Ketoconazol testeten, widerlegten diese Wechselwirkungen jedoch. In beiden Fällen wurden keine QT-Veränderungen im EKG beobachtet <sup>62,73</sup>.

Kinder (6-12 Jahre) zeigten in Studien ähnliche Ergebnisse in Bezug auf Nebenwirkungen und Sicherheit wie Erwachsene <sup>69</sup>.

### 1.2.4. Azelastinhydrochlorid bei einer SARS-CoV-2 Infektion

Nach der Durchführung einiger Studien, ließ sich eine Wirksamkeit von Azelastinhydrochlorid in der Behandlung sowie der Prävention von SARS-CoV-2 Infektionen, vermuten. Jedoch

wurden bis dato keine *in vivo* Studien durchgeführt. Angriffspunkte von Azelastin sind vor allem der zelleigene ACE-2 Rezeptor und Sigma-1 Rezeptor, sowie die virale Hauptprotease. ACE-2 Rezeptoren sind Transmembranproteine, die nach dem Kontakt mit dem coronaviralen S-Protein, den Eintritt des Virus in die Wirtszelle ermöglichen<sup>23</sup>.

Die erfolgreiche Hemmung, der Interaktion von ACE-2 Rezeptor und SARS-CoV-2 Spike-Protein, könnte eine COVID-19 Infektion in einer sehr frühen Phase des viralen Lebenszyklus stoppen.

Nach erfolgreichem Eintritt in die körpereigene Zelle beginnt der virale Replikationszyklus. Die virale Hauptprotease (MPro) sorgt für das weitere Prozessieren von Polyproteinen, die bei der Translation entstanden sind. Ihre Funktion ist essenziell<sup>74</sup>.

Der Sigma-1 Rezeptor befindet sich im Endoplasmatischen-Retikulum und ist beteiligt an der Zellreaktion auf Stress. Außerdem interagiert Sigma-1 mit dem Nicht-Struktur-Protein NSP6 des Virus, welches den RTK mit dem ER in Verbindung bringt und autolytische Prozesse leitet<sup>29</sup>.

Diese Interaktionen wurden bereits in mehreren Studien belegt, welche die Wirksamkeit von Azelastin im Falle einer SARS-CoV-2 Infektion *in vitro* getestet haben.

Eine Studie von URSAPHARM und CEBINA (Central European Biotech Incubator and Accelerator) hat die Wirksamkeit von Azelastin-haltigem Nasenspray *in vitro* getestet<sup>75</sup>. Dazu wurden Vero E6 Zellen (Nierenzellen einer afrikanischen grünen Meerkatze) mit SARS-CoV-2 infiziert. Einige Medien wurden vor der Gabe von Azelastin mit SARS-CoV-2 Viren in Kontakt gebracht und andere erst danach, zur Erforschung von sowohl präventiven als auch therapeutischen Stärken der Medikation.

Es zeigte sich, dass Azelastin *in vitro* wirksam ist<sup>75</sup>.

Darauf basierend, wurde im Anschluss, MucilAir™ menschliche rekonstruierte Nasenschleimhaut mit dem Virus infiziert und anschließend mit einer 5-fach niedrigeren Dosis des herkömmlichen Azelastin-Nasensprays (0.02%) versetzt. Ergebnisse veranschaulichten eine gravierende Reduktion der Virenlast von über 99.9% nach 72h<sup>75</sup>.

Reznikov L. *et al.* untersuchten in Ihrer Studie den Zusammenhang zwischen der vorherigen Einnahme von Antihistaminika und des Erlangens eines negativen COVID-19 Abstriches. Zudem führten sie *in vitro* Experimente zur direkten antiviralen Wirkung einzelner Antihistamin Präparate durch, darunter auch Azelastinhydrochlorid, indem sie die Kapazität der Medikamente, die Virus Replikation zu hemmen, untersuchten.

Potenzielle Bindungen zwischen ACE-2 Rezeptoren und Sigma-1 Rezeptoren wurden getestet<sup>46</sup>.

In der Studie, ergab sich ein auffällig niedrigerer Wert an positiven COVID-19 Abstrichen in der Gruppe der älteren Patienten (>61 Jahre), die Antihistamin Medikamente einnahmen.

Nach Evaluation der einzelnen Medikamente auf ihre antivirale Wirksamkeit, zeigten Hydroxyzin, Diphenhydramin und Azelastin hemmende Wirkung *in vitro*.

Vor allem Azelastin zeigte eine starke Bindung für beide, den ACE-2 Rezeptor und den Sigma-1 Rezeptor, *in vitro* <sup>46</sup>.

Ähnliche Ergebnisse verzeichnete auch eine Studie von Ge S. *et al.*, die sich im Speziellen auf die Interaktion zwischen dem ACE-2 Rezeptor und dem SARS-CoV-2 Virus konzentrierte. Auch hier wurden Experimente zur Bindungsstelle und Bindungskraft des ACE-2 Rezeptors zu Azelastinhydrochlorid durchgeführt, die ebenfalls zeigten, dass Azelastin eine hohe Affinität und eine moderate Bindungsstärke zum ACE-2 Rezeptor aufwies <sup>76</sup>.

Durch molekulares Docking („docking“ = einpassen) wurde hervorgehoben, dass es Azelastin möglich ist, an die aktive Bindungsstelle des ACE-2 Rezeptor anzudocken.

*In vitro* bestätigte sich auch hier, dass die infizierten Zellen sich *in vitro* auffällig verringerten und der Eintritt des SARS-CoV-2 Virus in die Wirtszelle, unter Azelastinhydrochlorid Zugabe, gehemmt wurde. Jedoch wurde auch eine Konzentrationsabhängigkeit beobachtet, denn nur in Kulturen, die mit einer Konzentration von über 0.5µM behandelt wurden, zeigte sich eine auffällige Viruslast Verringerung <sup>76</sup>.

Auch wurde in dieser Studie eine Toxizität festgestellt. So ergab sich, dass bei Konzentrationen über 50µM die Zytotoxizität maßgeblich stieg, während Konzentrationen bis zu 20µM keine Gefährdung darstellten <sup>76</sup>.

Yang L. *et al.* untersuchten 1800 zugelassene Medikamente, die den Eintritt von SARS-CoV-2 in die Wirtszelle stoppen könnten. Von diesen 1800 Medikamenten zeigten 15 eine spezifischere Wirkung auf den Zelleintritt durch das Spike-Protein <sup>77</sup>. Sieben derer, senkten die Viruslast um ein 10-faches, bereits nach dem ersten Behandlungstag. Unter diesen sieben wirksamen Medikamenten waren drei der Klasse der Antihistaminika, im speziellen Azelastin, Clemastin und Trimepazin <sup>77</sup>.

Auch in dieser Studie, wurde eine beinahe gänzliche Hemmung der Virusvermehrung verdeutlicht, wie auch eine ausbleibende Toxizität bei Konzentrationen niedriger als 20µM <sup>77</sup>.

In Bezug auf die Interaktion, zwischen Azelastin und der viralen Hauptprotease, des SARS-CoV-2 Virus, hat sich in folgenden Studien ergeben, dass Azelastin die Wirkung dieser hemmt.

Die Hauptprotease „3CL“ ist ein sehr konservierter Bestandteil des Virus und ist essenziell für die virale Replikation. Demnach wurde diese Hauptprotease, als guter Angriffspunkt, um den viralen Lebenszyklus zu unterbrechen, gesehen und daraufhin näher untersucht.

Getestet wurden, in der Studie von Odhar H.A. *et al.*, 1615 von der FDA (U.S. Food and Drug Administration) zugelassene Medikamente. Es wurden molekulare Docking Verfahren angewandt, um die Stärke der Bindung zwischen den jeweiligen Medikamenten und der viralen Hauptprotease, zu bestimmen <sup>78</sup>. Unter den zehn bindungsstärksten Medikamenten

waren vier Präparate zu Behandlung von malignen Erkrankungen, sowie zwei Präparate, die das zentrale Nervensystem beeinflussen, welche aus Sicherheitsgründen von weiteren Untersuchungen ausgeschlossen wurden. Weiter examiniert wurden Conivaptan und Azelastin. Ergebnisse aus zusätzlichen Ligand-Protein Docking Verfahren zeigten hydrophobe Wechselbeziehungen zwischen beiden Medikamenten und der SARS-CoV-2 Hauptprotease<sup>78</sup>. Beide Bindungen wurden im Equilibrium als stabil eingestuft<sup>78</sup>.

Des Weiteren hat Ghahremanpour M. *et al.* ebenfalls 2000 bereits von der FDA zugelassenen Medikamente virtuell getestet. Er beschäftigte sich nicht nur mit der Bindung der Hauptprotease, sondern vielmehr mit der Hemmung dieser. Nach ersten Selektionen blieben 42 Medikamente übrig, von denen 17 letztendlich näher auf ihre hemmende Wirkung der virale Hauptprotease untersucht wurden. Insgesamt 14 der 17 Medikamente zeigte eine Hemmung bei einer Konzentration von 100µM. Darunter auch Azelastin, welches im Vergleich zu anderen getesteten Präparaten eine moderate Aktivität aufwies<sup>79</sup>.

Alle drei erforschten Angriffspunkte, ergaben *in vitro* eine Interaktion mit Azelastin und zeigten eine Hemmung der Infektion an verschiedenen Punkten des viralen Lebenszyklus.

Auch ist zu nennen, dass sich Antihistaminika, neben ihrer, durch die erläuterten Studien bewiesene antivirale Wirkung, auch anderweitig positiv auf eine SARS-CoV-2-Infektion auswirkten. Da Azelastinhydrochlorid vor allem die Degranulation von Mastzellen und so die Ausschüttung von Histamin, Leukotrienen und entzündungsfördernden Zytokinen hemmt, wird durch ihre Applikation auch, der durch Zytokine verursachte entzündliche Schaden des Lungengewebes, verringert<sup>75,77</sup>.

Da ACE-2 Rezeptoren nicht nur in der Lunge vorkommen, kann eine COVID-19-Infektion multiple Organe befallen und schädigen. Mastzellen könnten hier, durch die übermäßige Ausschüttung von entzündlichen Mediatoren (Zytokinsturm) und die Aktivierung von Fibroblasten, maßgeblich zur Entstehung von fibrotischen Veränderungen des Lungengewebes sowie anderen entzündlichen Vorgängen beitragen<sup>80</sup>. Daher, wird derzeit vermutet, dass Antihistaminika auch gegen das Long-Covid-Syndrom nützlich sein könnten<sup>81</sup>. Jüngste Fallreporte der Universitäten Carolina und Indiana stellten zwei Damen mittleren Alters vor, die am Long-Covid-Syndrom litten. Nachdem in beiden Fällen ein Antihistamin Präparat verabreicht wurde, besserten sich, die seit Monaten konstanten Symptome, schlagartig<sup>82</sup>.

Bis dato wurden jedoch noch keine Studien zur Wirksamkeit von Antihistaminika bei Long-Covid Patienten durchgeführt.

Azelastin zeigt zum jetzigen Forschungsstand *in vitro* vielversprechende Ergebnisse in Hinblick auf die Behandlung von SARS-CoV-2 Infektionen. Dennoch, können dadurch noch keine Aussagen über die tatsächliche Wirkung *in vivo* getätigt werden. Auch Hydroxychloroquin zeigte im *in vitro* Test mit infizierten Vero E6 Zellen ähnliche Wirksamkeit

wie Azelastin, konnte *in vivo* jedoch keine vergleichbaren Ergebnisse erzielen, da es keine Wirkung auf das Virus in menschlichem respiratorischen Epithel hatte <sup>75</sup>.

Zwar wurde die Wirksamkeit von Azelastin im rekonstruierten Nasenschleimhautgewebe *in vitro* bereits bewiesen <sup>75</sup>, gleichwohl sollte dieser vielversprechende Ansatz *in vivo* bestätigt werden.

### **1.3. Fragestellungen und Ziel der Arbeit**

Seit Anbeginn der Pandemie stellt deren Bekämpfung ein großes globales Problem dar. Trotz der Möglichkeit einer Impfung erkranken und versterben immer noch viele Menschen an der neuartigen Infektionskrankheit. Bis zum jetzigen Zeitpunkt sind zwar einige Medikamente zur Behandlung zugelassen jedoch hauptsächlich zur Behandlung von schweren Verläufen mittels Injektion oder Infusion im Krankenhaus. Zudem, sind die meisten dieser Medikamente sehr teuer und mit einigen Nebenwirkungen in Verbindung zu bringen <sup>53</sup>.

Einige Studien beschäftigten sich bereits mit der Wirksamkeit von Antihistaminika in der Behandlung von SARS-CoV-2 Infektionen. Ein besonderes Augenmerk war dabei auf den Wirkstoff Azelastinhydrochlorid gerichtet, ein H1-Antagonist Präparat der zweiten Generation. Azelastinhydrochlorid zeigte *in vitro* Interaktionen mit den zelleigenen ACE-2 und Sigma-1 Rezeptoren sowie der viralen Hauptprotease <sup>64-71</sup>.

Daraus lässt sich schließen, dass Azelastinhydrochlorid sowohl den Eintritt des Virus hemmt, sowie seine Replikation. Eine frühzeitige Therapie von Erkrankten ist wichtig, um die Progression hin zu einem schweren Verlauf zu stoppen und weitere Ansteckungen zu vermeiden.

Azelastinhydrochlorid ist ein sehr gut verträgliches Medikament, das lokal als Nasenspray zur Behandlung von allergischer und vasomotorischer Rhinitis angewendet wird. Es ist einfach zu applizieren und kostengünstig wie auch frei verkäuflich in Apotheken erhältlich.

Somit ist es für eine sehr breite Bevölkerung zugänglich und stellt eine vielversprechende Möglichkeit zur Bekämpfung der Pandemie dar.

Die Literaturrecherche zeigt eindeutig positive Ergebnisse zur Wirksamkeit von Azelastinhydrochlorid hinsichtlich der Behandlung von SARS-CoV-2 Infektionen.

Da bis zum jetzigen Zeitpunkt keine *in vivo* Studie bezüglich dieser Ergebnisse durchgeführt wurde, konnten die präklinischen Erkenntnisse noch nicht bestätigt werden.

Eine Einordnung der erlangten Resultate dieser Dissertation erfolgt im Kapitel der Diskussion.

In der vorliegenden Dissertation soll insbesondere auf die Fragestellung, ob Azelastin-Nasenspray eine Wirkung auf die Reduktion der Viruslast von COVID-19 positiven Patienten hat, eingegangen werden.

Sekundär soll außerdem die Auswirkung auf die Virusausscheidung, der klinischen Symptomatik und dem Wohlbefinden der Patienten, näher untersucht werden.

Hierfür wurde eine prospektive, randomisierte, Placebo-kontrollierte, doppelblinde, proof-of-concept Studie mit Patienten, die zuvor positiv auf das SARS-CoV-2 Virus getestet wurden, durchgeführt. Es gab zwei Gruppen, die mit verschiedenen Dosen von Azelastin-haltigem Nasenspray behandelt wurden, sowie eine Placebo-Gruppe.

Über eine Behandlungsdauer von 11 Tagen, wurden die Patienten von Prüfern betreut und an 7 Visiten untersucht. Zudem wurden bei diesen Visiten nasopharyngeale Abstriche entnommen, die als Probe zur quantitativen RT-PCR Analyse dienten.

Alle Patienten füllten Tagebücher zur Dokumentation von Symptomen und Wohlbefinden aus, sodass ein etwaiges Auftreten von Nebenwirkungen oder eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes engmaschig beobachtet werden konnten.

Auf diese Weise konnte zum einen die Reduktion der Viruslast und zum anderen der klinische Verlauf der Erkrankung nachvollzogen und ausgewertet werden.

Eine auffällige Reduktion der Viruslast nach Applikation von Azelastin-haltigem Nasenspray würde als Anhaltspunkt für dessen Wirksamkeit gewertet werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Studiendesign und Ablauf der Studie

Es handelt sich um eine prospektive, randomisierte, doppel-blinde, Placebo-kontrollierte, proof-of-concept Studie in Phase II.

Die sogenannte CARVIN (COVID-19: Azelastine nasal spray Reduces Virus-load In Nasal swabs) Studie, beschäftigt sich mit der Wirksamkeit von Azelastin-haltigem Nasenspray in der frühen Phase einer SARS-CoV-2 Infektion<sup>83</sup>.

Das Studienzentrum war die Fachklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde der Universitätsklinik zu Köln.

Patienten wurden im Zeitraum des 09.03.2021 – 28.04.2021 rekrutiert und mittels Ein- und Ausschlusskriterien gefiltert (siehe Kapitel 2.2). Ein Patientenkollektiv von 90 Patienten wurde angestrebt. Der letzte Patient beendete am 26.06.2021 die Studie.

An Tag 1 (Visite 1) wurden alle Patienten vorab umfangreich über Risiken und Nebenwirkungen aufgeklärt und gebeten, der Studienteilnahme mittels Unterschrift zuzustimmen.

Von ursprünglich 150 rekrutierten Patienten stellten sich 90 als geeignet heraus.

Geeigneten Patienten wurde eine Fallnummer zugeordnet. Patienten wurden vorab untersucht und Nebenerkrankungen sowie Medikationen wurden mittels der zugehörigen Patienten ID dokumentiert.

Das Patientenkollektiv umfasste Patienten im Alter von 19-60 Jahren, die zum gegebenen Zeitpunkt alle an COVID-19 erkrankt waren. Die Diagnosesicherung erfolgte durch einen Abstrich im Nasen-Rachen-Raum und folgender RT-PCR Analyse.

Danach erfolgte die Randomisierung in einer der drei Behandlungsgruppen. Zwei Gruppen erhielten verschiedene Dosen von Azelastin-haltigem Nasenspray. Zum einen die herkömmliche Dosis des Azelastin-haltigen Nasensprays (1mg/ml = 0.1%) und zum anderen eine auf ein Fünftel verringerte Dosis (0.02mg/ml = 0.02%), basierend auf den in vitro Ergebnissen der CEBINA Studie<sup>75</sup>. Die dritte Gruppe erhielt ein Placebo Präparat.

Die Behandlungsdauer betrug 11 Tage, basierend auf den Erkenntnissen von Gottlieb *et al.*, in dessen Studie die Viruslast am 11. Tag auffällig abfiel<sup>54</sup>. Alle Patienten wurden aufgefordert, das erhaltene Präparat nicht, wie nach Beipackzettel, zweimal täglich pro Nasenloch anzuwenden, sondern dreimal täglich (alle 6-8h), je ein Sprühstoß pro Nasenloch. Nach Vollendung der 11-tägigen Behandlung wurde ein Follow-up bis zum 60 Tag nach Beginn angesetzt.

Während der aktiven Phase der Behandlung wurden die Patienten insgesamt 7-mal von Prüfärzten in der häuslichen Quarantäne besucht (an Tagen 1, 2, 3, 4, 5, 8 und 11). Diese Besuche dienten zur Erfassung von Anamnesen und der klinischen Untersuchung, wie auch der Abnahme von nasopharyngealen Abstrichen für quantitative RT-PCR Analysen.

Während der gesamten Dauer der aktiven Behandlungsphase füllten die Patienten e-Tagebücher aus, zur Erfassung ihres allgemeinen Gesundheitsstatus. Außerdem wurde an 5 Terminen der SF-36 Fragebogen zur Lebensqualität bearbeitet.

Weibliche Patienten erhielten zudem an Tag 16 einen Besuch zum Urin-basierten Schwangerschaftstest. Männer erhielten lediglich einen Follow-up-Anruf an diesem Tag. An Tag 60 erfolgte ein letzter Anruf.

Als primärer Endpunkt der Studie galt der Abfall der Viruslast, ermittelt durch quantitative RT-PCR Analysen aus Nasen-Rachen-Abstrichen.

Als sekundäre Endpunkte galten:

- der 10-fache Abfall der Viruslast in 3 Tagen
- die Verbesserung der Symptomatik
- der allgemeine Gesundheitsstatus ermittelt durch die 11-Kategorien WHO Skala
- die Lebensqualität ermittelt durch den SF-36 Fragebogen
- die Veränderung in Temperatur und Sauerstoffsättigung
- das Auftreten von Nebenwirkungen

Das uneingeschränkt positive Votum der Ethikkommission der Universität zu Köln liegt mit der Referenznummer: 20-1728\_1-AMG-ff vom 10.02.2021 vor.

## **2.2. Einschluss und Ausschlusskriterien**

Als zu erfüllende Einschlusskriterien der Studie galten, wie folgt:

- Patienten, die befugt sind, Einverständniserklärungen zu unterschreiben
- Patienten im Alter von 18-60 Jahren
- Patienten mit einem positiven SARS-CoV-2 PCR Test (mit oder ohne Symptome)
- Patienten mit einem positiven PCR-Test nicht älter als 48h
- Weibliche Patienten, die nicht schwanger oder stillend sind, mit angemessener Verhütungsmethode bis mindestens Tag 16, oder nachgewiesener Unfruchtbarkeit
  - Als adäquat gelten: die Pille, die Mini-Pille, die Kupferspirale, die Hormonspirale, ein Eileiterverschluss, eine Vasektomie und Abstinenz

Als Ausschlusskriterien galten wie folgt:

- Patienten, die eine Krankenhausversorgung benötigen
- Patienten, die noch an anderen Studien teilnehmen oder in Studien teilgenommen haben (30 Tage vor Einschluss)
- Patienten, deren SARS-CoV-2 RT-PCR Test länger als 48h zurückliegt
- Patienten, die eine persönliche Beziehung zum Sponsor, einem Mitglied des Auftragsforschungsinstituts oder einem Prüfarzt haben
- Patienten, die ein Risiko haben, einen schweren Verlauf zu erleiden
- Patienten, die Aufforderungen oder Studiendokumente nicht verstehen können
- Patienten, die Nasenspray nicht selbstständig applizieren können
- Patienten, die verhaftet oder eingewiesen sind (z.B. im Gefängnis oder in der Psychiatrie)
- Frauen, die schwanger, stillend oder ohne sichere Verhütungsmethode leben
- Patienten, die gleichzeitig andere Antihistaminika einnehmen
- Patienten, die gleichzeitig weitere Nasensprays verwenden
- Patienten mit Kontraindikation zu Azelastinhydrochlorid

### **2.3. Randomisierung und Verblindung**

Alle Patienten erhielten eine Patientenidentifikationsnummer während der ersten Visite. Über diese Nummer liefen alle Tests und Dokumente der Studie.

Die Patienten-ID besteht aus zwei Zahlen für den Studiencenter und drei Zahlen zur Identifikation (z. B. 01-012). Da nur Patienten im Studienzentrum Köln untersucht , tragen alle Patienten die Nummer 01 vor ihrer Patienten-ID. Die Nummern wurden chronologisch nach Einschlussdatum verteilt.

Ein externer Statistiker hat die Randomisierung mittels eines Computerprogramms durchgeführt.

Die Randomisierungsliste wurde dann URSAPHARM Arzneimittel GmbH, Saarbrücken, zur Fertigstellung der Behandlungssets übermittelt. Die fertig gepackten Behandlungsproben wurden zurück in das Studienzentrum gesendet.

URSAPHARM hat die Randomisierungsliste bis zum Ende der Studie aufbewahrt. Niemand, der aktiv am Vollzug der Studie beteiligt war, hatte Zugang zu diesen Daten. Die Verblindung durfte nur gebrochen werden, wenn eine akute Gefahr für den Patienten bestanden hätte.

## **2.4. Prüfmedikation**

Die Patienten wurden gemäß Randomisierungsliste zu gleichen Teilen einer von drei Behandlungsgruppen zugewiesen:

- Azelastinhydrochlorid 1mg/ml (0.1%) gleich dem Produkt Pollival®
- Azelastinhydrochlorid 0.02mg/ml (0.02%)
- Placebo

Alle Präparate bestanden aus Hypromellose, Dinatriumedetat-2-Wasser, Dinatriumhydrogenphosphat-12-Wasser, Zitronensäure, Natriumchlorid und gereinigtem Wasser. Zwei, der drei Nasensprays, waren zusätzlich mit dem Wirkstoff Azelastinhydrochlorid versetzt.

## **2.5. Methoden**

### **2.5.1. Klinische Untersuchung**

Insgesamt waren 7 klinische Untersuchungsvisiten (V1-7) durch Prüfärzte angesetzt. Zusätzlich fanden zwei Follow-up Visiten statt (V8-9).

Am ersten Tag (Visite 1) wurden Ein- und Ausschlusskriterien überprüft und die Einwilligungserklärung unterschrieben. Die Patienten wurden untersucht und ihre Begleiterkrankungen sowie Medikationen wurden dokumentiert. Jeder Patient erhielt sein Präparat mit genauen Anweisungen zur Behandlung und persönliche Login Daten zum elektronischen Tagebuch. Demographische Daten wie Größe, Gewicht und Alter wurden einmalig bestimmt. Die Prüfärzte maßen die Temperatur und Sauerstoffsättigung, führten den ersten Nasen-Rachen-Abstrich für die quantitative RT-PCR Analyse durch und kontrollierten die erste Einnahme der Prüfmedikation. Bei weiblichen Patienten wurde ebenfalls ein Urintest zum Ausschluss einer Schwangerschaft durchgeführt. Die Patienten wurden aufgefordert, Symptome selbstständig täglich im elektronischen Tagebuch einzugeben.

Mögliche Nebenwirkungen, schon nach erster Applikation, wurden dokumentiert und Fragebögen zum allgemeinen Gesundheitsstatus und der Lebensqualität wurden ausgefüllt.

Die zweite und vierte Visite (Tag 2. und 4.), beinhaltete lediglich die Abnahme der nasopharyngealen Abstriche und darauffolgenden RT-PCR Analyse, die Temperaturmessung und die Beurteilung des allgemeinen Status und des Nebenwirkungsprofils.

Bei Visite 3 wurde zusätzlich die Sauerstoffsättigung gemessen.

Neben diesen Parametern wurde auf Visite 5 und 6 (Tag 5 und 8) auch erneut der SF-36 Fragebogen ausgefüllt.

Auf der letzten Visite (V7) an Tag 11, wurden nach Eingabe der Parameter die Tagebücher deinstalliert und die Prüfmedikation eingesammelt. Die Prüfärzte führten eine letzte Untersuchung zur Wirksamkeit und Verträglichkeit durch.

Eine Besonderheit für weibliche Patienten, war es, dass die Prüfärzte statt eines telefonischen Follow-up Gesprächs an Tag 16 (V 8), erneut persönlich erschienen, um erneut einen Schwangerschaftstest (Urin) durchzuführen.

Die letzte Kontrolle erfolgte für alle Patienten am 60ten Tag durch einen Anruf (V 9), bei dem das Nebenwirkungsprofil und der allgemeine Gesundheitsstatus besprochen wurde.

Während allen Visiten wurden allgemeine Hygienestandards befolgt. Den Prüfärzten stand persönliche Schutzausrüstung zur Verfügung. Desinfektion und Reinigung von Händen sowie Materialien wurde gemäß dem RKI (Robert Koch Institut) Empfehlung durchgeführt. Die Entsorgung von Abfällen geschah in der ambulanten Versorgung über den infektiösen Restmüll der Universitätsklinik <sup>84</sup>

Es fand keine Virusübertragung durch Visiten statt.

**Tabelle 1: Untersuchungen der Behandlungsphase**

Tage	Aktive Behandlungsphase											Follow-up	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	16	60
Visiten	V1	V2	V3	V4	V5			V6			V7	V8	V9
Demographische Daten	X												
Temperatur	X	X	X	X	X			X			X		
Sauerstoffsättigung	X		X		X			X			X		
Nasen-Rachen-Raum Abstrich & PCR Analyse	X	X	X	X	X			X			X		
Schwangerschaftstest	X											X	
Patienten Status	X	X	X	X	X			X			X		X
Nebenwirkungsprofil	X	X	X	X	X			X			X	X	X
E-Tagebuch Eintrag Symptome	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
SF-36 QoL	X				X			X			X		
Abschlussuntersuchung											X		

### **2.5.2. Nasopharyngealer Abstrich und quantitativer RT-PCR Test**

An allen 7 Visiten wurden von Prüfärzten Abstriche im Nasen-Rachen-Raum der Patienten durchgeführt. Dazu wurden Abstrichstäbchen mit einer mit Nylon geflockten Spitze der Firma "Biocomma" verwendet (Seriennummer: SW01E). Nach der Abnahme wurden die Abstriche in ebenfalls von Biocomma bereitgestellten, mit Transportflüssigkeit gefüllten Röhrchen, zum Labor transportiert. Im Falle einer Verzögerung des Transportes über 24 Stunden wurden die Proben bei einer Temperatur von 2-8°C aufbewahrt.

Das zuständige Labor war im Institut für Virologie der Universitätsklinik Köln angesiedelt. Die Proben wurden mittels quantitativer RT-PCR Analyse auf ihre Viruslast geprüft. Dafür wurde der cobas® SARS-CoV-2 Test des cobas® 6800 Systems genutzt (Roche Diagnostic, Mannheim, Germany). Als Angriffspunkte dienten das ORF1a/1b-Gen und das E-Gen, des Corona viralen Genoms. Quantifiziert wurden die SARS-CoV-2 RNA in Kopien pro Milliliter, durch den Ct-Wert, welcher mit einer standardisierten Kopien-Nummer verglichen wurde, um Rückschlüsse auf die Viruslast zu ziehen. Diese verglichenen Bezugsproben mit bekannten Kopien-Nummern von  $10^6$  und  $10^7$  Kopien/ml (cp/ml) (INSTAND e.V. Düsseldorf), dienten dazu als Referenzmaterial, um die Variation von Ct-Wert Analysen der Studie zu minimieren und die mittlere Viruslast (cp/ml) berechnen zu können <sup>85</sup>.

Nur Proben, mit mindestens einem positiven Ergebnis in einem der beiden Angriffspunkte, wurden als SARS-CoV-2 positiv gewertet <sup>83</sup>.

Basierend auf der Studie von Pujadas *et al.* wurde eine durchschnittliche Viruslast von 5.5 log<sub>10</sub> cp/ml ( $\pm 3SD$ ) im Patientenkollektiv erwartet <sup>86</sup>.

### **2.5.3. SF-36 Fragebogen zur Lebensqualität**

Der SF-36 Fragebogen, zur Lebensqualität, umfasst insgesamt 36 Kategorien. Abgefragt wurden diese, eingeteilt in acht, mit Skalen bewerteten Domänen. Diese umfassten: körperliche Funktionsfähigkeit, körperliche Schmerzen, Vitalität, allgemeine Gesundheitswahrnehmung, körperliche Rollenfunktion, emotionale Rollenfunktion, soziale Funktionsfähigkeit und psychisches Wohlbefinden <sup>87</sup>.

Die Gewichtung aller Fragen war gleichwertig und die Bewertung fand auf einer Skala von 0 bis 100 statt. Dabei war eine Punktzahl von 100 das Äquivalent zu „keiner Einschränkung“.

Die Patienten füllten den SF-36 Fragebogen während der Behandlungsphase insgesamt 4-mal aus.

#### 2.5.4. WHO Patienten-Status

Der allgemeine Status der Patienten wurde anhand der WHO 11-Kategorien Auswertungsskala ermittelt. Die Prüffärzte kategorisierten an insgesamt 8 Visiten den Patienten-Status auf einer Skala von 1 bis 10 als:<sup>88</sup>

- nicht infektiös (0)
- ambulant versorgte milde Krankheit
  - asymptomatisch, positiver PCR Test (1)
  - symptomatisch, selbstständig (2)
  - symptomatisch, Hilfe benötigt (3)
- krankenhauspflichtig, moderate Krankheit
  - keine Sauerstofftherapie (4)
  - Sauerstofftherapie via Nasenbrille oder Maske (5)
- Krankenhauspflichtig, schwere Krankheit
  - Schnell-fluss (engl.: high flow) Sauerstoff (6)
  - Intubation und Beatmung,  $pO_2/FiO_2 \geq 150$  oder  $SpO_2/FiO_2 \geq 200$  (7)
  - Beatmung oder Vasopressoren,  $pO_2/FiO_2 < 150$  oder  $SpO_2/FiO_2 < 200$  (8)
  - Beatmung,  $pO_2/FiO_2 < 150$  und Vasopressoren, Dialyse, oder ECMO (9)
- Tot (10)

Zusätzlich wurde bei jeder Visite die Körpertemperatur der Patienten gemessen und an 5 Visiten ebenfalls die Sauerstoffsättigung.

#### 2.5.5. Symptome

Alle Patienten erhielten am ersten Behandlungstag einen Zugang zu einem elektronischen Tagebuch, das sie täglich vervollständigen sollten. Auf einer Skala von 1 bis 5 wurde die Intensität der Symptome angegeben. Dabei galt:

- 1 = sehr schwach oder abwesend
- 2 = schwach
- 3 = weder stark noch schwach
- 4 = stark
- 5 = sehr stark

Insgesamt wurden 21 Symptome abgefragt: Geruchsverlust, Geschmacksverlust, Appetitverlust, Husten, Halsschmerzen, Kurzatmigkeit, Schnupfen, Konjunktivitis, Hautausschlag, Schwellung der Lymphknoten, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall,

Bauchschmerzen, Lungenentzündung, Schwäche, Kopfschmerzen, Muskelschmerzen, Erschöpfung und Schläfrigkeit. Das Auftreten von Fieber ( $>38^{\circ}\text{C}$ ) wurde entweder als präsent, mit 3 codiert oder mit 0 als a-febril.

Symptome wurden sowohl individuell als auch als zusammengefasstes Ergebnis (engl.: sum score) ausgewertet.

Als „sum score“ konnte demnach eine minimale Punktzahl von 20 und eine maximale Punktzahl von 103 vergeben werden<sup>83</sup>.

### **2.5.6. Nebenwirkungen und Verträglichkeit**

Das Auftreten von Nebenwirkungen wurde von den Prüfarzten während jeder Visite anhand von Anamnesen und Untersuchungen erhoben. Zusätzlich wurde an beiden Follow-up Terminen telefonisch das neue Auftreten oder Anhalten von Nebenwirkungen besprochen.

Als Nebenwirkung waren alle unerwartet auftretenden Symptome, die sich erstmalig nach der Einnahme der Prüfmedikation ereigneten, definiert. Dabei spielte keine Rolle, ob diese Symptome letztendlich mit der Prüfmedikation in Verbindung gebracht werden konnten. Bereits vorher bestehende Krankheiten galten nicht als Nebenwirkung.

Nebenwirkungen waren unterteilt in leichte und schwere Nebenwirkungen. Wenn die auftretenden Nebenwirkungen nicht im Beipackzettel des Medikaments gelistet waren, wurden sie als „unwahrscheinlich“ kategorisiert, bei Listung als „wahrscheinlich“.

Vermerkt wurde außerdem, ob eine Gegenmaßnahme ergriffen wurde oder ein Einnahmestopp der Prüfmedikation veranlasst wurde. Alle anhaltenden Nebenwirkungen nach dem 60 Tag wurden dokumentiert und solange nachbetreut, bis eine Resolution erreicht war.

Am letzten Tag (Tag 60) wurden sowohl die Patienten, als auch die Prüfarzte aufgefordert, eine Abschlussbeurteilung zur Wirksamkeit und Verträglichkeit der erhaltenen Medikation abzugeben. Bewertet wurden beide Parameter mit „sehr gut“ (4), „gut“ (3), „moderat“ (2), „weniger gut“ (1) oder „schlecht“ (0).

## **2.6. Patientenkollektiv**

Von initial 150 getesteten Patienten zeigten sich 90 als geeignet. 29 dieser Patienten wurden der 0.1% Azelastin Gruppe, 31 Patienten der 0.02% Azelastin Gruppe und 30 Patienten der Placebo-Gruppe zugeordnet.

## 2.7. Statistische Auswertung

Die CEBINA Studie, hat mit Versuchen in Vero E6 Zellen und an rekonstruierter menschlicher Nasenschleimhaut gezeigt, dass innerhalb von 72 Stunden eine 99.9% Verringerung der Viruslast merkbar war, unter Behandlung mit Azelastinhydrochlorid <sup>75</sup>. Dadurch ließ sich vermuten, dass auch *in vivo unter* Azelastin-Behandlung die Viruslast um log3 innerhalb von 3 Tagen sinkt, während Patienten der Placebo-Gruppe keinen vergleichbaren Abfall verzeichnen sollen.

Es wurde angenommen, dass alle Patienten eine vergleichbare Anfangsviruslast aufwiesen (Mittelwert: 5.5log10 Kopien/ml  $\pm$ 3SD <sup>83</sup>). Der Wert der geschätzten Ausgangsviruslast ergab sich aus anderen vorangegangenen Studien <sup>86</sup>. Mit einer Standardabweichung von 3 und einem zwei-seitigen Signifikanzniveau von  $\alpha=0.05$  bei einer Teststärke von 90% wurde eine benötigte Teilnehmerzahl von 90 Teilnehmern berechnet, da die geschätzte Drop-out-Rate bei 20% liegen würde.

Aus diesen Annahmen ließ sich eine optimale Gruppengröße von 23 Teilnehmern festlegen.

Für statistische Analysen dieser Studie wurde das Programm IBM SPSS für Windows (Version 25+) genutzt (Armonk, New York, IBM Corp.). Es wurden explorative wie auch deskriptive Datenanalysen vorgenommen. Dabei wurden kategoriale Variablen mithilfe von Prozentangaben und Häufigkeitstabellen ausgewertet. Kontinuierliche Variablen wurden mittels des Medians, des Mittelwerts, der Standardabweichung, des Minimums, des Maximum und der Quantilen untersucht.

Fehlende Werte wurden nicht ersetzt.

Alle Daten wurden mittels des Shapiro-Wilk Test auf Normalverteilung geprüft.

Eines der grundlegenden Ziele war es, den Abfall der Viruslast innerhalb der verschiedenen Behandlungsgruppen zu vergleichen.

Dazu wurde eine Auswertung durch den Chi-Quadrat-Test für kategoriale Variablen genutzt und der t-Test, Mann Whitney-U-Test sowie die einfache ANCOVA Analyse für kontinuierliche Variablen.

Da es sich um multiple Testproben handelt wurde das Signifikanzniveau durch die Bonferroni – Korrektur angepasst, um einer Alphafehler-Kumulierung entgegenzuwirken.

Ein Signifikanzniveau von  $\alpha=5\%$  wurde festgelegt <sup>83</sup>.

### 3. Ergebnisse

Das Ziel dieses Vorhabens war es, durch regelmäßige Abstrich-nahmen und RT-PCR Testungen, den Abfall der Viruslast unter Azelastinhydrochlorid Behandlung zu zeigen und ebenfalls die Wirksamkeit auf den klinischen Verlauf der Krankheit zu bestimmen. In diesem Teil der Arbeit, sollen neben den primären und sekundären Endpunkten, auch die Ergebnisse der post-hoc Analyse dargelegt werden.

#### 3.1. Patienten

Eingeschlossen waren 90 Patienten, von denen 29 mit 0.1% Azelastin, 31 mit 0.02% Azelastin und 30 mit Placebo-Nasenspray behandelt wurden (Safety Population; engl.: Sicherheitspopulation = Alle randomisierten Patienten, die, die Testmedikation angewendet haben).

Die Auswertungspopulation (ITT Gruppe; engl.: Intention To Treat) umfasste 81 Patienten, da 1 Patient der 0.1% Azelastin Gruppe, 3 Patienten der 0.02% Azelastin Gruppe und 2 Patienten der Placebo-Gruppe einen falsch-positiven SARS-CoV-2 Test bei Einschluss hatten (mITT Gruppe; engl.: modified Intention To Treat) und demnach ab Studienbeginn nur negative Tests aufwiesen, zudem wiesen 3 weitere Patienten fehlende Ausgangsergebnisse des PCR Tests auf (Ein Patient der 0.1% und zwei der Placebo-Gruppe).

Die PP Gruppe (engl.: per protocol) umfasst all die Patienten, die der ITT Gruppe angehören und die Studie ohne Protokollabweichungen beendet haben.

In der bearbeiteten Studie gab es keine Drop-outs (engl.: Ausfall; Ausscheiden eines Patienten bevor Beendigung der Studie).

(siehe Tabelle 2).

**Tabelle 2: Demographische Daten des Patientenkollektivs (Safety Gruppe)**

			Gruppe				p
			0.1%	0.02%	Placebo	Total	
			(A)	(B)	(C)		
Safety	1	n	29 <sup>a</sup>	31 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>	90	
mITT	0	n	1	3	2	6	0,627
	1	n	28	28	28	84	
ITT	0	n	2	3	4	9	0,710
	1	n	27	28	26	81	
PP	0	n	14	15	14	43	0,989
	1	n	15	16	16	47	

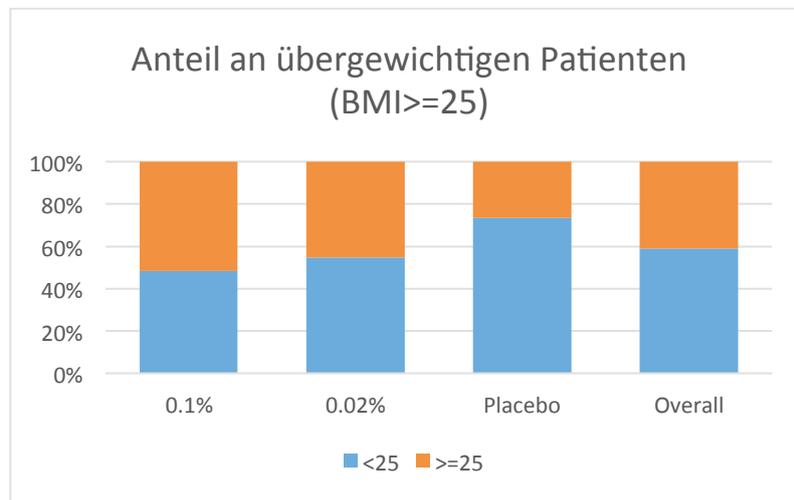
			Gruppe				p
			0.1%	0.02%	Placebo	Total	
			(A)	(B)	(C)		
Geschlecht	Männlich	n	14	15	15	44	0,989
		%	48,3%	48,4%	50,0%	48,9%	
	Weiblich	n	15	16	15	46	
		%	51,7%	51,6%	50,0%	51,1%	
Übergewichtig	<25	n	14	17	22	53	0,126
		%	48,3%	54,8%	73,3%	58,9%	
	>=25	n	15	14	8	37	
		%	51,7%	45,2%	26,7%	41,1%	
Fettleibig	<30	n	26	27	29	82	0,399
		%	89,7%	87,1%	96,7%	91,1%	
	>=30	n	3	4	1	8	
		%	10,3%	12,9%	3,3%	8,9%	

BMI	Mittelwert	25,25	25,83	23,62	24,91	0,190
	n	29	31	30	90	
	Gültig n	29	31	30	90	
	SD	4,95	6,04	4,58	5,27	
	SEM	0,92	1,08	0,84	0,56	
	Min	18,17	19,16	16,90	16,90	
	Median	25,03	24,46	23,48	24,15	
	Max	44,47	44,08	42,52	44,47	
Alter	Mittelwert	37,66	33,81	35,67	35,67	0,190
	n	29	31	30	90	
	Gültig n	29	31	30	90	
	SD	12,96	12,90	13,12	12,94	
	SEM	2,41	2,32	2,40	1,36	
	Min	19,00	19,00	19,00	19,00	
	Median	37,00	30,00	33,50	33,00	
	Max	60,00	57,00	59,00	60,00	

Der jüngste Patient war 19 Jahre alt und der älteste eingeschlossene Patient 60 Jahre. Es ergab sich ein Altersdurchschnitt von 35.67 Jahren (siehe Tabelle 2).

Die Geschlechterverteilung war ausgeglichen mit 51.1% (n=46) weiblichen Patienten und 48.9% (n=44) männlichen Teilnehmern. Sowohl die Geschlechterverteilung als auch die Altersverteilung innerhalb der Behandlungsgruppen zeigten keine auffälligen Unterschiede (siehe Tabelle 2).

Das untersuchte Patientenkollektiv zeigte eine sehr hohe Anzahl von übergewichtigen Patienten. So ergab sich, dass 41.1 % (n=37) der Patienten einen BMI $\geq$ 25 aufwiesen und so als übergewichtig galten (siehe Abbildung 3). Fettleibigkeit (BMI $\geq$ 30) wurde bei 8.9% (n=8) der Patienten festgestellt (siehe Tabelle 2). Es ergab sich ein Mittelwert von 24.91 hinsichtlich des BMIs.



**Abbildung 3: Verteilung der Patienten mit einem BMI $\geq$ 25 (Safety Gruppe)**

Die anfängliche medizinische Untersuchung der Patienten ergab, dass sich alle Patienten in einem guten Allgemeinzustand befanden und keine auffälligen Befunde von Herz, Lunge, Haut und Nervensystem gefunden werden konnten. Lediglich bei 4 Patienten zeigte sich eine pathologische Diagnose in der Hals-Nasen-Ohren Untersuchung.

### 3.2. Primäre Endpunkte

Der primäre Endpunkt war es, die Wirksamkeit von Azelastinhydrochlorid auf die Reduktion der Viruslast, im Falle einer COVID-19 Infektion, zu untersuchen. Es wurden Messungen des Ct-Werts vorgenommen, um die Kopien Nummer (cp/ml) der Angriffsstellen des ORF1a/1b-Gens und des E-Gens zu bestimmen.

An Tag 1 (Ausgangslage) zeigten Messungen einen durchschnittlichen Ct-Wert von  $22.68 \pm 4.44$  für das E-Gen und  $22.77 \pm 4.18$  für das ORF1a/1b-Gen, welcher einer Kopien-Nummer von  $\log_{10} 6.95 \pm 1.38$  (E-Gen) beziehungsweise  $\log_{10} 6.85 \pm 1.31$  (ORF1a/1b) entspricht (siehe Tabelle 3).

Es wurde insgesamt eine Reduktion von  $\log_{10} 5.59$  der Viruslast für das E-Gen beobachtet. Im Speziellen hat sich die Viruslast in der 0.1% Azelastin Gruppe um  $\log_{10} 5.66$  (cp/ml) gesenkt. In der 0.02% Azelastin Gruppe wurde eine Verringerung von  $\log_{10} 4.86$  (cp/ml) und in der Placebo-Gruppe von  $\log_{10} 5.47$  (cp/ml) beobachtet.

Bei Messungen der Angriffsstelle des ORF1a/1b-Gens wurde insgesamt eine Reduktion der Viruslast um  $\log_{10} 4.13$  (cp/ml) verzeichnet. Diese ergab sich aus einer Verringerung von  $\log_{10} 4.45$  (cp/ml) in der 0.1% Azelastin Gruppe,  $\log_{10} 4.13$  (cp/ml) in der 0.02% Azelastin Gruppe und  $\log_{10} 3.82$  (cp/ml) in der Placebo-Gruppe (Tabelle 3).

**Tabelle 3: Deskriptive Statistik und Vergleiche der PCR Testungen für ORF1a/1b und E-Gen ( $\log_{10}$  cp/ml) (ITT Gruppe)**

		Gruppe				p			
		0.1%	0.02%	Placebo		Total*	0.1% vs. 0.02%°	0.1% vs. Placebo°	0.02% vs. Placebo°
<b>Log10 (cp/ml) E-Gen Tag 1</b>	Mittelwert	6,85	7,08	6,90	6,95	0,837	0,762	0,762	0,556
	SD	1,58	1,34	1,23	1,38				
	SEM	0,30	0,25	0,24	0,15				
	N	27	28	26	81				
	Gültig n	27	28	26	81				
	Min	3,37	4,04	4,03	3,37				
	Median	7,08	7,45	7,29	7,25				
	Max	8,75	8,90	8,49	8,90				
<b>Log10 (cp/ml) E-Gen Tag 2</b>	Mittelwert	6,21	6,59	6,45	6,42	0,640	0,368	0,563	0,671
	SD	1,86	1,96	1,81	1,86				
	SEM	0,36	0,37	0,35	0,21				
	N	27	28	26	81				
	Gültig n	27	28	26	81				
	Min	0,00	0,00	0,00	0,00				
	Median	6,70	7,27	7,04	7,04				
	Max	8,80	9,05	8,66	9,05				
<b>Log10 (cp/ml) E-Gen Tag 3</b>	Mittelwert	5,83	6,39	6,12	6,12	0,438	0,222	0,915	0,332
	SD	2,08	1,88	1,55	1,85				
	SEM	0,40	0,36	0,30	0,21				
	N	27	28	26	81				
	Gültig n	27	28	26	81				
	Min	0,00	0,00	3,42	0,00				
	Median	6,39	7,02	6,37	6,50				
	Max	8,31	8,86	8,37	8,86				
<b>Log10 (cp/ml) E-Gen Tag 4</b>	Mittelwert	4,81	5,82	5,23	5,29	0,160	0,063	0,428	0,249
	SD	2,40	2,47	2,31	2,40				
	SEM	0,46	0,47	0,45	0,27				
	N	27	28	26	81				
	Gültig n	27	28	26	81				
	Min	0,00	0,00	0,00	0,00				
	Median	5,08	6,45	5,72	5,62				
	Max	8,25	9,06	8,04	9,06				
<b>Log10 (cp/ml) E-Gen Tag 5</b>	Mittelwert	4,68	4,75	4,80	4,74	0,827	0,500	0,803	0,815
	SD	1,98	2,61	2,15	2,24				
	SEM	0,38	0,49	0,42	0,25				

	Gruppe				p					
	0.1%	0.02%	Placebo		Total*	0.1% vs. 0.02%°	0.1% vs. Placebo°	0.02% vs. Placebo°		
	N	27	28	26	81					
	Gültig n	27	28	26	81					
	Min	0,00	0,00	0,00	0,00					
	Median	5,25	5,34	5,51	5,37					
	Max	7,08	8,34	7,69	8,34					
<b>Log10 (cp/ml) E-Gen Tag 8</b>	Mittelwert	2,97	2,66	2,99	2,87	0,996	0,972	0,957	0,929	
	SD	2,02	2,64	2,15	2,27					
	SEM	0,39	0,50	0,42	0,25					
	N	27	28	26	81					
	Gültig n	27	28	26	81					
	Min	0,00	0,00	0,00	0,00					
	Median	3,81	3,40	3,62	3,66					
	Max	5,14	6,56	6,01	6,56					
	<b>Log10 (cp/ml) E-Gen Tag 11</b>	Mittelwert	1,19	1,47	1,43	1,36	0,865	0,572	0,776	0,839
		SD	1,88	2,22	1,85	1,97				
SEM		0,36	0,42	0,36	0,22					
N		27	28	26	81					
Gültig n		27	28	26	81					
Min		0,00	0,00	0,00	0,00					
Median		0,00	0,00	0,00	0,00					
Max		4,72	6,18	4,36	6,18					
<b>Log10 (cp/ml) ORF1a/1b-Gen Tag 1</b>	Mittelwert	6,76	7,00	6,79	6,85	0,728	0,602	0,695	0,467	
	SD	1,49	1,27	1,17	1,31					
	SEM	0,29	0,24	0,23	0,15					
	N	27	28	26	81					
	Gültig n	27	28	26	81					
	Min	3,37	4,30	4,19	3,37					
	Median	7,00	7,35	7,19	7,23					
	Max	8,54	8,73	8,36	8,73					
<b>Log10 (cp/ml) ORF1a/1b-Gen Tag 2</b>	Mittelwert	6,16	6,64	6,40	6,40	0,603	0,325	0,499	0,788	
	SD	1,79	1,47	1,75	1,66					
	SEM	0,34	0,28	0,34	0,18					
	N	27	28	26	81					
	Gültig n	27	28	26	81					
	Min	0,00	3,90	0,00	0,00					
	Median	6,70	7,08	6,97	6,86					
	Max	8,72	9,03	8,45	9,03					
<b>Log10 (cp/ml) ORF1a/1b-Gen Tag 3</b>	Mittelwert	5,89	6,32	6,11	6,11	0,473	0,256	0,776	0,359	
	SD	1,72	1,81	1,38	1,64					
	SEM	0,33	0,34	0,27	0,18					
	N	27	28	26	81					
	Gültig n	27	28	26	81					
	Min	0,00	0,00	3,86	0,00					
	Median	6,28	6,85	6,38	6,39					
	Max	8,13	8,74	8,23	8,74					
<b>Log10 (cp/ml) ORF1a/1b-Gen Tag 4</b>	Mittelwert	5,10	6,00	5,67	5,59	0,181	0,074	0,364	0,303	
	SD	1,93	1,90	1,34	1,77					
	SEM	0,37	0,36	0,26	0,20					
	N	27	28	26	81					
	Gültig n	27	28	26	81					
	Min	0,00	0,00	3,30	0,00					
	Median	5,10	6,38	5,67	5,57					
	Max	7,94	8,93	7,93	8,93					
<b>Log10 (cp/ml) ORF1a/1b-Gen Tag 5</b>	Mittelwert	4,73	5,21	5,12	5,02	0,735	0,381	0,894	0,690	
	SD	1,91	1,97	1,54	1,81					
	SEM	0,37	0,37	0,30	0,20					
	N	27	28	26	81					
	Gültig n	27	28	26	81					
	Min	0,00	0,00	0,00	0,00					
	Median	5,15	5,40	5,42	5,37					
	Max	7,06	8,18	7,47	8,18					

		Gruppe				p			
		0.1%	0.02%	Placebo		Total*	0.1% vs. 0.02%°	0.1% vs. Placebo°	0.02% vs. Placebo°
<b>Log10 (cp/ml) ORF1a/1b-Gen Tag 8</b>	Mittelwert	3,34	3,38	4,24	3,64	0,768	0,647	0,539	0,627
	SD	1,87	2,32	0,65	1,81				
	SEM	0,36	0,44	0,13	0,20				
	N	27	28	26	81				
	Gültig n	27	28	26	81				
	Min	0,00	0,00	3,50	0,00				
	Median	3,97	4,15	4,04	4,00				
	Max	5,26	6,38	5,81	6,38				
<b>Log10 (cp/ml) ORF1a/1b-Gen Tag 11</b>	Mittelwert	2,31	2,87	2,97	2,72	0,848	0,499	0,778	0,979
	SD	2,14	2,12	1,69	1,99				
	SEM	0,41	0,40	0,33	0,22				
	N	27	28	26	81				
	Gültig n	27	28	26	81				
	Min	0,00	0,00	0,00	0,00				
	Median	3,49	3,66	3,74	3,69				
	Max	4,86	6,11	4,67	6,11				

\* Kruskal Wallis Test

°Paarweise Vergleiche mit Mann-Whitney-U-test. Wegen Bonferroni Korrektur ist statistische Signifikanz bei  $p < 0.0167$  gegeben.

Der Datenstamm des primären Endpunktes wurde mittels des Shapiro-Wilk Test auf Normalität getestet, der ergab, dass die Daten nicht normal verteilt waren ( $p < 0.05$ ). Daher wurde zum Vergleich der Gruppen untereinander der Kruskal-Wallis-Test für nicht-parametrische Daten angewendet, der zeigte, dass es insgesamt keine statistisch auffälligen Unterschiede zwischen den drei Behandlungsgruppen, weder für die Ergebnisse des E-Gen, noch für die Ergebnisse des ORF1a/1b-Gens, gab ( $p > 0.05$ ).

Auch der paarweise Vergleich der Gruppen zeigte keine statistische Auffälligkeit. Die Viruslast nahm in allen drei Gruppen während des Behandlungszeitraums ab. Aus den Ergebnissen pro Tag, die an die Ausgangslage angepasst waren, ging hervor, dass die Viruslast der 0.1% Azelastin Gruppe (gemessen am ORF1a/1b-Gen), an Tag 4 ( $p = 0.027$ ) und Tag 8 ( $p = 0.019$ ), deutlich stärker abfiel als die der Placebo-Gruppe (siehe Abbildung 4 & 5). Diese Ergebnisse erreichten jedoch keine statistische Signifikanz ( $p > 0.0167$ ).

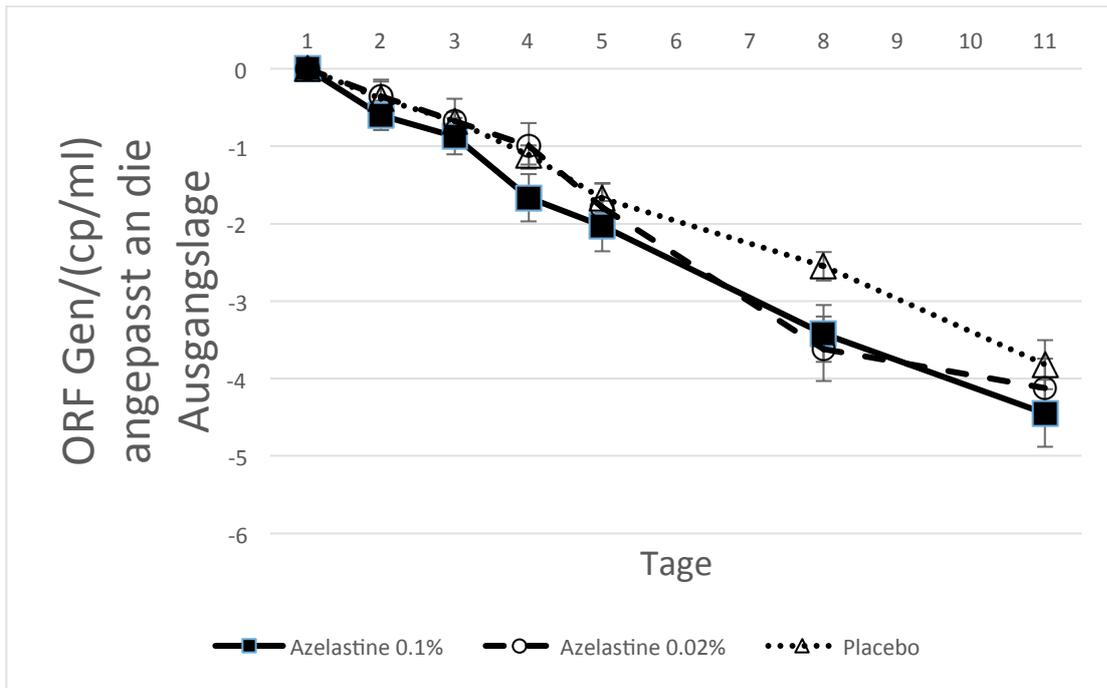


Abbildung 4: Log10 (cp/ml) an die Ausgangslage angepasst für das ORF1a/1b-Gen

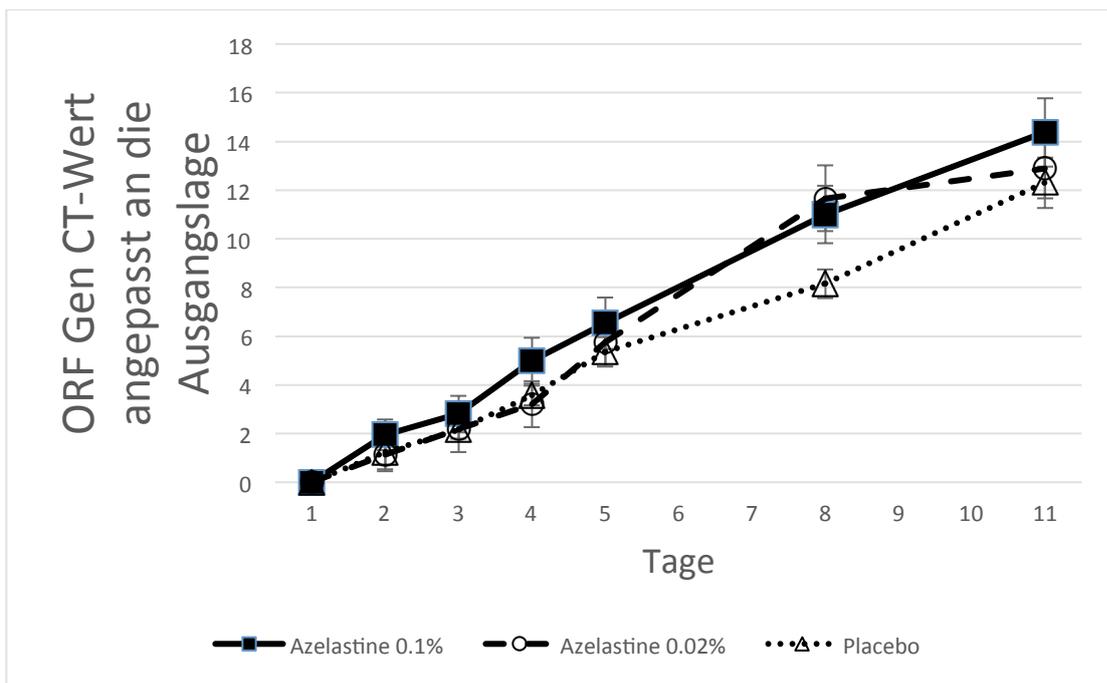


Abbildung 5: Ct-Wert angepasst an die Ausgangslage für das ORF1a/1b-Gen

Es konnte kein vergleichbarer Abfall der Viruslast (cp/ml) bei Messungen des E-Gens zwischen den Gruppen beobachtet werden.

Bei der Analyse der Fläche unter der Kurve (engl.: area under the curve, kurz AUC), die das Konzentrations-Zeitverhältnis darstellt, zeigte sich, dass es einen statistisch auffälligen Unterschied in der Senkung der Viruslast zwischen der 0.1% Azelastin Gruppe und der

Placebo-Gruppe gibt ( $p=0.007$ ), betreffend der Messung des ORF1a/1b-Gens (siehe Tabelle 4 & Abbildung 6). Die 0.1% Azelastin Gruppe zeigte einen auffällig größeren Abfall der Viruslast. Auch hinsichtlich der 0.02% Azelastin Gruppe und der Placebo-Gruppe ist deutlich zu erkennen, dass Patienten der 0.02% Azelastin Gruppe einen bedeutenderen Abfall der Viruslast verzeichneten, jedoch erreichten die Messungen nach der Bonferroni Korrektur keine statistische Signifikanz ( $p=0.022$ ). Diese Ergebnisse spiegelten sich auch im Vergleich aller drei Gruppen miteinander wider ( $p=0.014$ ). Für Messungen des E-Gens konnte keine statistische Signifikanz zwischen den drei Gruppen festgestellt werden (siehe Tabelle 4).

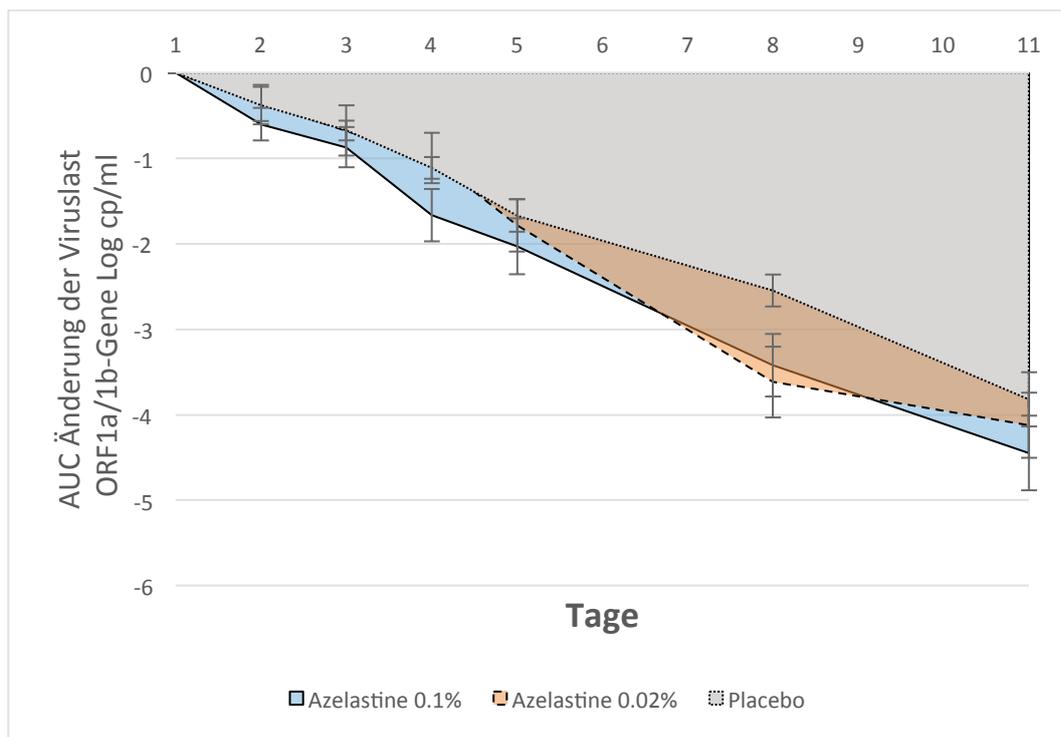
**Tabelle 4: Fläche unter der Kurve (AUC) der absoluten Unterschiede in Viruslast vom Ausgangswert (ITT Gruppe)**

		Gruppe				p			
		0.1%	0.02%	Placebo	Total	Total*	0.1% vs. 0.02%	0.1% vs. Placebo	0.02% vs. Placebo
<b>AUC E-Gen (cp/ml)</b>	Mittelwert	28,16	28,78	27,05	28,02	0,570	0,893	0,403	0,324
	SD	12,60	15,37	8,79	12,49				
	SEM	2,42	2,90	1,72	1,39				
	n	27,00	28,00	26,00	81,00				
	Gültig n	27,00	28,00	26,00	81,00				
	Min	54,23	51,20	41,14	54,23				
	Median	29,27	28,86	26,15	28,71				
	Max	4,44	23,11	12,81	23,11				
<b>AUC ORF1a/1b-Gen (cp/ml)</b>	Mittelwert	24,14	22,64	18,89	21,93	0,014	0,511	0,007	0,022
	SD	13,12	12,56	4,70	11,00				
	SEM	2,52	2,37	0,92	1,22				
	n	27,00	28,00	26,00	81,00				
	Gültig n	27,00	28,00	26,00	81,00				
	Min	50,28	44,10	27,78	50,28				
	Median	26,88	20,69	17,79	20,53				
	Max	5,94	20,73	8,72	20,73				

\* Kruskal Wallis Test

°Paarweise Vergleiche mit Mann-Whitney-U-test. Wegen Bonferroni Korrektur ist statistische Signifikanz bei  $p<0.0167$  gegeben.

Die zuvor beschriebene Diskrepanz der Viruslastsenkung zwischen den beiden Behandlungsgruppen wurde besonders zwischen dem 4 und 8 Tag der aktiven Behandlungsphase evident (siehe Abbildung 6).



**Abbildung 6: Fläche unter der Kurve (AUC) der absoluten Unterschiede der Viruslast vom Ausgangswert (cp/ml) für das ORF1a/1b-Gen**

Die durchschnittliche Zeit der Genesung war bei Messungen des E-Gens 10,6 Tage und für das ORF1a/1b-Gen 10,4 Tage. Für beide Messungen ergab sich, dass Patienten, der 0,1% Azelastin Gruppe, am schnellsten als genesen galten und Patienten der Placebo-Gruppe die längste Erholungszeit benötigten (siehe Tabelle 5).

**Tabelle 5: Erholungszeit E-Gen und ORF1a/1b-Gen (ITT Gruppe)**

E-Gen			ORF1a/1b-Gen		
Gruppe	Mittelwert (95% CI)	p	Gruppe	Mittelwert (95%CI)	p
0.1%	10,333(9,505-11,162)	0,175	0.1%	9,963 (9,022-10,904)	0,159
0.02%	10,571(10,048-11,094)		0.02%	10,214 (9,571-10,857)	
Placebo	11(11-11)		Placebo	11,000 (11-11)	
Total	10,634(10,315-10,953)		Total	10,390 (10,008-10,773)	

### 3.3. Sekundäre Endpunkte

Die sekundären Endpunkte der Studie beschäftigten sich vor allem mit dem klinischen Verlauf der Krankheit in Bezug auf Symptomatik und Wohlbefinden der Patienten.

Zusätzlich wurde untersucht, wie viele der Patienten nach drei Tagen eine über 10-fache Verringerung der Viruslast zeigten, da die bereits erwähnte CEBINA Studie *in vitro* einen 99.9% Abfall, nach 72 Stunden verzeichnete. Es zeigte sich zwar, dass in der Gruppe, der mit 0.1% Azelastin behandelten, mehr Patienten diesen Wert erreichen (n=19, 70.4% ORF1a/1b-Gen und E-Gen) als in den anderen Behandlungsgruppen, jedoch wurde keine statistische Auffälligkeit deutlich (siehe Tabelle 6).

**Tabelle 6: Patienten mit >10-facher Reduktion der Viruslast nach 3 Tagen (ITT Gruppe)**

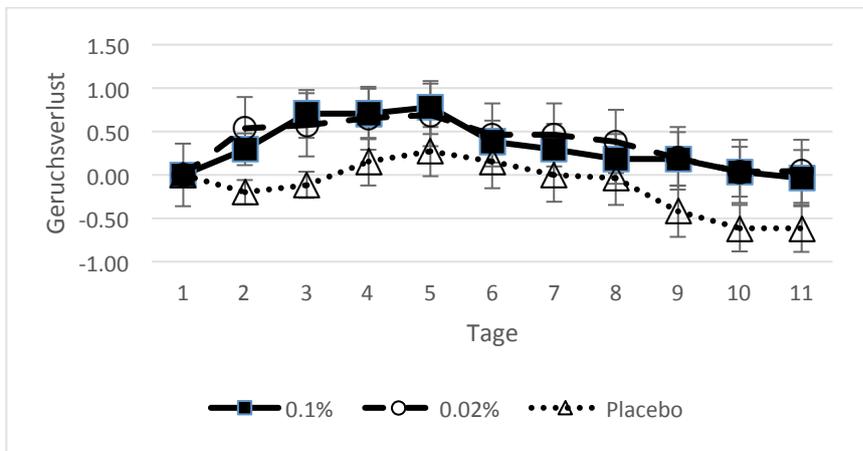
Reduktion nach Gen	10-fache Verringerung		Gruppe				p			
			0.1%	0.02%	Placebo	Total	Total	0.1% vs. 0.02%	0.1% vs. Placebo	0.02% vs. Placebo
Reduktion ORF1a/1b-Gen V4-V1	No	n	8	11	10	29	0,553**	0,341*	0,341*	1,000*
		(%)	29,6%	40,7%	38,5%	36,3%				
	Yes	n	19	16	16	51				
		(%)	70,4%	59,3%	61,5%	63,8%				
Reduktion E-Gen V4-V1	No	n	8	11	9	28	0,671**	0,399*	0,468*	0,886*
		%	29,6%	39,3%	34,6%	34,6%				
	Yes	n	19	17	17	53				
		%	70,4%	60,7%	65,4%	65,4%				

\*Chi Quadrat Test \*\*Fisher's Test

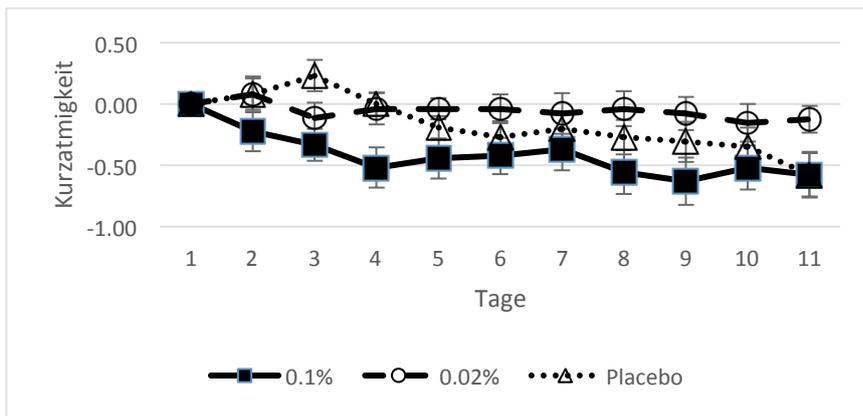
Alle 21 Symptome wurden sowohl als zusammengefasstes Ergebnis als auch individuell betrachtet. In Hinblick auf das Gesamtergebnis der Symptome wurden keine auffälligen Unterschiede zwischen den Gruppen beobachten. Es zeichnete sich jedoch ab, dass Patienten mit einem höheren Ct-Wert insgesamt mehr Symptome angaben. Die Gruppe der Patienten, die 0.1% Azelastin-Nasenspray benutzten, gaben die höchste Symptomatik an, jedoch zeigte sich im Verlauf auch die stärkste Besserung dieser (0.1%: -12.74 Punkte, 0.02%: -8.54 Punkte, Placebo: -11.12 Punkte). Besonders häufig wurden Geruchsverlust, Geschmacksverlust, Erschöpfung, Müdigkeit, Schnupfen und Husten angegeben. Betrachtet man die Symptome individuell, stellte sich heraus, dass es einen auffälligen Unterschied zwischen der 0.02% Azelastin Gruppe und der Placebo-Gruppe hinsichtlich des Geruchsverlustes an Tag 2 gab (p=0.006). Auffällig war, dass die mit Azelastin behandelten Patienten einen stärkeren Geruchsverlust verzeichneten (siehe Abbildung 7).

Ein weiterer auffälliger Wert zeigte sich beim Symptom der Kurzatmigkeit. An Tag 3 und 4 wurden statistisch auffällige Werte zwischen der 0.1% Azelastin Gruppe und der Placebo - Gruppe verzeichnet (Tag 3: p=0.004, Tag 4: p=0.011). Patienten mit Placebo-Behandlung litten dabei auffällig mehr unter Kurzatmigkeit. Diese Auffälligkeit spiegelt sich auch in den

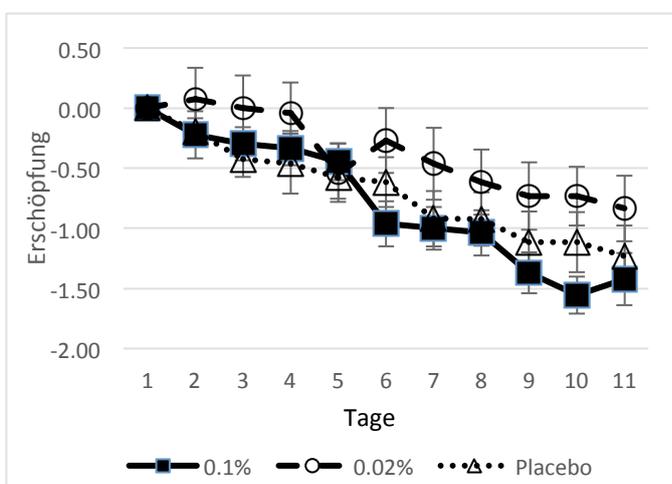
Gesamtergebnissen im Vergleich aller drei Gruppen für diese Tage wider (Tag 3:  $p=0.009$ , Tag 4:  $p=0.016$ ) (siehe Abbildung 8).



**Abbildung 7: Geruchsverlust angepasst an die Ausgangslage (ITT Gruppe)**



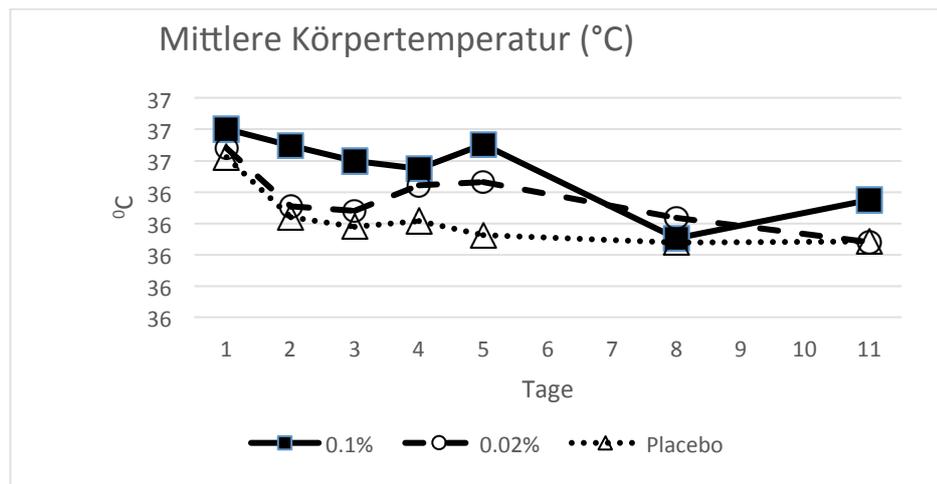
**Abbildung 8: Kurzatmigkeit angepasst an die Ausgangslage (ITT Gruppe)**



**Abbildung 9: Erschöpfung angepasst an die Ausgangslage (ITT Gruppe)**

Letzteres wurde ein auffälliger Unterschied zwischen der 0.1% und der 0.02% Azelastin Gruppe in Bezug auf das Auftreten von Erschöpfung an Tag 10 gefunden ( $p=0.004$ ). Dabei zeigte die Gruppe der 0.02% Azelastin Patienten mehr Erschöpfung als die derer, die mit höher dosiertem Azelastin behandelt wurde (siehe Abbildung 9).

Darüber hinaus, wurde auch die Körpertemperatur und die Sauerstoffsättigung der Patienten über den Behandlungszeitraum, analysiert. Es ergaben sich keine statistisch auffälligen Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen hinsichtlich der Körpertemperatur, jedoch war zu beobachten, dass Patienten in der 0.1% Azelastin Gruppe, die höchsten Temperaturen maßen (siehe Abbildung 10). Als Fieber wurde eine Temperatur von  $>38^{\circ}\text{C}$  bezeichnet. Insgesamt 10-mal wurde das Auftreten von Fieber dokumentiert, davon 8-Mal in der 0.1% Azelastin Gruppe.



**Abbildung 10: Mittlere Körpertemperatur (ITT Gruppe)**

Gleichermaßen wurden keine statistisch auffälligen Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die Sauerstoffsättigung gefunden. Während des Behandlungszeitraums wurde in 12 Fällen eine Sauerstoffsättigung von  $<95\%$  gemessen. Die meisten dieser Fälle ( $n=7$ ) wurden in der 0.02% Azelastin Gruppe verzeichnet. In der Placebo-Gruppe kam es insgesamt 4-mal zu einer Messung von  $<95\%$  und in der 0.1% Azelastin Gruppe lediglich in einem Fall. Auch hier ergab sich keine statistische Signifikanz zwischen den Gruppen (siehe Tabelle 7).

**Tabelle 7: Anteil der Patienten mit einer Sauerstoffsättigung ( $p\text{O}_2$ )  $<95\%$  (ITT Gruppe)**

		0.1%		0.02%		Placebo		Total		p
		n	%	n	%	n	%	n	%	
V1 $p\text{O}_2$	$<95$	1	3,4%	3	10,0%	1	3,3%	5	5,6%	0,441
	$\geq 95$	28	96,6%	27	90,0%	29	96,7%	84	94,4%	
V3 $p\text{O}_2$	$<95$	0	0,0%	2	6,7%	0	0,0%	2	2,2%	0,134
	$\geq 95$	29	100,0%	28	93,3%	30	100,0%	87	97,8%	
V5 $p\text{O}_2$	$<95$	0	0,0%	1	3,4%	1	3,3%	2	2,3%	0,615
	$\geq 95$	28	100,0%	28	96,6%	29	96,7%	85	97,7%	
V6 $p\text{O}_2$	$<95$	0	0,0%	1	3,2%	0	0,0%	1	1,1%	0,388
	$\geq 95$	29	100,0%	30	96,8%	29	100,0%	88	98,9%	
V7 $p\text{O}_2$	$<95$	0	0,0%	0	0,0%	2	6,7%	2	2,2%	0,134
	$\geq 95$	28	100,0%	31	100,0%	28	93,3%	87	97,8%	

Der WHO Gesundheitsstatus wurde anhand einer 10-Punkte-Skala gemessen. In dieser Studie war die maximale Punktzahl 3 (symptomatisch, ambulant, Hilfe benötigt), da hospitalisierte Patienten nicht inkludiert wurden. Es wurde beobachtet, dass die Aufteilung zwischen den Behandlungsgruppen am ersten Tag in Status 1 und 2 gleichmäßig war. Generell ergaben sich bei Patienten, der 0.1% Azelastin Gruppe, leicht höhere Werte, als in den anderen Gruppen, die jedoch keine statistische Auffälligkeit erreichten. Ab dem 8. Behandlungstag waren die ersten Patienten nicht mehr infektiös (0). Am 60. Tag (V9) waren alle Patienten, mit Ausnahme eines Patienten der Placebo-Gruppe, nicht mehr infektiös (siehe Abbildung 11).

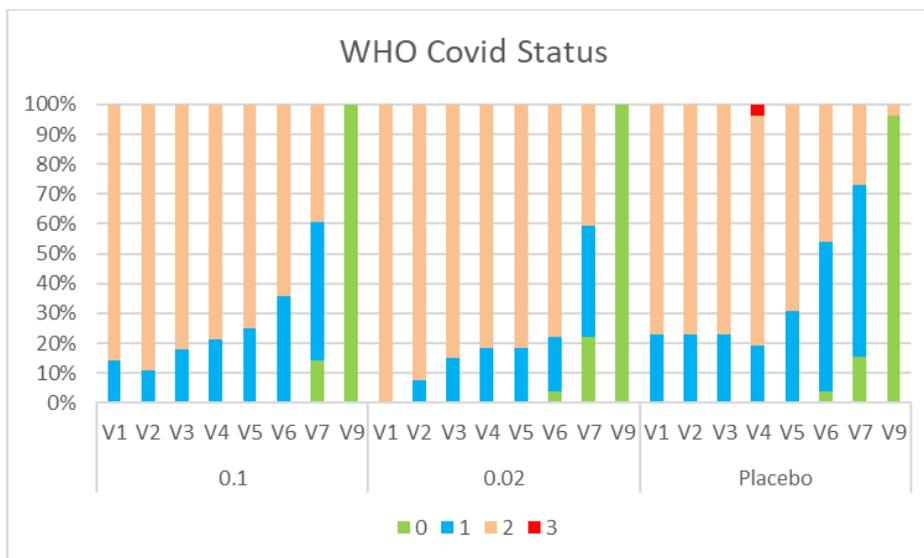


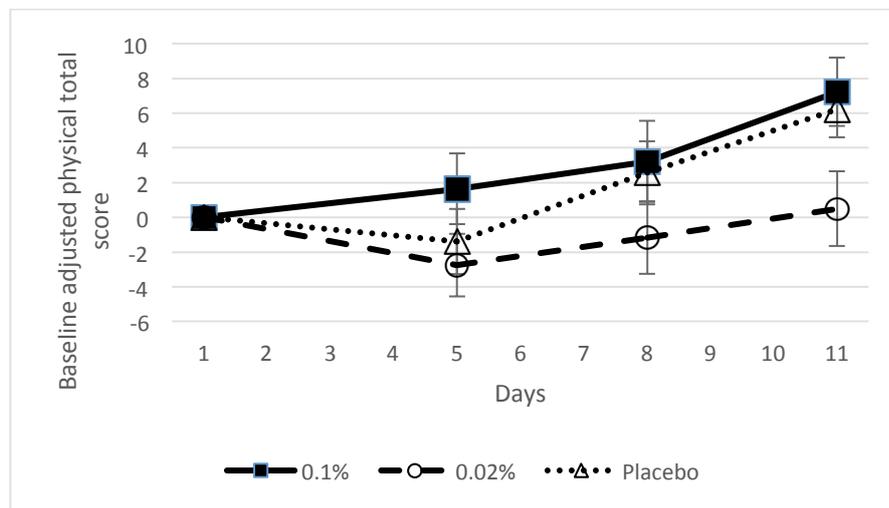
Abbildung 11: WHO Status der Behandlungsgruppen (ITT Gruppe)

Die Lebensqualität wurde als Summenskala unterteilt in mentale und körperliche Lebensqualität. Abgefragt wurden, mittels des SF-36 Fragebogen, 8 Domänen. Betreffend der Summenskalen, zeigten sich keine statistisch auffälligen Unterschiede zwischen den Gruppen, jedoch waren Differenzen am letzten Tag der aktiven Behandlungsphase (V7), in den Domänen „soziale Funktionsfähigkeit“ und „psychisches Wohlbefinden“, zu sehen (siehe Tabelle 8). In beiden Kategorien, zeigte sich ein statistisch auffälliger Unterschied, zwischen der 0.02% Azealstinhydrochlorid Gruppe und der Placebo-Gruppe (soziale Funktionsfähigkeit:  $p=0.004$ , psychisches Wohlbefinden:  $p=0.001$ ). Während Patienten der Placebo-Gruppe eine Verbesserung der sozialen Funktionsfähigkeit zeigten, verschlechterte sich der Status der Patienten der 0.02% Azelastin Gruppe im Vergleich zum Ausgangswert. Dieser auffällige Unterschied spiegelte sich auch im Gesamtergebnis des Vergleichs aller drei Gruppen wider ( $p=0.014$ ). Ähnlich verhielt es sich mit dem psychischen Wohlbefinden. Zwar verzeichneten alle Gruppen eine Verbesserung seit Anfang, dennoch wurden auffällige Unterschiede verzeichnet. Die Placebo-Gruppe erreichte 11.38 mehr Punkte vom

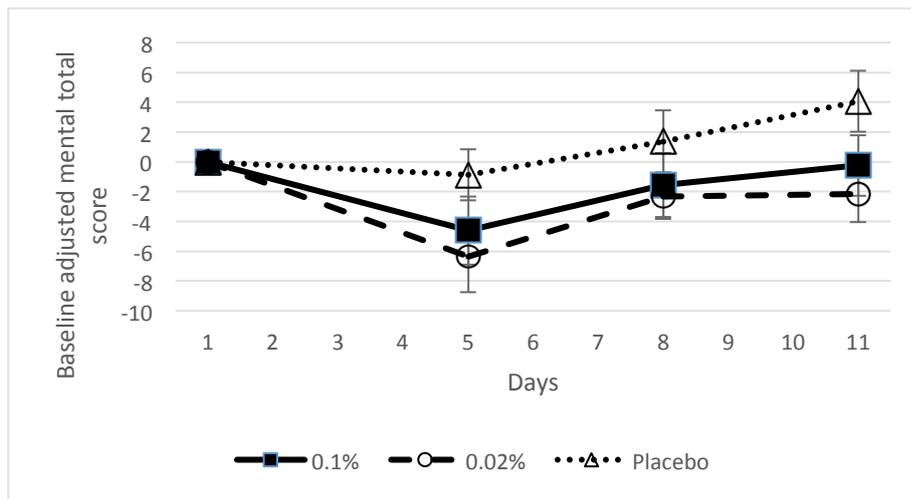
Ausgangswert und die 0.01% Azelastin Gruppe 8.32 wohingegen die 0.02% Azelastin Gruppe nur eine Verbesserung von durchschnittlich 0.15 Punkten zeigte. Daher zeigte sich ebenfalls ein statistisch auffälliger Unterschied zwischen der 0.1% und 0.02% Azelastin Gruppe ( $p=0.011$ ) sowie dem Vergleich aller drei Gruppen ( $p=0.003$ ).

**Tabelle 8: SF-36 Fragebogen Teilergebnisse Tag 7 an die Ausgangslage angepasst (ITT Gruppe)**

Domäne (Visite)		Gruppe				p			
		0.1%	0.02%	Placebo	Total	Total	0.1% vs. 0.02%	0.1% vs. Placebo	0.02% vs. Placebo
Soziale Funktionsfähigkeit (V7)	Mittelwert	-5,50	-18,52	7,69	-5,61	0,014	0,086	0,252	0,004
	n	27	28	26	81				
	Gültig n	25	27	26	78				
	SD	32,09	35,76	37,60	36,47				
	SEM	6,42	6,88	7,37	4,13				
	Min	-87,50	-100,00	-75,00	-100,00				
	Median	0,00	-12,50	0,00	0,00				
	Max	50,00	62,50	100,00	100,00				
Psychisches Wohlbefinden (V7)	Mittelwert	8,32	0,15	11,38	6,60	0,003	0,011	0,490	0,001
	n	27	28	26	81				
	Gültig n	25	26	26	77				
	SD	15,49	9,29	15,25	14,27				
	SEM	3,10	1,82	2,99	1,63				
	Min	-32,00	-24,00	-24,00	-32,00				
	Median	12,00	0,00	12,00	8,00				
	Max	40,00	20,00	36,00	40,00				



**Abbildung 12: Körperliche Lebensqualität Summenskala angepasst an die Ausgangslage (ITT Gruppe)**



**Abbildung 13: Mentale Lebensqualität angepasst an die Ausgangslage (ITT Gruppe)**

Letzteres sollte untersucht werden, welche Auswirkungen Azelastinhydrochlorid auf die Virusausschüttung hat. Dieser Frage konnte in dieser Studie allerdings nicht weiter nachgegangen werden, da Personen, die mit SARS-CoV-2 positiv getesteten Patienten in einem Haushalt lebten, nicht evaluiert wurden und so kein Rückschluss auf deren Infektionsrate gezogen werden konnte.

### 3.4. Post hoc Analyse

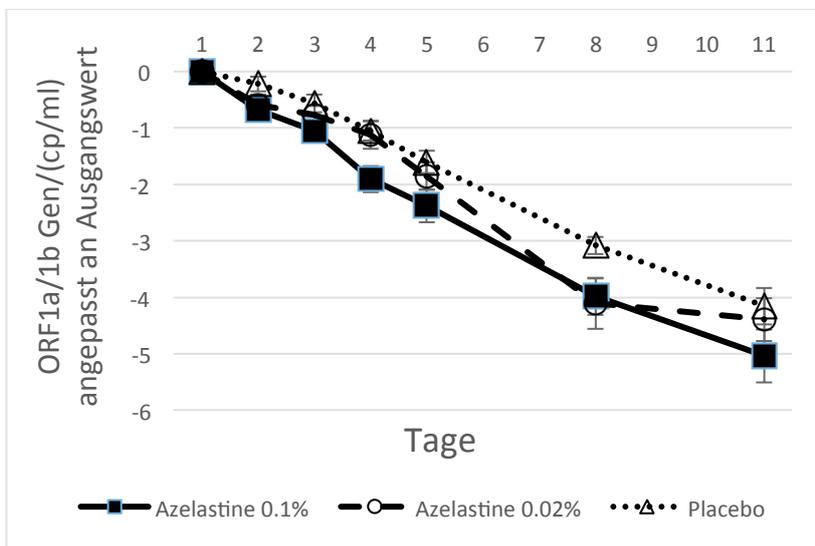
Nachdem die Daten gesichtet wurden, wurden weiterführend einige zusätzliche Analysen durchgeführt. So zeigten *in vitro* Versuche, dass es möglich war, Proben mit einem niedrigeren Ct-Wert (< 25) erfolgreicher in Zellkulturen anzuzüchten als Proben mit einem höheren Ct-Wert (> 25)<sup>89</sup>. Dies wurde als Zeichen der Infektiosität gewertet und gab einen Anlass, die Subpopulation derer, die einen Ct-Wert < 25 hatten, noch einmal näher zu untersuchen. In diesem Zuge wurden ebenfalls weitere Subpopulationen ausgewählt und analysiert. Dazu gehörten einerseits Patienten mit einem Ct-Wert < 20, die die Subpopulation mit hoher Viruslast darstellten und andererseits diejenigen mit einem Ct-Wert < Median. Zuletzt galten auch Patienten mit einem Ct-Wert > Median als Subpopulation und wurden geschlossen analysiert. Diese Subpopulationen wurden hinsichtlich des Abfalls der Viruslast (log<sub>10</sub> cp/ml), dem Auftreten von Symptomen und der Lebensqualität untersucht.

#### **CT-Wert < 25:**

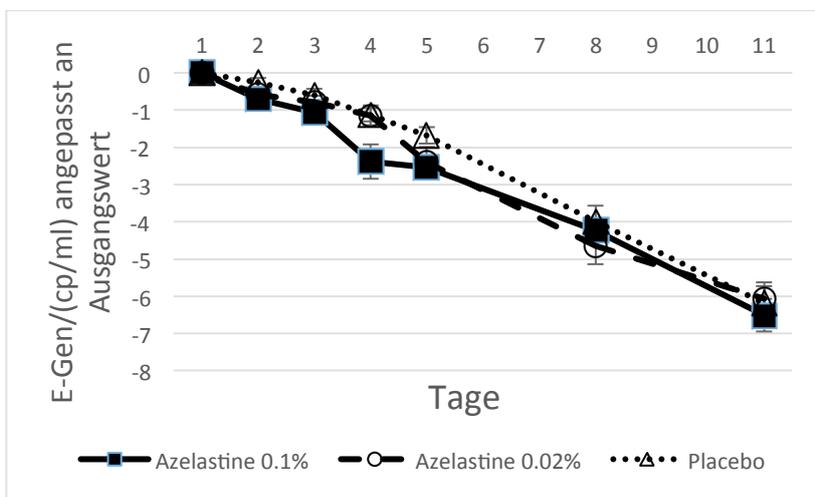
Insgesamt 57 Patienten hatten einen anfänglichen Ct-Wert < 25. Davon waren 19 Patienten der 0.1% Azelastin, 21 Patienten der 0.02% Azelastin und 17 Patienten der Placebo-Gruppe zugeschrieben. Hinsichtlich des primären Endpunktes der Viruslast Verringerung wurden in

dieser Gruppe einige statistisch auffällige Unterschiede deutlich. Es zeigte sich ein auffälliger Unterschied im Anstieg des Ct-Wertes zwischen der 0.1% Azelastin Gruppe und der Placebo-Gruppe an Tag 4 für Messungen sowohl am ORF1a/1b-Gen ( $p=0.005$ ) als auch am E-Gen ( $p=0.006$ ). Dieses Ergebnis spiegelte sich auch in den aus dem Ct-Wert berechneten Werten zur Viruslast ( $\log_{10}$  cp/ml) wider (ORF1a/1b-Gen:  $p=0.005$ , E-Gen:  $p=0.006$ ). Der Viruslast Abfall an Tag 4, war somit in der 0.1% Azelastin Gruppe auffällig höher als in der Placebo-Gruppe (siehe Abbildung 13 & 14).

Zu den sekundären Endpunkten zählte vor allem das Auftreten von Symptomen. Wenn man das Gesamtergebnis aller Symptome als Score betrachtet, ergaben sich in dieser Subpopulation keine auffälligen Unterschiede, wie auch, wenn man die Symptome einzeln analysiert.



**Abbildung 13: ORF1a/1b-Gen ( $\log_{10}$  cp/ml) angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert < 25)**

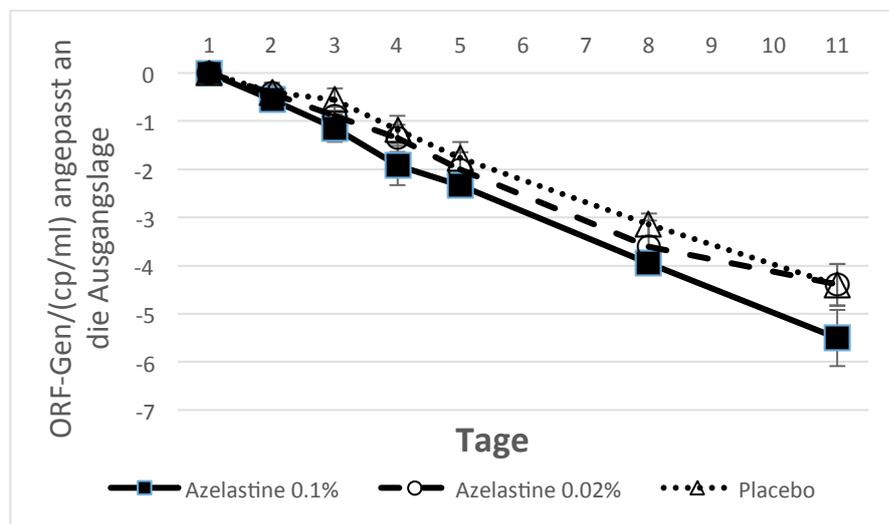


**Abbildung 14: E-Gen ( $\log_{10}$  cp/ml) angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert < 25)**

Gleichermaßen ergaben sich keine statistisch auffälligen Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen in dieser Subpopulation hinsichtlich der Lebensqualität.

### **Ct-Wert < 20:**

Insgesamt 29 Patienten hatten anfänglich einen Ct-Wert < 20. Davon waren, 10 Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe, 10 der 0.02% Azelastin Gruppe und 9 Patienten der Placebo-Gruppe zugeteilt. Es zeigte sich in dieser Subpopulation ein statistisch auffälliger Unterschied zwischen der 0.1% Azelastin Gruppe und der Placebo-Gruppe an Tag 8. Dies spiegelte sich sowohl im Ct-Wert als auch in der berechneten Viruslast (cp/ml) am ORF1a/1b-Gen wider ( $p=0.014$ ). Dabei ergab sich, dass die Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe einen auffällig größeren Abfall der Viruslast verzeichneten (siehe Abbildung 15).



**Abbildung 15: ORF1a/1b-Gen Viruslast (cp/ml) angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert < 20)**

In der Gesamtheit der Symptome als Score, konnten keine, statistisch auffällige Unterschiede, zwischen den Behandlungsgruppen der Subpopulation, gefunden werden. Dennoch ist wichtig anzumerken, dass die Patienten in dieser Subpopulation die höchsten Werte im Symptom Score verzeichneten und ebenso die bedeutendste Verbesserung zu beobachten war, besonders in der 0.1% Azelastin Gruppe (Tag 1: 45.00 Punkte, Tag 11: 31.70 Punkte). Auch hinsichtlich einzelner Symptome ergaben sich keine auffälligen Unterschiede. Ebenso im Hinblick auf die Lebensqualitätsanalyse.

### **Ct-Wert < Median:**

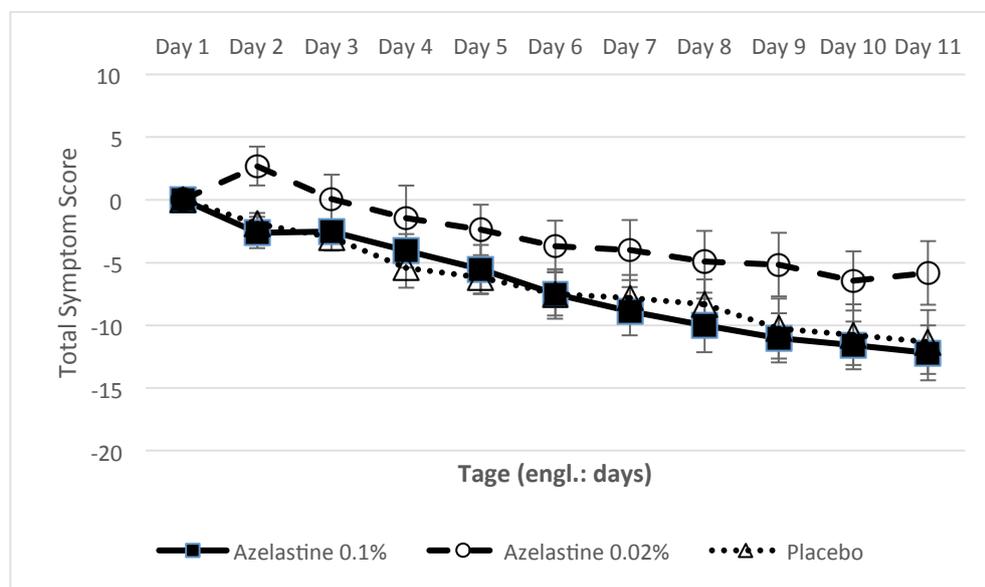
41 der 81 Patienten hatten einen Ct-Wert kleiner als den Median. Davon gehörten 12 Patienten, der 0.1% Azelastin Gruppe, 15 Patienten der 0.02% Azelastin Gruppe und 14

Patienten der Placebo-Gruppe an. Es wurden keine statistisch auffälligen Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen hinsichtlich der Senkung der Viruslast in dieser Subpopulation gefunden. Auch der Summen Score der Symptome hat keine statistisch auffälligen Unterschiede gezeigt. Ebenso ergaben sich keine Unterschiede hinsichtlich der Symptome, wenn sie individuell betrachtet wurden. Letzteres ergaben sich wiederum keine auffälligen Unterschiede in Bezug auf die Lebensqualität der Patienten.

### **Ct-Wert > Median:**

Insgesamt 40 Patienten verzeichneten einen Ct-Wert höher als den Median. Davon gehörten, 15 Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe, 13 Patienten der 0.02% Azelastin Gruppe und 12 Patienten der Placebo-Gruppe an. Hinsichtlich der Senkung der Viruslast zeigten sich in dieser Subpopulation keine statistisch auffälligen Unterschiede.

Wenn man die Symptome als Gesamtergebnis betrachtet, fiel auf, dass an Tag 2 ein statistisch auffälliger Unterscheid zwischen der 0.1% und der 0.02% Azelastin Gruppe vorlag ( $p=0.008$ ). Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe gaben durchschnittlich ein geringeres Auftreten von Symptomen an (-2,60 Punkte), während die 0.02% Azelastin Gruppe eine Verschlimmerung der Symptomatik (+ 2,69 Punkte) verzeichnete (siehe Abbildung 16).

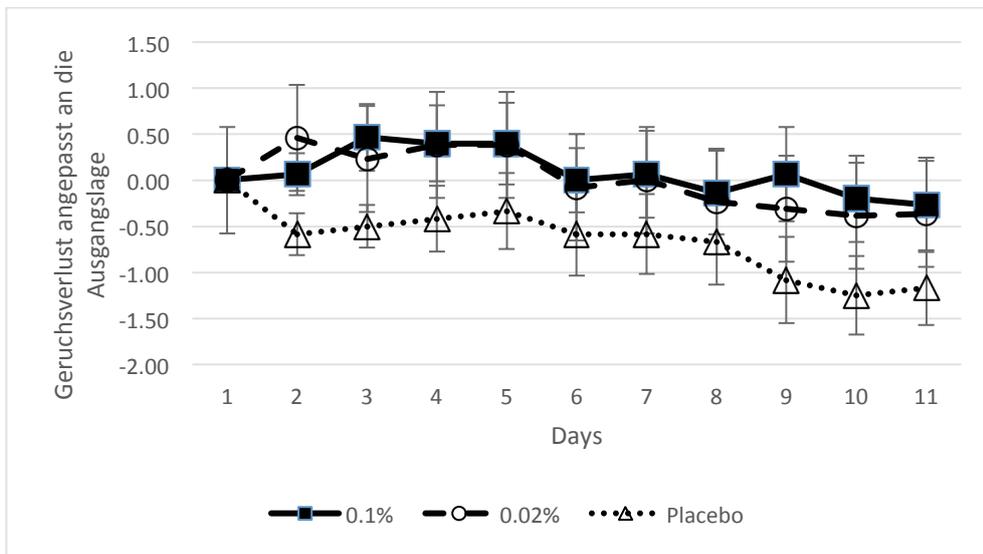


**Abbildung 16: Symptom Score angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median)**

Auch wenn man die Symptome einzeln betrachtete, ließen sich statistisch auffällige Unterschiede ausmachen.

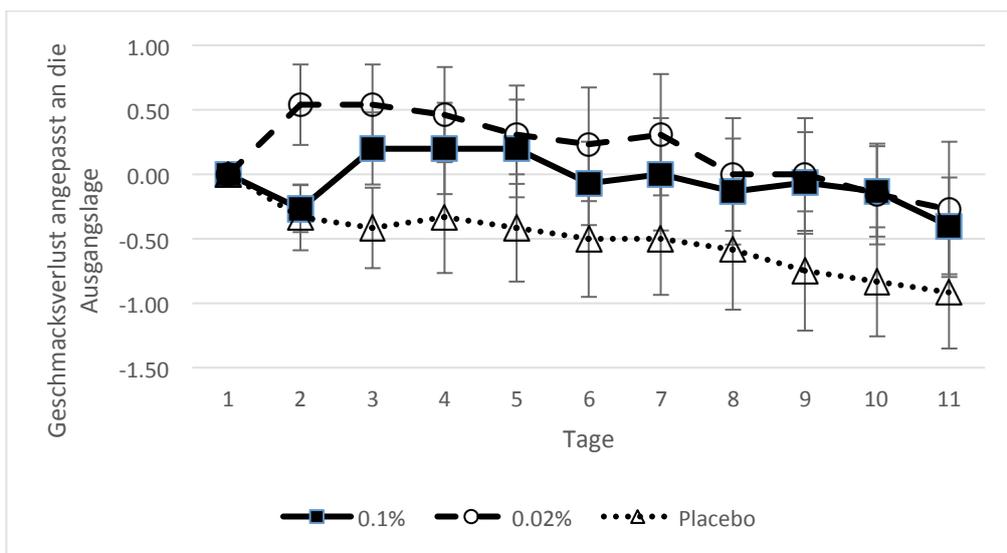
Zum einen ließ sich ein Unterschied hinsichtlich des Verlustes vom Geruchssinn zwischen der 0.02% Azelastin Gruppe und der Placebo-Gruppe an Tag 2 bestätigen ( $p=0.011$ ). Während die Placebo-Gruppe eine Verbesserung dieser Symptomatik zeigte (-0.58 Punkte)

verschlechterte sich der Zustand der 0.02% Azelastin Gruppe (+0.46 Punkte) (siehe Abbildung 17).



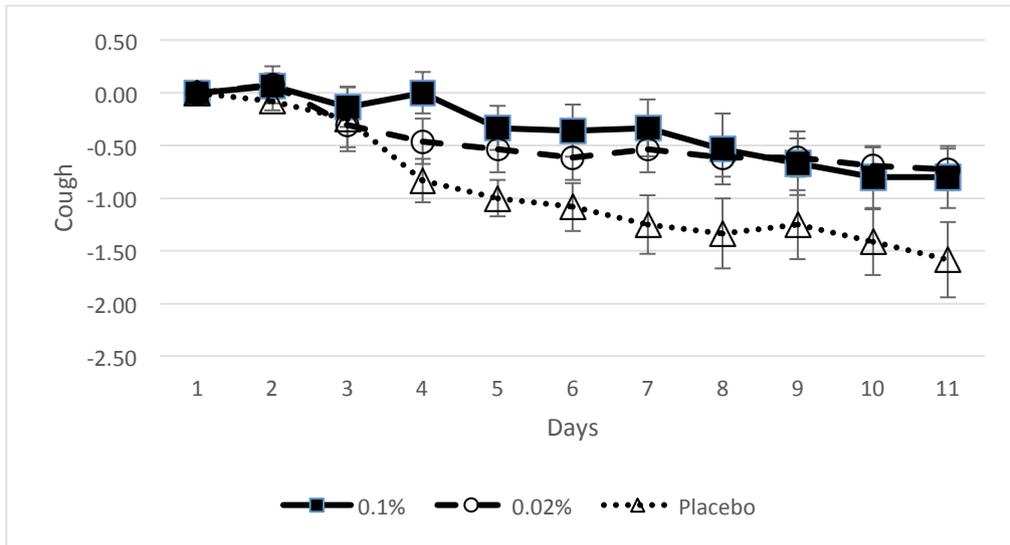
**Abbildung 17: Geruchsverlust angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median)**

Zum anderen wurde ein statistisch auffälliger Unterschied zwischen denselbigen Gruppen hinsichtlich des Verlustes des Geschmackssinnes an Tag 3 gefunden ( $p= 0.016$ ). Auch hier zeigte sich eine deutliche Verbesserung der Symptomatik in der Placebo Gruppe (-0.42 Punkte) in Gegensatz zu der 0.02% Azelastin Gruppe, die eine Verschlechterung datierte (+0.54 Punkte) (siehe Abbildung 18).



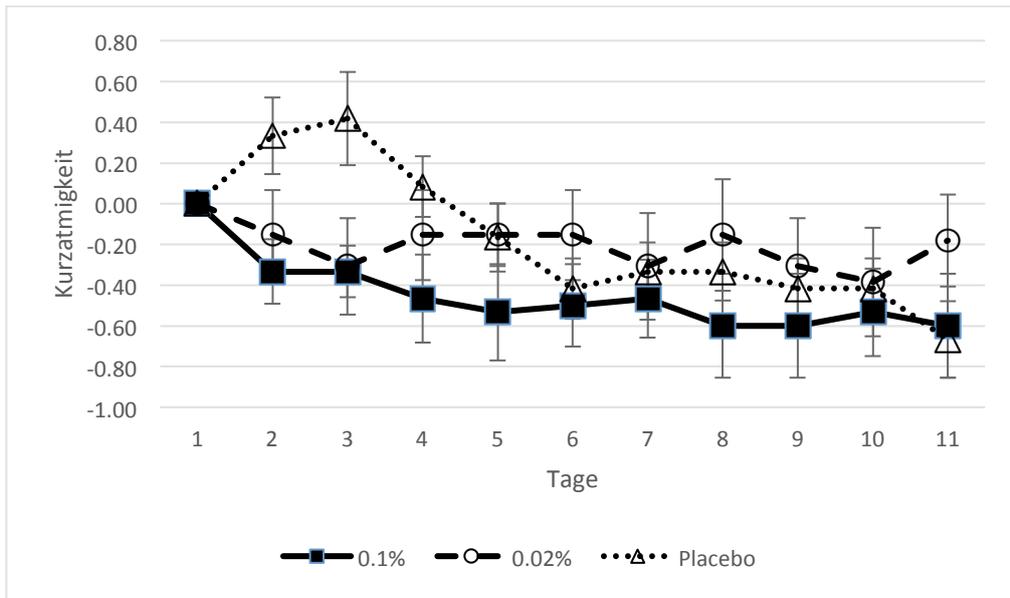
**Abbildung 18: Geschmacksverlust angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median)**

Betrachtete man die Angaben der Behandlungsgruppen zum Symptom Husten fiel auf, dass die Placebo-Gruppe an Tag 4 eine auffällig größere Verschlechterung (-0.83 Punkte) zeigte als die 0.1% Azelastin Gruppe ( $p=0.012$ ), die keine durchschnittliche Veränderung zum Ausgangswert verzeichnete (siehe Abbildung 19).



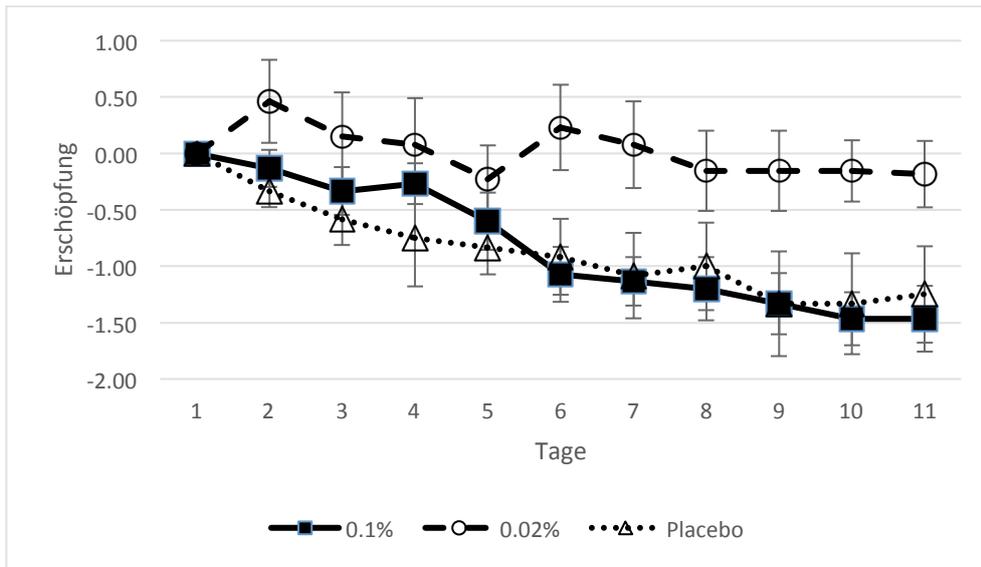
**Abbildung 19: Husten angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median)**

Weiterhin wurde ein statistisch auffälliger Unterschied, zwischen der 0.1% Azelastin Gruppe und der Placebo-Gruppe, hinsichtlich des Symptoms der Kurzatmigkeit, deutlich (Tag 2:  $p=0.010$ , Tag 3:  $p=0.006$ ). An Tag 2 und 3 zeigte sich hier, dass die 0.1% Azelastin Gruppe an beiden Daten eine durchschnittliche Verbesserung der Symptomatik verzeichnete (Tag 2: -0.33 Punkte, Tag 3: -0.33 Punkte), während der Zustand der Patienten in der Placebo-Gruppe sich verschlechterte (Tag 2: +0.33 Punkte, Tag 4: +0.42 Punkte) (siehe Abbildung 20).



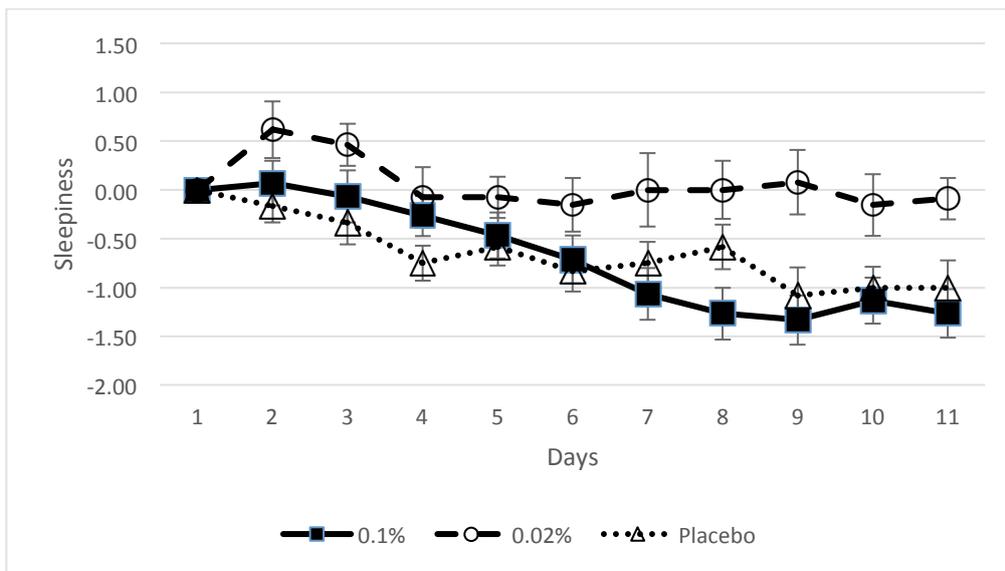
**Abbildung 20: Kurzatmigkeit angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median)**

Hinsichtlich der Erschöpfung ergab sich ein statistisch auffälliger Unterschied zwischen der 0.1% und der 0.02% Azelastin Gruppe an Tag 6 und 7 (Tag 6:  $p=0.011$  Tag 7:  $p=0.006$ ). Während Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe eine durchschnittliche Verringerung der Erschöpfung angaben (Tag 6: -1.07 Punkte, Tag 7: -1,13 Punkte), verschlimmerte sich die Erschöpfung in der 0.02% Azelastin Gruppe an diesen Tagen weiterhin (Tag 6: +0.23, Tag 7: +0.08 Punkte) (siehe Abbildung 21). Dieselben Gruppen zeigten zudem auffällige Unterschiede an Tag 10 und 11 (Tag 10:  $p=0.002$ , Tag 11:  $p=0.007$ ), obgleich auch die 0.02% Azelastin Gruppe zu diesem Zeitpunkt bereits eine Verminderung der Erschöpfung angab (Tag 10: -0.15 Punkte, Tag 11: -0.18 Punkte). Die Diskrepanz zwischen der Verbesserung beider Gruppen war jedoch statistisch auffällig, wobei die 0.1% Azelastin Gruppe weiterhin eine erheblichere Verbesserung der Symptomatik zeigte (Tag 10 & 11: -1.47 Punkte) (siehe Abbildung 22).



**Abbildung 21: Erschöpfung angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median)**

Zuletzt, wurde ein statistisch auffälliger Unterschied, zwischen der 0.1% und der 0.02% Azelastin Gruppe, an Tag 8, 9 und 11, hinsichtlich der Schläfrigkeit gefunden (Tag 8:  $p=0.007$ , Tag 9:  $p=0.002$ , Tag 11:  $p=0.003$ ). An Tag 8 ergab sich, dass die 0.1% Azelastin Gruppe eine Verminderung der Schläfrigkeit verzeichnete (-1.27 Punkte), während die 0.02% Azelastin Gruppe keine Veränderung zeigte. An Tag 9 hingegen verschlechterte sich die Schläfrigkeit in der 0.02% Azelastin Gruppe (+0.08 Punkte), wohingegen sie sich in der 0.1% Azelastin Gruppe weiterhin verbesserte (-1.33 Punkte). Am letzten Tag (Tag 11), zeigten zwar beide Gruppen eine Verbesserung (0.1%: -1.27, 0.02%: -0.09 Punkte), dennoch war die Diskrepanz dieser weiterhin statistisch auffällig (siehe Abbildung 22).



**Abbildung 22: Schläfrigkeit angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median)**

Hinsichtlich der Lebensqualität gemessen am SF-36 Fragebogen zeigte sich, dass die Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe insgesamt niedrigere Werte der einzelnen Domänen und demnach eine geringere Lebensqualität, angaben. Generell zeigte sich ab Visite 7 eine deutliche Verbesserung aller Domänen.

Besonders auffällig war die Domäne der sozialen Funktionsfähigkeit an Visite 7 (Tag 11). Die dokumentierten Werte der 0.1% Azelastin Gruppen waren auffällig niedriger als die der Placebo-Gruppe (0.1%: 49.07, Placebo: 74.52 Punkte). Wenn man die Ergebnisse der Ausgangslage anpasst und die Verbesserung zu dieser berechnet, wird deutlich, dass sich ein statistisch auffälliger Unterschied zwischen der 0.02% Azelastin Gruppe und der Placebo-Gruppe am 11. Tag der Behandlungsphase im Bereich der sozialen Funktionsfähigkeit ( $p=0.004$ ) sowie dem psychischen Wohlbefinden ( $p=0.001$ ), ergab (siehe Tabelle 9). Die Placebo-Gruppe zeigte eine Verbesserung in beiden Bereichen, wohingegen die 0.02% Azelastin Gruppe nur im Bereich des psychischen Wohlbefindens einen Fortschritt machte (+1.67 Punkte) und im Bereich der sozialen Funktionsfähigkeit eine Verminderung des Status verzeichnete (-2.5). Dies spiegelte sich jedoch nicht in den Summenskalen wider.

**Tabelle 9: SF-36 Lebensqualität Teilergebnis Tag 11 (Visite 7) angepasst an den Ausgangswert (Ct-Wert > Median)**

Domäne (Visite)		Gruppe				p			
		0.1%	0.02%	Placebo	Total	Total	0.1% vs. 0.02%	0.1% vs. Placebo	0.02% vs. Placebo
Soziale Funktionsfähigkeit (Visite 7)	Mittelwert	-2,50	-12,50	18,75	0,63	0,014	0,086	0,252	0,004
	n	15	13	12	40				
	Gültig n	15	13	12	40				
	SD	34,13	43,00	38,99	39,73				
	SEM	8,81	11,93	11,25	6,28				
	Min	-87,50	-100,00	-50,00	-100,00				
	Median	0,00	-12,50	6,25	0,00				
	Max	50,00	62,50	100,00	100,00				
Psychisches Wohlbefinden (Visite 7)	Mittelwert	12,00	1,67	19,33	11,08	0,003	0,011	0,490	0,001
	n	15	13	12	40				
	Gültig n	15	12	12	39				
	SD	16,97	8,08	15,24	15,56				
	SEM	4,38	2,33	4,40	2,49				
	Min	-32,00	-8,00	-20,00	-32,00				
	Median	12,00	0,00	20,00	12,00				
	Max	40,00	20,00	36,00	40,00				

### 3.5. Sicherheit

Während der Studie dokumentierten die Prüfarzte das Auftreten von Nebenwirkungen der Patienten bei den Visiten. Anhand des, vom Hersteller URSAPHARM angegebenen Nebenwirkungsprofils im Beipackzettel wurden die auftretenden Nebenwirkungen nach der Wahrscheinlichkeit eines Zusammenhangs mit der Prüfmedikation bewertet. Nur Symptome,

die „möglicherweise“ oder „wahrscheinlich“ mit der Einnahme zusammenhängen, erschienen in der finalen Auswertung. Es zeigte sich, dass 34 Patienten insgesamt 51 Nebenwirkungen verzeichneten. Davon gehörten, 10 Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe (34.5%), 11 der 0.02% Azelastin Gruppe (35.5%) und 13 der Placebo-Gruppe (43.3%) an. Es ergab sich kein statistisch auffälliger Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen ( $p=0.742$ ) (siehe Tabelle 10).

**Tabelle 10: Anzahl von Patienten mit mindestens einer Nebenwirkung (Safety Gruppe)**

Mindestens eine Nebenwirkung* Group Kreuztabelle							
			Gruppe			Total	P*
			0.1%	0.02%	Placebo		
<b>Mindestens eine Nebenwirkung</b>	0,00 (keine)	N	19	20	17	56	0,742
		% von Gruppe	65,5%	64,5%	56,7%	62,2%	
	1,00	N	10	11	13	34	
		% von Gruppe	34,5%	35,5%	43,3%	37,8%	
<b>Total</b>		N	29	31	30	90	
		% von Gruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

\*Chi Quadrat Test

Von insgesamt 51 dokumentierten Nebenwirkungen, die mit der Prüfmedikation in Verbindung gebracht werden konnten, wurden 2 in der Kausalitätsbewertung als „wahrscheinlich“ angesehen und 49 als „möglich“. Eines dieser zwei Symptome, war ein bitterer Geschmack und ereignete sich in der 0.02% Azelastin Gruppe. Darüber hinaus, war das Auftreten eines Trockenheitsgefühls der Nasenschleimhäute bei einem Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe, als ein „wahrscheinlich“ mit der Prüfmedikation in Verbindung zu bringendes Symptom dokumentiert. Häufig dokumentierte Nebenwirkungen waren zudem Schnupfen (n=12), Geruchsverlust (n=6) und Müdigkeit (n=13).

Die meisten Fälle von Nebenwirkungen ereigneten sich in der Placebo-Gruppe (n=23) und die wenigsten in der 0.02% Azelastin Gruppe (n=13) (siehe Tabelle 11).

**Tabelle 11: Liste der Nebenwirkungen (Safety Gruppe)**

Kausalitätsbewertung	System	Nebenwirkung	MedDRA	Azelastin 0.1%	Azelastin 0.02%	Placebo
				n	n	n
Möglicherweise	Herz-Kreislauf	Tachykardie	10043071	1	0	0
	Gastroenterologie	Trockener Mund	10013781	0	0	1
	Infektionen	Schnupfen	10010106	4	3	5
		Konjunktivitis	10010741	1	0	4
		Rhinitis	10039083	0	0	1

				Azelastin 0.1%	Azelastin 0.02%	Placebo	
Kausalitäts- bewertung	System	Nebenwirkung	MedDRA	n	n	n	
		Sinusitis	10040753	0	0	2	
	Nervensystem	Geruchsverlust	10024877	2	3	1	
		Geschmacksverlust	10024878	1	0	0	
		Müdigkeit	10041014	3	5	5	
		Respiratorisch	Husten	10011224	0	0	1
	Epistaxis		10015090	1	0	1	
	Nasenschleimhaut Schwellung		10063455	0	1	0	
	Sinus Obstruktion		10075543	1	0	0	
	Nasenbluten		10029792	0	0	1	
	Sinus Schmerzen		10040747	1	0	0	
<b>Wahrscheinlich</b>	Nervensystem		Bitterer Geschmack	10043127	0	1	0
	Respiratorisch		Trockene Nasenschleimhaut	10085404	1	0	0
	<b>Total</b>			<b>16</b>	<b>13</b>	<b>22</b>	

Alle Nebenwirkungen wurden so lange beobachtet, bis eine Resolution erreicht war. Keine, der mit der Prüfmedikation wahrscheinlich oder möglich in Verbindung gebrachten Nebenwirkungen, persistierte nach dem 60 Tag. Unter den Nebenwirkungen ohne Kausalitätsverbindung jedoch, hielten die Symptome der Betroffenen in 30 Fällen über den 60 Tag hinaus an.

Während dieser Studie gab es keine schwerwiegenden Nebenwirkungen und es wurden keine Todesfälle verzeichnet.

Am Ende der aktiven Behandlungsphase gab es eine Abschlussuntersuchung. Dabei bewerteten sowohl der Prüfarzt als auch die Patienten unabhängig voneinander die Verträglichkeit und Wirksamkeit der erhaltenen Prüfmedikation.

Dabei stellte sich heraus, dass sowohl die Prüfarzte als auch die Patienten, die Medikation als gut verträglich gewertet haben. In Hinblick auf die Wirksamkeit zeigte sich, dass ein Großteil der Patienten, sehr gute oder gute Wirksamkeit angaben (66.3%) und 6.5% (n=5) der Patienten die Wirksamkeit als schlecht empfanden.

Es ergab sich ein statistisch auffälliger Unterschied bei der Bewertung der Prüfarzte im Hinblick auf die Verträglichkeit zwischen der 0.02% Azelastin Gruppe und der Placebo-Gruppe ( $p=0.007$ ). Die Prüfmedikation der Placebo-Gruppe wurde als auffällig verträglicher eingeschätzt (siehe Tabelle 12).

**Tabelle 12: Verträglichkeit und Wirksamkeit (ITT Gruppe)**

		Gruppe								p			
		0.1%		0.02%		Placebo		Gesamt		Total *	0.1% vs. 0.02%	0.1% vs. Placebo	0.02% vs. Placebo
		n	%	n	%	n	%	n	%				
<b>Verträglichkeit (Untersuchung Prüfarzt)</b>	Weniger gut	1	3,7%	1	3,6%	0	0,0%	2	2,5%	0,026	0,363	0,070	0,007
	moderat	9	33,3%	13	46,4%	4	15,4%	26	32,1%				
	gut	17	63,0%	14	50,0%	22	84,6%	53	65,4%				
<b>Wirksamkeit (Untersuchung Prüfarzt)</b>	Weniger gut	7	25,9%	5	17,9%	7	26,9%	19	23,5%	0,823	0,927	0,656	0,530
	moderat	16	59,3%	21	75,0%	17	65,4%	54	66,7%				
	gut	4	14,8%	2	7,1%	2	7,7%	8	9,9%				
<b>Verträglichkeit (Patient)</b>	Weniger gut	1	3,7%	1	3,6%	1	3,8%	3	3,7%	0,078	0,519	0,107	0,026
	moderat	10	37,0%	13	46,4%	4	15,4%	27	33,3%				
	gut	16	59,3%	14	50,0%	21	80,8%	51	63,0%				
<b>Wirksamkeit (Patient)</b>	schlecht	2	8,3%	1	3,7%	2	7,7%	5	6,5%	0,143	0,489	0,076	0,139
	Weniger gut	4	16,7%	6	22,2%	11	42,3%	21	27,3%				
	moderat	10	41,7%	15	55,6%	9	34,6%	34	44,2%				
	gut	8	33,3%	5	18,5%	4	15,4%	17	22,1%				

\* Kruskal Wallis Test

## 4. Diskussion

Das Coronavirus beherrscht seit nun mehr als zwei Jahren weltweit den Alltag vieler Menschen. Bis dato, wurden einige Medikamente, zur Behandlung von insbesondere schweren Krankheitsverläufen freigegeben. Dennoch, konnte kein Medikament gefunden werden, das Anwendung bei einer milden Ausprägung der Krankheit in der breiten Bevölkerung findet.

Im Rahmen dieser Dissertation soll die Wirksamkeit von Azelastin-Nasenspray auf die Senkung der Viruslast in COVID-19 infizierten Patienten überprüft werden. Darüber hinaus, sollen Aufschlüsse über die Veränderung der Symptomatik und das Wohlbefinden der Patienten unter der Behandlung von Azelastin-haltigem Nasenspray aufgezeigt werden.

Die Aufteilung der Patienten erfolgte in zwei Gruppen verschiedener Azelastin-Konzentrationen (0.1% und 0.02%) sowie einer Placebo-Gruppe. Der Vergleich der Resultate der verschiedenen Subgruppen, bot zudem spezifischeren Aufschluss auf die Vorteile der Azelastin Behandlung.

Insgesamt 90 Patienten nahmen an der Studie teil, von denen 81 in die statistische Auswertung eingeschlossen waren. Hierbei handelte es sich um ein relativ kleines Patientenkollektiv, verglichen mit ähnlichen Studien, die zur Erforschung der Wirksamkeit anderer Präparate gegen SARS-CoV-2, durchgeführt wurden<sup>48,50,54</sup>.

Die eingeschlossenen Patienten waren gleichmäßig auf die drei Behandlungsgruppen verteilt. Es ergab sich ein ausgeglichenes Alters- und Geschlechterverhältnis. Mit einem durchschnittlichen Alter von 35.67 Jahren war das Patientenkollektiv dieser Studie sehr jung, jedoch wurde in anderen Studien der Fokus eher auf einen schlimmeren Krankheitsverlauf gelegt, der häufiger bei älteren Menschen zu beobachten ist. Auffällig war der hohe BMI der Patienten, der bei durchschnittlich 24.91 lag. Als übergewichtig galten dabei 40.1% (BMI>25) der Patienten. Übergewicht, wird als Risikofaktor eines schweren Verlaufes der SARS-CoV-2 Infektion, gewertet, allerdings wurden in der hier beschriebenen Studie nur Patienten einbezogen, die keinen Krankenhausaufenthalt benötigten und so einen milden Verlauf präsentierten.

Der primäre Endpunkt dieser Studie war es, die Absenkung der Viruslast nach einer 11-tägigen Behandlung mit Azelastin-haltigem Nasenspray mit den Ergebnissen der Placebo-Gruppe zu vergleichen. Die 11-tägige Behandlungsdauer wurde vor allem gewählt, da Gottlieb *et al.* in seiner Studie nach 11 Tagen einen auffällig größeren Abfall der Viruslast in der Behandlungsgruppe mit Wirkstoff gegenüber Placebo maß<sup>54</sup>. Die Ausgangsviruslast

dieses Patientenkollektivs lag nicht, wie vorerst erwartet, bei durchschnittlich  $\log_{10} 5.5$  cp/ml<sup>86</sup>, sondern bei  $\log_{10} 6.95 \pm 1.38$  (E-Gen) und  $\log_{10} 6.85 \pm 1.31$  (ORF1a/1b-Gen) und damit deutlich höher als prognostiziert. Dies könnte daran gelegen haben, dass zum Zeitpunkt der Studie die neue Alpha Variante (B1.1.7), die dominierende Variante war, die verglichen mit dem Wildtyp eine höhere Viruslast in Patienten hervorrief<sup>39</sup>.

Insgesamt wurde eine Verringerung der Viruslast um durchschnittlich  $-4.13$  (ORF1a/1b-Gen) und  $-5.59$  (E-Gen) beobachtet. Mit einem besonderen Augenmerk auf die 0.1% Azelastin Gruppe und die Placebo-Gruppe, ergaben sich jedoch keine statistisch auffälligen Unterschiede. Zwar sank die Viruslast in der 0.1% Gruppe am meisten, vergleichbare Ergebnisse wie Gottlieb *et al.* in seiner Studie zu monoklonalen Antikörpertherapien in COVID-19 Patienten an Tag 11 ( $-0.57$ ,  $p=0.01$ ), konnten dennoch nicht verzeichnet werden (ORF1a/1b-Gen:  $-0.63$ ,  $p=0.188$ , E-Gen:  $-0.19$ ,  $p=0.618$ )<sup>54</sup>.

Auch war ein besonders starker Abfall der Viruslast in der 0.1% Azelastin Gruppe verglichen mit der Placebo-Gruppe, gemessen am ORF1a/1b-Gen an den Tagen 4 und 8 zu erkennen. Dies spiegelte sich als auffälliger Wert in der Fläche unter der Kurve Analyse wider. Es zeigte sich, dass sich die Viruslast, in der 0.1% Azelastin Gruppe im Vergleich zur Placebo-Gruppe, auffällig mehr reduzierte ( $p=0.007$ ), mit der größten Diskrepanz zwischen Tag 4 und 8. Der Höchstwert der Viruslast wird der Literatur zufolge zeitgleich mit dem Symptombeginn verzeichnet<sup>44,90</sup>. Da die Patienten dieses Kollektivs 1-2 Tage vor Beginn der Behandlung positiv auf das SARS-CoV-2 Virus getestet wurden und gegebenenfalls zu diesem Zeitpunkt schon Symptome hatten, würde dadurch ein auffälliger Abfall schon am 4. Tag in einigen Patienten, die zusätzlich mit Azelastinhydrochlorid behandelt wurden, erklärt werden.

Wichtig zu sagen ist, dass die Viruslast in allen drei Gruppen über den Behandlungszeitraum sank. Der Abfall war in der 0.1% Azelastin Gruppe durchgängig, am größten, jedoch ohne nachgewiesene statistische Auffälligkeit. Dabei ist anzumerken, dass auch ohne Behandlung, die Viruslast auf natürlichem Wege, verringert wird. Studienergebnisse zeigten hier, dass die natürliche Virusbekämpfung bis zur Genesung in milden Verläufen etwa 14 Tage dauert<sup>91</sup>. Daher war zu erwarten, dass auch die Placebo-Gruppe eine stetige Verringerung der Viruslast zeigt.

Anzumerken ist auch, dass eine Studie von Samuel Lang *et al.*, in Israel, sich mit der Wirksamkeit von Hypromellose-Nasenspray und dem Auftreten einer SARS-CoV-2 Infektion beschäftigte. Hypromellose war der Hauptbestandteil des Placebo-Präparats dieser Studie. In der eben genannten beobachtenden prospektiven Open-Label Benutzer-Umfrage Studie zeigte sich, dass Hypromellose dazu beitragen könnte, eine Infektion mit SARS-CoV-2 zu verhindern<sup>92</sup>. Es kann also nicht ausgeschlossen werden, dass das verabreichte Placebo-Präparat sich auch positiv auf die Verringerung der Viruslast auswirkte. Die durchschnittliche

Genesungsdauer betrug 10.63 Tage gemessen am E-Gen und 10.39 Tage gemessen am ORF1a/1b-Gen. Es ergaben sich keine auffälligen Unterschiede, jedoch ist auch hier zu erkennen, dass die Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe schneller genesen waren als die der Placebo-Gruppe (E: 0.01%=10.33, Placebo=11, ORF1a/1b: 0.01%=9.96, Placebo=11). Diese Ergebnisse zeigten auch, dass die Genesung aller drei Gruppen schneller war, als die der Patienten anderer Studien, ohne Behandlung<sup>91</sup>.

Eine >10-fache Senkung der Viruslast korrespondiert einer ≥90% Senkung der log<sub>10</sub> Kopien Nummer pro Milliliter. Dieser Wert wurde für alle Visiten-Tage für beide Messungspunkte bestimmt. Von besonderer Bedeutung hierbei war, vor allem die Veränderung an Tag 3, da die bereits erwähnte CEBINA Studie von Konrat *et al.* eine auffällige Verringerung der Viruslast von 99.9% in rekonstruierter menschlicher Nasenschleimhaut, nach der Benutzung von 0.02% haltigem Azelastin-Nasenspray, beobachtete<sup>75</sup>.

Basierend auf diesen Ergebnissen, wurde die zusätzliche Konzentration des 0.02% Azelastin-Nasensprays für diese Studie, gewählt

Die vorgestellten Ergebnisse der CEBINA Studie, konnten durch die vorliegende Studie, jedoch nicht unterstützt werden. Zwar zeigt sich, dass mehr Patienten, die Azelastin-haltiges Nasenspray benutzten, diesen Wert bis Tag 3 erreichten als diejenigen der Placebo-Gruppe, dennoch waren die Ergebnisse nicht statistisch auffällig. Auch konnte kein Unterschied der verschiedenen Konzentrationen von Azelastin-Nasenspray erkannt werden.

Es ist anzumerken, dass das rekonstruierte Nasenschleimhautgewebe nach einem anderen Schema mit Azelastin behandelt wurde als die Patienten dieser Studie. So wurde die rekonstruierte Nasenschleimhaut der CEBINA Studie, 20 Minuten einmal täglich mit der Azelastinhydrochlorid Lösung behandelt, während Patienten der hiesigen Studie dreimal täglich einen Sprühstoß pro Nasenloch eigenständig applizierten. Über die genaue Zeit und das Ausmaß des Kontaktes zwischen Nasenschleimhaut und Wirkstoff kann demnach bei den Patienten dieser Studie keine Auskunft gegeben werden.

Als wichtiger, sekundärer Endpunkt der Studie, galt es, die Symptomatik der Patienten im Verlauf der Studie zu beobachten. Wie in der Literatur beschrieben, wurde vor dieser Studie vermutet, dass durch Azelastins positiven Einfluss auf die Entzündungsreaktion, Symptome in den Azelastin Gruppen, eine schnellere Verbesserung zeigen als in der Placebo-Gruppe. Besonders durch die beschriebene stabilisierende Wirkung auf Mastzellen und dadurch geringeren Ausstoß von entzündungsfördernden Mediatoren, sollte Azelastin eine positive Wirkung auf die Symptomatik haben<sup>93</sup>. Der kalkulierte Summen Score, aus allen 21 untersuchten Symptomen, sollte dazu einen generellen Überblick über den Krankheitsverlauf der Patienten geben. Vorweg ist zu sagen, dass die Patienten nicht die Wahl hatten, das

Auftreten von Symptomen zu verneinen. Die geringste auswählbare Antwort im elektronischen Tagebuch war „sehr schwach“, daher ist es retrospektiv unmöglich zu beurteilen, ob Patienten, die diese Angabe machten, tatsächlich schwach Symptomatik hatten oder keine Symptome wahrnahmen. Es zeigte sich, dass die Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe, die meisten Symptome angaben (0.1%=41.11 Punkte, 0.02%=37.46 Punkte, Placebo=37.08 Punkte). Die selbige Gruppe wiederum zeigte gleichfalls die größte Verbesserung der Symptomatik (0.1%= -12.74 Punkte, 0.02%= - 8.54 Punkte, Placebo= -11.12 Punkte), wohingegen die Placebo-Gruppe am Ende der Studie insgesamt die wenigste Symptomatik angab. Die Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen waren nicht auffällig. Demnach zeigten alle drei Gruppen eine Verbesserung der Symptomatik und es kann kein genauer Aufschluss zum positiven Effekt auf den Krankheitsverlauf einer der drei Behandlungsmethoden geschlossen werden. Wenn man jedoch die Symptome einzeln betrachtete, zeigten sich hinsichtlich einiger Symptome Unterschiede zwischen den Gruppen. So war zu erkennen, dass die Kurzatmigkeit in der Placebo Gruppe an Tag 3 und 4 auffällig schlimmer war als in der 0.1% Azelastin Gruppe (Tag 3:  $p=0.004$ , Tag 4:  $p=0.011$ ).

Dieses Ergebnis unterstützt die Vermutung, dass Azelastin eine positive Wirkung auf die entzündliche Schädigung des Lungengewebes hat.

Ein weiteres auffälliges Symptom war der Geruchsverlust, der als auffällig höher in der 0.02% Azelastin Gruppe gegenüber der Placebo-Gruppe an Tag 2 angegeben wurde ( $p=0.006$ ). Nach Angaben des Herstellers wird eine Reizung der Nasenschleimhaut nach Anwendung des Präparats als gelegentliche Nebenwirkung beschrieben<sup>70</sup>. Diese mögliche zusätzliche Reizung der Schleimhaut, des ohnehin schon durch COVID-19 entzündeten Epithels, durch die Applikation der wirkstoffhaltigen Medikation, könnte das Symptom des Geruchsverlustes, gegenüber der Placebo Gruppe, verstärken. Jedoch ist damit nicht erklärt, dass die 0.1% Azelastin Gruppe keine vergleichbaren Ergebnisse hinsichtlich des Geruchsverlustes zeigt.

Letzteres ergab sich ein statistisch auffälliger Unterschied zwischen der 0.02% und der 0.1% Azelastin Gruppe hinsichtlich der Erschöpfung ( $p=0.004$ ). Die Gruppe der 0.02% Azelastin Patienten, zeigte dabei eine geringere Verbesserung der Erschöpfung. Obwohl Antihistamin-Präparate der zweiten Generation nicht sedierend wirken sollten, gab der Hersteller, wie auch die Nasenschleimhautreizung, auch Erschöpfung als mögliche Nebenwirkung an<sup>63,70</sup>. Jedoch, verzeichnete die 0.1% Azelastin Gruppe, hinsichtlich der Erschöpfung die größte Verbesserung aller drei Gruppen, was gegen einen Zusammenhang zwischen der Erschöpfung der 0.02% Azelastin Patienten und dem Wirkstoff spricht.

Vergleichbar, gibt es in der Literatur hinsichtlich des Zusammenhangs von Müdigkeit mit dem Wirkstoff Azelastinhydrochlorid auch einige Verwerfungen. So fanden sowohl Lee *et al.*, als

auch Bernstein *et al.* in heraus, dass im Falle einer allergischen Rhinitis verstärkt Müdigkeit in der Patientengruppe mit Azelastinhydrochlorid Behandlung auftrat, gegenüber der Placebo-Gruppe <sup>62,69</sup>. In Patienten, die aufgrund von vasomotorischer Rhinitis behandelt wurden, konnten diese Ergebnisse nicht bestätigt werden <sup>62</sup>. Auch gab es Abweichungen in anderen Studien. La Force *et al.*, Berger *et al.* und Corren *et al.* fanden vergleichbare Werte der Müdigkeit in der Azelastin Gruppe sowie der Placebo-Gruppe <sup>71,72,94</sup>. Auch in der Literatur finden sich demnach keine eindeutigen Ergebnisse, dennoch rät auch der Hersteller vom gleichzeitigen Konsum von Alkohol oder der Einnahme von reaktionsmindernden Medikamenten ab <sup>70</sup>.

Neben den 21 häufigsten Symptomen wurden auch die Temperatur und die Sauerstoffsättigung der Patienten evaluiert.

Insgesamt ergab sich durchschnittlich die höchste Körpertemperatur in der 0.1% Azelastin Gruppe. Von 10 Patienten, die während der Studie Fieber hatten (Temperatur >38°C), gehörten 8 der 0.1% Azelastin Gruppe an, was die höhere Durchschnittstemperatur in dieser Gruppe erklärt. Diese Ergebnisse stimmten auch mit der höheren Angabe von Symptomen in der 0.1% Azelastin Gruppe gegenüber der anderen Gruppen überein, da Fieber ebenso ein Teil der Symptomabfrage war.

Hinsichtlich der Sauerstoffsättigung zeigte sich kein Unterschied in den Gruppen, dennoch ist zu sagen, dass in der 0.02% Azelastin Gruppe die meisten Patienten mit einer Sauerstoffsättigung von <95% dokumentiert wurden (n=7).

Der Patientenstatus wurde mittels des WHO Gesundheitsstatus überprüft. Da in dieser Studie Patienten, die eine Krankenhausbehandlung benötigten ausgeschlossen wurden, wurde höchstens ein Status von 3 gemessen.

Der höchste gemessen Status, war Status 3, der in einem Patienten der Placebo-Gruppe an Tag 4 gemessen wurde. Generell zeigte sich, dass die Patienten der 0.1% und 0.02% Azelastin Gruppe einen höheren Status zugeordnet bekamen als die der Placebo-Gruppe. Diese Ergebnisse, deckten sich mit den Angaben der Patienten zur Symptomatik, da die Patienten jener Gruppen, symptomatischer waren, als die der Placebo Gruppe.

Auch ist zu sagen, dass die Skalierung sowohl am oberen als auch am unteren Bewertungsspektrum Variabilität zulässt und von verschiedenen Prüfern subjektiv bewertet werden konnte. Dies ließ eine gewisse Interpretationsfreiheit offen, besonders hinsichtlich der Bewertung der Selbständigkeit der Patienten (Differenzierung von Status 2 und 3).

Zur Abfrage der Lebensqualität wurde eine auf 12-Punkte verkürzte Version des SF-36 Fragebogens genutzt. Geprüft wurden 8 Domänen einzeln, die weiterhin, in psychische oder körperliche Summenskalen, zusammengefasst wurden. Die Validität dieses kürzeren Fragebogens wird in der Literatur bestätigt<sup>87,95</sup>. Dennoch ist zu erwähnen, dass in den genannten Referenzen zur Validität ein älteres Patientenkollektiv gewählt wurde<sup>95</sup>. In den vorliegenden Ergebnissen zeigte sich, dass die 0.1% Azelastin Gruppe die niedrigsten Werte zur Lebensqualität angab. Dieses Ergebnis, war der Symptomatik dieser Patientengruppe zufolge, zu erwarten, da diese Gruppe ebenfalls die meisten Symptome während des Krankheitsverlaufes angab.

Darüber hinaus, wurde dokumentiert, dass die Gruppe der 0.02% Azelastin Patienten gegenüber den Patienten der Placebo Gruppe zwar zu Beginn der Studie am zufriedensten bezüglich der sozialen Funktionsfähigkeit waren, jedoch im Verlauf der Studie die größte Verschlechterung dieser Domäne verzeichneten, während die Placebo-Gruppe sogar eine positive Verbesserung angab (Tag 11= 0.02%: -18.52 Punkte, Placebo: +7.69). Auch bezüglich des psychischen Wohlbefindens ergaben sich ähnlich Ergebnisse. Alle Gruppen zeigten eine Verbesserung in dieser Domäne, dennoch verdeutlichten die Werte der 0.1% Azelastin Gruppe und der Placebo-Gruppe eine auffällig größere Verbesserung als die der 0.02% Azelastin Gruppe (Tag 11= 0.01%: +8.32, 0.02%: + 0.15, Placebo: +11.38 Punkte). Mit Bezug auf das Ergebnis der Symptomatik, bei dem sich zeigte, dass die 0.02% Azelastin Gruppe auffällig mehr Erschöpfung angab, ließ sich vermuten, dass diese Symptomatik, sich auch negativ auf die soziale und psychische Funktionsfähigkeit auswirken kann.

Zur Sicherheit und Verträglichkeit der Prüfmedikation ist zu sagen, dass Azelastin als sehr gut tolerierbar angesehen wurde. Es wurden 51 Ereignisse von Nebenwirkungen mit der Gabe der Medikation in Verbindung gebracht, von denen 2 eine wahrscheinliche Kausalität hatten. Das geringste Auftreten von Nebenwirkungen wurde in der 0.1% Azelastin Gruppe verzeichnet. Die beiden Nebenwirkungen mit wahrscheinlicher Kausalität zur Prüfmedikation jedoch ereigneten sich in den Gruppen, die Azelastin als Bestandteil ihres Nasensprays hatten. Zu den erwähnten Symptomen gehörten zum einen ein bitterer Geschmack und zum anderen die Trockenheit der Nasenschleimhaut. Diese Ergebnisse stimmen mit den Erkenntnissen der gesichteten Literatur überein. Ebenso wertete Berger *et al.*, in seiner Studie zur Wirksamkeit von Azelastin Nasenspray in saisonaler Rhinitis das selbige Medikament als sicher und gut verträglich. Auch er verzeichnete einen bitteren Geschmack als Nebenwirkung<sup>71</sup>. Vergleichbare Ergebnisse dokumentierten auch Lee *et al.* und Bernstein *et al.*, die zusätzlich ein häufiges Auftreten von brennender Nasenschleimhaut verzeichneten<sup>62,69</sup>.

Darüber hinaus wurde am letzten Tag eine Abschlussuntersuchung durchgeführt, bei der sowohl die Prüfarzte, als auch die Patienten, die Verträglichkeit und Wirksamkeit der erhaltenen Medikation bewerteten. Es ergab sich, dass die Prüfarzte das Placebo-Präparat als auffällig verträglicher werteten, als das 0.02% Azelastin Präparat. Die Patienten gaben keine vergleichbaren Ergebnisse an. Es ließ sich vermuten, dass die Einschätzung der Ärzte ebenfalls mit der höheren Erschöpfung, der 0.02% Azelastin Gruppe, zusammenhing, da eben diese Gruppe ebenfalls eine geringere Lebensqualität angab.

Nach der Sichtung der erhobenen Daten wurden einige post-hoc Analysen durchgeführt. Insgesamt wurden vier Subgruppen hinsichtlich der Viruslast, der Symptomatik und der Lebensqualität untersucht. Die Subgruppen wurden anhand der Ct-Werte erstellt. Als Maß dieser Einteilung galt die Erkenntnis, dass es möglich war, Zellkulturen erfolgreicher aus den Abstrichen jener Patienten zu züchten, die einen niedrigen Ct-Wert (<25) hatten<sup>89</sup>. Daher wurde ein niedriger Ct-Wert (<25) als Maß einer höheren Infektiosität gesehen und diese Gruppe näher beleuchtet. Zusätzlich wurden auch Patienten mit einem Ct-Wert von < 20 individuell untersucht.

Darüber hinaus wurden zusätzlich, sowohl eine Subgruppe von Patienten mit einem Ct-Wert über dem Median und eine mit einem Ct-Wert unter dem Median der gesamten Population, gewählt.

Betrachtete man die Gruppe der Patienten, die anfänglich einen Ct-Wert von < 25 zeigten, fiel auf, dass Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe einen auffällig größeren Abfall der Viruslast als die Placebo-Gruppe an Tag 4 verzeichnete. Dies zeigte sich sowohl bei Messungen des Ct-Wertes, an beiden Messstellen, angepasst an die Ausgangslage (E-Gen: 0.01%= +6.63, Placebo= +3.63 [p=0.006]; ORF1a/1b-Gen: 0.01%= +6.19, Placebo= +3.37 [p=0.005]), als auch aus den daraus berechneten Werten der Viruslast (E-Gen: 0.01%= -2.39 cp/ml, Placebo= -1.13 cp/ml [p=0.006]; ORF1a/1b-Gen: 0.01%= -1.90 cp/ml, Placebo= -1.05 cp/ml [p=0.005]). Es zeigte sich sehr deutlich, dass die Ergebnisse dieser Subgruppe, die als Gruppe mit wertbarer Infektiosität gilt, einen auffallend relevanteren Effekt der Prüfmedikation zeigt als die Gesamtpopulation (ITT Gruppe). Daraus lässt sich schließen, dass Patienten mit höherer Grundviruslast mehr von der Gabe von Azelastin profitieren, als die mit einer ausganglich niedrigeren Viruslast. Zudem ergab sich in der gewählten Subpopulation ein leicht höherer Symptom Score, verglichen mit der ITT Population in allen drei Behandlungsgruppen (Durchschnittliche Ausgangslage: ITT = 38.58 Punkte, Ct-Wert <25 = 40.56 Punkte). In der Literatur ergeben sich dazu verschiedene Ergebnisse. Eine systematische Übersichtsarbeit von Walsh *et al.* präsentierte als Schlussfolgerung aus neun Studien, dass eine Assoziation zwischen einer hohen Viruslast und dem vermehrten Auftreten von Symptomen besteht<sup>96</sup>. Dadras *et al.* hingegen gaben, ebenfalls nach einer

systematischen Literaturanalyse, uneindeutige Resultate hinsichtlich dieses Zusammenhangs an<sup>97</sup>.

Bestärkend wurde in der Subpopulation derer Patienten, die einen Ct-Wert < 20 hatten, ähnliche Ergebnisse wahrgenommen. An Tag 8 zeigte sich in dieser Subpopulation eine auffällig größere Senkung der Viruslast, der 0.1% Azelastin Gruppe, gegenüber der Placebo-Gruppe. Der spätere Zeitpunkt dieser Senkung gegenüber der Subpopulation, mit einem Ct-Wert < 25, lässt sich durch die höhere Virusbelastung erklären. So dauert der Virusabfall bei einer sehr hohen Viruslast tendenziell länger<sup>98</sup>.

Auch fiel auf, dass, wie in der Literatur bereits erwähnt, Patienten mit einer hohen Viruslast tendenziell kränker sind<sup>44</sup>. Dies spiegelten die Ergebnisse dieser Studie wider, da die Patienten dieser Subgruppe die höchsten Werte im Symptom-Score angaben. Ebenfalls ist aber zu betonen, dass eben diese Gruppe die größte Verbesserung dieser Symptomatik im Verlauf aufzeigte. Daher ist anzunehmen, dass Patienten mit hoher Viruslast mehr von der Gabe von Azelastin Nasenspray profitieren.

Zusätzlich zu diesen beiden Subpopulationen wurden auch Patienten mit einem Ct-Wert über oder unter dem Median näher untersucht.

Patienten, mit einem Ct-Wert < Median, welche als Patienten, die tendenziell eine höhere Viruslast hatten, galten, zeigten keine statistisch auffälligen Ergebnisse.

Patienten mit einem Ct-Wert > Median zeigten hingegen einige Auffälligkeiten hinsichtlich der sekundären Endpunkte.

Der Symptom Score war durchschnittlich niedriger als in der Gesamtpopulation, da in dieser Gruppe auch Patienten mit einem vergleichbar hohen Ct-Wert (>25) eingeschlossen waren, die vermutlich weniger Symptome zeigten. Ein auffälliger Unterschied des Symptom-Scores zwischen der 0.1% und 0.02% Azelastin Gruppe machte sich deutlich. Die 0.1% Azelastin Gruppe zeigte dabei eine auffällig bedeutende Verbesserung zum Ausgangswert ( $p=0.008$ ), während die Patienten der 0.02% weiterhin steigende Symptomatik verzeichneten. Dieses Ergebnis wurde untermalt, wenn man die Symptome im Einzelnen betrachtete. Dabei dokumentierte, die 0.02% Azelastin Gruppe, eine Verschlechterung des Geruchssinns, indes zeichnete die Placebo-Gruppe eine Verbesserung ab. Dieser Unterschied zeigte statistische Auffälligkeit ( $p=0.11$ ). Auch, war die Verschlechterung der 0.02% Azelastin Gruppe größer, als die der 0.1% Gruppe. Weiterhin drückten sich ähnlich Ergebnisse bezüglich des Geschmackssinns an Tag 3 aus ( $p=0.016$ ). Darüber hinaus ergaben sich ebenfalls statistisch auffällige Ergebnisse hinsichtlich der Erschöpfung und der Schläfrigkeit der 0.02% Azelastin Gruppe gegenüber der 0.1% Azelastin Gruppe.

Interessant war, dass die 0.02% Azelastin Gruppe an Tag 6, 7, 10 und 11 auffällig mehr Erschöpfung dokumentierte als die 0.1% Azelastin Gruppe. An Tag 6 und 7 zeigte lediglich die 0.02% Gruppe eine Verschlechterung der Erschöpfung, während an Tag 10 und 11 alle

Gruppen eine Verbesserung angaben, jedoch war die Verbesserung in der 0.1% Gruppe auffällig höher (Tag 6:  $p=0.011$ , Tag 7:  $p=0.008$ , Tag 10:  $p=0.002$ , Tag 11:  $p=0.007$ ). Hinsichtlich der Schläfrigkeit ergaben sich ähnliche Daten. Die Gruppe der 0.02% Azelastin Patienten dokumentierte an Tag 8, 9 und 11 auffällig erheblichere Schläfrigkeit als die 0.1% Azelastin Gruppe (Tag 8:  $p=0.007$ , Tag 9:  $p=0.002$ , Tag 11:  $p=0.003$ ).

Dies unterstrich nicht nur das Ergebnis des höheren Symptoms Scores dieser Gruppe, sondern auch vorangegangene Ergebnisse der Gesamtpopulation. Daraus ließ sich schließen, dass Patienten der 0.02% Gruppe, mit einem höheren Ct-Wert, eine größere Veränderung der Erschöpfung gegenüber der 0.1% Gruppe zeigten, da diese auffälligen Unterschiede in anderen Subpopulationen nicht nachgewiesen werden konnten.

Darüber hinaus zeigte sich ein auffälliger Unterschied zwischen der 0.1% Azelastin Gruppe und der Placebo-Gruppe in Bezug auf das Auftreten von Husten und Kurzatmigkeit. An Tag 4 verzeichnete die 0.1% Azelastin Gruppe auffällig weniger Husten als die Placebo-Gruppe ( $p=0.012$ ) und an Tag 3 und 4 ebenfalls auffällig weniger Kurzatmigkeit (Tag 3:  $p=0.010$ , Tag 4:  $p=0.006$ ). Besonders das Ergebnis hinsichtlich der Kurzatmigkeit deckte sich mit den Ergebnissen der Gesamtpopulation. Dadurch ließ sich auch hier sagen, dass die Patienten der 0.1% Azelastin Gruppe, mit niedrigerem Ct-Wert in diesem Patientenkollektiv eine bedeutendere Verbesserung als die Placebo-Gruppe, zeigten.

Ebenso spiegelten sich diese Erkenntnisse in der Analyse der Lebensqualität wider. Auch hier zeigte, die 0.02% Azelastin Gruppe auffällig schlechtere Werte bezüglich der sozialen Funktionsfähigkeit und des psychischen Wohlbefindens als die Placebo Gruppe, was vermutlich auf die erhöhte Erschöpfung und Schläfrigkeit zurückzuführen war.

Insgesamt ließ sich sagen, dass die Gruppe der Patienten mit einem Ct-Wert  $>$  Median, die Ergebnisse der Gesamtpopulation sehr gut widerspiegelte. Dennoch ist auch wichtig zu erwähnen, dass die Gabe von Azelastin bei Patienten mit höherer Viruslast eine auffälligere Wirkung hinsichtlich der Viruslastsenkung zeigte.

#### **4.1. Einordnung in den aktuellen Forschungsstand**

Die beschriebene, prospektive, doppelt-blinde, randomisierte, Placebo-kontrollierte, proof-of-concept Studie ist die erste Studie, welche die Wirksamkeit von Azelastin in COVID-19 positiven Patienten *in vivo* testete. Dabei wurde vermutet, dass Azelastin-haltiges Nasenspray sich reduzierend auf die Viruslast auswirkt.

Bis dato zeigten *in vitro* Studien vielversprechende Ergebnisse. So präsentierten drei Studien Ergebnisse zu bereits zugelassenen Präparaten, die als mögliche Eintrittsinhibitoren des Virus wirken könnten. Yang *et al.* durchsuchten eine Medikamentendatenbank und testeten

15 Präparate *in vitro* auf ihre Wirksamkeit <sup>77</sup>. Sieben derer waren Antihistamin Präparate. Reznikov *et al.* konzentrierten sich wiederum nur auf die Wirkung von Antihistaminika und fanden eine niedrigere Rate an positiven Tests in einer älteren Patientengruppe (> 61 Jahre) und belegten dies durch den direkten antiviralen Effekt der Medikamente durch ihre Bindung an den ACE-2 Rezeptor und den Sigma-1 Rezeptor <sup>46</sup>. Damit war Reznikov's Patientenkollektiv bedeutend älter, als das hier untersuchte und spiegelte es nicht gut wider. Ge *et al.* maßen den Effekt der Interaktion von Azelastinhydrochlorid und dem ACE-2 Rezeptor in ihrer Studie und erkannten eine hohe Affinität für den ACE-2 Rezeptor und eine moderat starke Bindungsstärke <sup>76</sup>.

Die genannten *in vitro* Studien zeigten vielversprechende Ergebnisse und betonten die Wichtigkeit einer darauf basierenden *in vivo* Studie, um die erlangten Erkenntnisse zu bestätigen. In der Vergangenheit zeigte sich, dass trotz ähnlich positiven *in vitro* Testungen *in vivo* keine Wirksamkeit zu erfassen war. So wurde beispielsweise hinsichtlich Hydroxychloroquin erst nach *in vivo* Versuchen erkannt, dass der Wirkstoff keine Wirkung in respiratorischem Epithel hatte <sup>99</sup>. Um dies für Azelastin auszuschließen, untersuchte die CEBINA Studie die Wirkung in rekonstruiertem Nasenepithel. Es ergab sich eine 99.9% Verringerung der Viruslast nach 3-tägiger Applikation von Azelastin auf menschlicher rekonstruierte Nasenschleimhaut <sup>75</sup>. Diese Erkenntnis konnte *in vivo* nicht bestätigt werden. Zwar verzeichneten mehr Patienten, der 0.1% Azelastin Gruppe nach drei Tagen eine 10-fache Verringerung der Viruslast als die Vergleichsgruppen, dennoch erreichten die Werte keine statistische Auffälligkeit.

Ebenso zeigten sich in der Gesamtpopulation keine auffälligen Unterschiede bezüglich der Verringerung der Viruslast. Dennoch ist bestärkend zu erwähnen, dass die zusätzliche Fläche unter der Kurve Analyse einen auffällig größeren Abfall der Viruslast in der 0.1% Gruppe gegenüber der Placebo-Gruppe aufzeigen konnte, ebenso wie die Subgruppen Analysen derer Patienten mit niedrigem Ct-Wert. Daraus ergab sich eine höhere Wirksamkeit in einem Patientenkollektiv, das von einer hohen Viruslast befallen ist. Aus der Literatur ging hervor, dass ältere Patienten tendenziell eine höhere Viruslast vorwiesen und einen schwerwiegenderen Verlauf erlitten <sup>46,97</sup>.

Da das betrachtete Kollektiv sehr jung war, war die Subgruppe von Patienten mit einem niedrigen Ct-Wert vermutlich sehr klein.

Derzeitig ist die sich rasant ausbreitende Omikron Variante die dominierende Variante. Zur Zeit der aktiven Studienphase herrschten sowohl die Alpha Variante (B.1.1.7) als auch der Wild-Typ vor. Aus Studien ging hervor, dass die damals neuartige Variante mit einer höheren Viruslast in Verbindung gebracht wurde, als der Wild-Typ <sup>39</sup>. Dies erklärt, den durchschnittlich höheren Wert der Viruslast als ursprünglich erwartet. Ähnlich verhielt es sich mit der sich später entwickelten Delta Variante und der nun aktuellen Omikron Variante <sup>100</sup>. Nicht nur die

Infektiosität erhöhte sich stetig durch das Auftreten neuer Varianten, es wurden zudem auch zunehmend Impfdurchbrüche, selbst nach vollständiger Immunisierung, verzeichnet <sup>101,102</sup>.

Levine-Tiefenbrun *et al.* berechneten zur Zeit dieser Studie eine 2.8-4.5-fache Verringerung der Viruslast in vollständig geimpften Personen im Falle einer Infektion. Da eine 2 bis 4-fach höhere Viruslast die Wahrscheinlichkeit der Ansteckung anderer um 8-17% steigert, könnte eine Verringerung dieser um den genannten Wert das Ansteckungsrisiko auffällig verringern <sup>103</sup>. In der bereits erwähnten CEBINA Studie wurde ebenfalls eine auffällige Abnahme der Viruslast durch die Applikation von Azelastin herbeigeführt. In der vorliegenden Studie ist zwar kein auffälliger Unterschied zwischen den Gruppen erkennbar, dennoch sank die Viruslast um ein 10-faches zu größeren Anteilen in der 0.1% Azelastin Gruppe, als in der Placebo-Gruppe nach nur 3. Tagen. In Hinblick auf die immer infektiöser werdenden Varianten und der verzeichneten Impfdurchbrüche, ist dies eine sehr vielversprechende Erkenntnis, da die Infektiosität nach Impfung und der Applikation von Azelastin zusätzlich um ein Vielfaches verringert werden könnte. Da in dieser Studie, weder vollständig Geimpfte teilnahmen, noch die Thematik der Übertragbarkeit der Infektion nach Gabe von Azelastin untersucht wurde, könnten dies weiterführend eine interessante Forschungsfrage sein.

Auch lehnte sich die Studie an Ergebnisse zur Wirksamkeit anderer Medikamente an. So war ein wichtiger Faktor für die Dauer der Applikationszeit die Erkenntnis von Gottlieb *et al.*, dass die Viruslast nach einer Kombinationstherapie mit Bamlamivimab und Etesevimab am 11. Tag auffällig abfiel <sup>54</sup>. Diese Resultate konnten in der hiesigen Studie nicht belegt werden, jedoch zeigte sich ein auffälliger Unterschied innerhalb der Subgruppenanalyse zum 4. und zum 8. Tag. Das Patientenkollektiv war vergleichbar mit dem der vorliegenden Studie sehr jung. Zudem wurden bei Gottlieb *et al.* lediglich Patienten mit präsenter Symptomatik eingeschlossen, dennoch war der mittlere Ct-Wert in jener Studie höher (23.6) als der des untersuchten Patientenkollektivs (22.7). Daraus lässt sich schließen, dass die Viruslast in Patienten mit niedrigerem Ct-Wert unter Azelastin-Behandlung schneller abfiel als in vergleichbaren Studien durch andere Medikation.

Weiterführend ist zu nennen, dass in Studien zur Wirksamkeit von Remdesivir und Dexamethason ebenfalls eine positive Wirkung gezeigt wurde. In einem vergleichbaren Studiendesign wurden hospitalisierte Patienten in einem Zeitraum von 10 Tagen mit dem jeweiligen Präparat behandelt. Bewertet wurden schwer erkrankte Patienten in der Studie zu Remdesivir anhand der Gesundheitsstatus-Skala nicht anhand der Viruslast <sup>48</sup>. Die RECOVERY-Studie zu Dexamethason beschäftigte sich mit der Mortalität und der Auswirkung auf entzündliche Lungenschädigung <sup>50</sup>. Auch Azelastin besitzt anti-entzündliche Eigenschaften und es wurde vermutet, dass diese sich positiv auf die Schädigung des Lungengewebes auswirken könnten <sup>75</sup>. Es konnte diesbezüglich festgehalten werden, dass

die 0.1% Azelastin Gruppe an Tag 3 und 4 auffällig weniger Kurzatmigkeit verzeichnete als die Placebo-Gruppe.

Beide Präparate, sowohl Remdesivir als auch Dexamethason, zeigten in den jeweiligen Studien eine Wirksamkeit besonders in schwer betroffenen Patienten, die unterstützende Maßnahmen zur Atmung benötigten. Diese Patientengruppe war nicht Zielgruppe dieser Arbeit. Dennoch ist zu wichtig zu erwähnen, dass diese vergleichbaren Studien ein weitaus größeres Patientenkollektiv umfassten.

Darüber hinaus verzeichneten die genannten Studien das Auftreten von schweren Nebenwirkungen<sup>48,50,54</sup>. Azelastin hingegen bestätigte sich als sehr gut verträglich.

Abschließend ist zu betonen, dass Azelastin-haltiges Nasenspray in einer handelsüblichen Konzentration von 0.1% die Abnahme der Viruslast positiv beeinflusst und eine Verminderung der COVID-19-bedingten Symptomatik herbeiführt. Dies war vor allem bei Patienten mit höherer Viruslast jedoch milden Verlauf zu beobachten. Azelastin Nasenspray kann zudem durch seine einfache Anwendung, das gute Nebenwirkungsprofil und die kostengünstige Beschaffung einer breiten Bevölkerungsgruppe zur Verfügung gestellt werden.

Zusätzliche Analysen mit einem größeren Patientenkollektiv könnten weitere Erkenntnisse bringen, auch in Hinblick auf die Wirksamkeit bei neuartigen Varianten. Auch eine mögliche Kombination mit anderen Präparaten, beispielsweise Glukokortikoiden, wäre denkbar. Wünschenswert wäre weiterhin der Einschluss von zusätzlich geimpften Personen im Rahmen eines umfangreicheren Patientenkollektivs.

## **4.2. Limitationen**

Im Mittelpunkt dieser Studie standen COVID-19 positiv getestete Patienten, die einen milden bis moderaten Verlauf der Krankheit dokumentierten. Folglich wurden diejenigen mit schwerem Krankheitsverlauf nicht berücksichtigt und es konnten keine Rückschlüsse auf die Wirksamkeit in dieser Gruppe gemacht werden.

Darüber hinaus war das gegebene Patientenkollektiv sehr jung und der Verlauf von einer älteren Zielgruppe, die oftmals mehr unter der Erkrankung leiden, fiel weniger ins Gewicht.

Das beobachtete Patientenkollektiv war darüber hinaus sehr klein. Insbesondere die Analyse der Subgruppe der Patienten mit einer hohen Viruslast benötigt weiterführend mehr Patienten, um einen etwaigen Zufallsbefund auszuschließen. Eine größere Studie wird nötig sein, um die gegebenen Ergebnisse zu belegen.

Eine weitere Limitation ist, dass die Applikation des Prüfpräparats von den Patienten eigenständig durchgeführt wurde und eine Konformität der Anwendung nur bedingt

gewährleistet werden konnte. Zudem war die Einschätzung der Symptomatik subjektiv durch die Patienten selbst beurteilt. Außerdem konnten die Patienten als geringste Ausprägung der Symptomatik nur „sehr schwach“ wählen und hatten nicht die Möglichkeit, das Auftreten von Symptomatik gänzlich zu verneinen.

Auch beleuchtet die beschriebene Studie eine Momentaufnahme von Ergebnissen bezüglich SARS-CoV-2 Varianten, die derzeit nicht mehr die dominierenden sind. Durch die rasant fortschreitenden Mutationen des Virus kann demnach keine Aussage über die Wirksamkeit hinsichtlich aktuell dominierender Virusvarianten getätigt werden.

Als Stärke dieser Studie ist jedoch die Homogenität nicht zu missachten. Es handelte sich nicht nur um ein sehr homogen verteiltes Patientenkollektiv, sondern auch um eine engmaschige Betreuung durch eine kleine Anzahl an Prüfärzten. Diese folgten einem klaren und gut standardisierten Schema zur Untersuchung der Patienten.

## 5. Literaturverzeichnis

- 1 Wermke Dr. M, Kunkel-Razum Dr. K, Scholze-Stubenrecht Dr. W. *Pandemie*. Duden - Die deutsche Rechtschreibung, 23. Aufl. 2004. Mannheim: Deutschland, Bibliographisches Institut & F.A. Brockhaus AG: Duden Verlag, 2004.
- 2 Li Q, Guan X, Wu P, *et al.* Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. *N Engl J Med* 2020; **382**: 1199.
- 3 Jin Y, Yang H, Ji W, *et al.* Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses* 2020, Vol 12, Page 372 2020; **12**: 372.
- 4 Masters PS, Perlman S. Fields Virology. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields Virology, Section II: Specific Virus families*. 6. Auflage. Philadelphia, PA, USA: Lippincott, Williams & Wilkins, 2013: 825–858.
- 5 Yesudhas D, Srivastava A, Gromiha MM. COVID-19 outbreak: history, mechanism, transmission, structural studies and therapeutics. *Infection* 2021; **49**: 199–213.
- 6 Kuiken T, Fouchier RAM, Schutten M, *et al.* Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet (London, England)* 2003; **362**: 263.
- 7 Drosten C, Günther S, Preiser W, *et al.* Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *The New England journal of medicine* 2009; **348**: 1967–76.
- 8 Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol* 2020; **41**: 1100.
- 9 RKI - Coronavirus SARS-CoV-2. SARS-CoV-2: Virologische Basisdaten sowie Virusvarianten. Robert Koch Institut . 2022; [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/Virologische\\_Basisdaten.html](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Virologische_Basisdaten.html) (zuletzt abgerufen am 21.01.2022)
- 10 EMA issues advice on use of Lagevrio (molnupiravir) for the treatment of COVID-19. European Medicines Agency. 2021; <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-issues-advice-use-lagevrio-molnupiravir-treatment-covid-19> (zuletzt abgerufen am 23.01.2022)
- 11 WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data. World Health Organization. 2022; <https://covid19.who.int/> (zuletzt abgerufen 25.01.2022)
- 12 Dbouk T, Drikakis D. Fluid dynamics and epidemiology: Seasonality and transmission dynamics. *Phys Fluids* 2021; **33**:2.
- 13 Park S, Lee Y, Michelow IC, Choe YJ. Global Seasonality of Human Coronaviruses: A Systematic Review. *Open forum Infect Dis* 2020; **7**: 11.

- 14 Tyrrell DAJ, Bynoe ML. Cultivation of a Novel Type of Common-cold Virus in Organ Cultures. *Br Med J* 1965; **1**: 1467.
- 15 Almeida JD, Tyrrell DA. The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture. *J Gen Virol* 1967; **1**: 175–8.
- 16 Stempka M. Expression und Reinigung der SARS-Coronavirus-M pro und deren Co-Kristallisation mit spezifischen Inhibitoren. 2011.
- 17 Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, *et al.* The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 2020 *54* 2020; **5**: 536–44.
- 18 Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu Rev Virol* 2016; **3**: 237.
- 19 Stertz S, Reichelt M, Spiegel M, *et al.* The intracellular sites of early replication and budding of SARS-coronavirus. *Virology* 2007; **361**: 304.
- 20 McBride R, van Zyl M, Fielding BC. The Coronavirus Nucleocapsid Is a Multifunctional Protein. *Viruses* 2014; **6**: 2991.
- 21 Reinke LM. Identifikation und funktionelle Charakterisierung von TMPRSS2-Spaltstellen im Spike-Protein des SARS-Coronavirus. 2017.
- 22 Hofmann H, Pöhlmann S. Cellular entry of the SARS coronavirus. *Trends Microbiol* 2004; **12**: 466.
- 23 Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, *et al.* Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circ Res* 2020; **126**: 1456–74.
- 24 Beniac DR, de Varennes SL, Andonov A, He R, Booth TF. Conformational Reorganization of the SARS Coronavirus Spike Following Receptor Binding: Implications for Membrane Fusion. *PLoS One* 2007; **2**:10.
- 25 Hoffmann M, Kleine-Weber H, Pöhlmann S. A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells. *Mol Cell* 2020; **78**: 779.
- 26 Heurich A, Hofmann-Winkler H, Gierer S, Liepold T, Jahn O, Pöhlmann S. TMPRSS2 and ADAM17 Cleave ACE2 Differentially and Only Proteolysis by TMPRSS2 Augments Entry Driven by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein. *J Virol* 2014; **88**: 1293.
- 27 Simmons G, Gosalia DN, Rennekamp AJ, Reeves JD, Diamond SL, Bates P. Inhibitors of cathepsin L prevent severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; **102**: 11876.
- 28 Hartenian E, Nandakumar D, Lari A, Ly M, Tucker JM, Glaunsinger BA. The molecular virology of coronaviruses. *J Biol Chem* 2020; **295**: 12910.

- 29 Vela JM. Repurposing Sigma-1 Receptor Ligands for COVID-19 Therapy? *Front Pharmacol* 2020; **11**.
- 30 Stadnytskyi V, Bax CE, Bax A, Anfinrud P. Brief Report: The airborne lifetime of small speech droplets and their potential importance in SARS-CoV-2 transmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; **117**: 11875.
- 31 Zhang R, Li Y, Zhang AL, Wang Y, Molina MJ. Identifying airborne transmission as the dominant route for the spread of COVID-19. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; **117**: 14857–63.
- 32 Kutter JS, Spronken MI, Fraaij PL, Fouchier RA, Herfst S. Transmission routes of respiratory viruses among humans. *Curr Opin Virol* 2018; **28**: 142.
- 33 Leung NHL, Chu DKW, Shiu EYC, *et al.* Respiratory Virus Shedding in Exhaled Breath and Efficacy of FaceMasks. *Nat Med* 2020; **26**: 676.
- 34 Doremalen N van, Bushmaker T, Morris DH, *et al.* Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med* 2020; **382**: 1564–7.
- 35 Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, *et al.* Harrison's Innere Medizin, In: Schlenk F, Suttorp N, Harrison Innere Medizin, Teil 8, Abschnitt 13: Infektionen durch respiratorische DNS- und RNS Viren. 19. Auflage, in Zusammenarbeit mit der Charité. 2016. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag, 2016: 1477-1479.
- 36 Wang D, Hu B, Hu C, *et al.* Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020; **323**: 1061.
- 37 Muralidar S, Ambi SV, Sekaran S, Krishnan UM. The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. *Biochimie* 2020; **179**: 85.
- 38 RKI - Coronavirus SARS-CoV-2. Übersicht zu besorgniserregenden SARS-CoV-2-Virusvarianten (VOC). Robert Koch Institut. 2022; [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/Virusvariante.html](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Virusvariante.html) (zuletzt abgerufen am 16.03.2022)
- 39 Kidd M, Richter A, Best A, *et al.* S-variant SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 is associated with significantly higher viral loads in samples tested by ThermoFisher TaqPath RT-qPCR. *J Infect Dis* 2021; **223**: 1666–70.
- 40 Luo CH, Morris CP, Sachithanandham J, *et al.* Infection with the SARS-CoV-2 Delta Variant is Associated with Higher Infectious Virus Loads Compared to the Alpha Variant in both Unvaccinated and Vaccinated Individuals. *medRxiv: the preprint server for health science*. 2021. [Preprint]
- 41 Meldungen - COVID-19-Tests: NAT-Test gilt als Goldstandard. Paul-Ehrlich-Institut. 2020; <https://www.pei.de/DE/newsroom/hp-meldungen/2020/200323-covid-19-nat->

- tests.html (zuletzt abgerufen am 31.01.2022)
- 42 Krüttgen A, Cornelissen CG, Dreher M, Hornef MW, Imöhl M, Kleines M. Comparison of the SARS-CoV-2 Rapid antigen test to the real star Sars-CoV-2 RT PCR kit. *J Virol Methods* 2021; **288**: 114024.
- 43 RKI - Coronavirus SARS-CoV-2. Quarantäne- und Isolierungsdauern bei SARS-CoV-2-Expositionen und -Infektionen; entsprechend Beschluss der Ministerpräsidentenkonferenz vom 7. Januar 2022. Robert Koch Institut. 2022; [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/Quarantaene/Absond erung.html](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Quarantaene/Absond erung.html) (zuletzt angerufen am 31.01.2022)
- 44 Walsh KA, Jordan K, Clyne B, *et al.* SARS-CoV-2 detection, viral load and infectivity over the course of an infection. *J Infect* 2020; **81**: 357.
- 45 Gavriatopoulou M, Ntanasis-Stathopoulos I, Korompoki E, *et al.* Emerging treatment strategies for COVID-19 infection. *Clin Exp Med* 2021; **21**: 1.
- 46 Reznikov LR, Norris MH, Vashisht R, *et al.* Identification of antiviral antihistamines for COVID-19 repurposing. *Biochem Biophys Res Commun* 2021; **538**: 173–9.
- 47 Pascarella G, Strumia A, Piliago C, *et al.* COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *J Intern Med* 2020; **288**: 192–206.
- 48 Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, *et al.* Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *N Engl J Med* 2020; **383**: 1813–26.
- 49 COVID-19 treatments: authorised. European Medicines Agency. 2022; <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/treatments-covid-19/covid-19-treatments-authorised> (zuletzt abgerufen am 02.02.2022)
- 50 Group TRC. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 — Preliminary Report. *N Engl J Med* 2021; **384**: 693–704.
- 51 Rosas IO, Bräu N, Waters M, *et al.* Tocilizumab in Hospitalized Patients with Severe Covid-19 Pneumonia. *N Engl J Med* 2021; **384**: 1503–16.
- 52 Salama C, Han J, Yau L, *et al.* Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 Pneumonia. *N Engl J Med* 2021; **384**: 20–30.
- 53 Tabellarische Übersicht über Corona-Medikamente. Vfa. Die forschenden Pharma-Unternehmen. 2022; <https://www.vfa.de/de/arzneimittel-forschung/coronavirus/zugelassene-zur-zulassung-eingereichte-medikamente-covid-19> (zuletzt abgerufen am 29.01.2022)
- 54 Gottlieb RL, Nirula A, Chen P, *et al.* Effect of Bamlanivimab as Monotherapy or in Combination With Etesevimab on Viral Load in Patients With Mild to Moderate COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2021; **325**: 632.
- 55 Fischer W, Eron JJ, Holman W, *et al.* Molnupiravir, an Oral Antiviral Treatment for

- COVID-19. *medRxiv:the preprint server for health science*. 2021. [Preprint]
- 56 COVID-19 vaccines: authorised. European Medicines Agency. <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-authorised#authorised-covid-19-vaccines-section> (zuletzt abgerufen am 02.02.2022)
- 57 Chu DK, Akl EA, Duda S, *et al.* Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Lancet (London, England)* 2020; **395**: 1973.
- 58 Bagheri G, Thiede B, Hejazi B, Schlenczek O, Bodenschatz E. An upper bound on one-to-one exposure to infectious human respiratory particles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2021; **118**: 49.
- 59 Böckler F, Dill B, Eisenbrand G, *et al.* In: Heber D, Azelastin, RD-01-04101. RÖMPP [online], Georg Thieme Verlag. 2022; <https://roempp.thieme.de/lexicon/RD-01-04101> (zuletzt abgerufen am 12.02.2022)
- 60 Häussler B, Gothe H, Reschke P, *et al.* Analog-Wirkstoffe im Arzneimittelmarkt: Therapeutischer Nutzen und Bedeutung für die Ausgaben der Krankenversicherungen. 1. Auflage. 2002. Berlin: IGES-Eigenverlag, 2002. 96-114
- 61 Azelastinhydrochlorid - Wirkstoff & Medikamente. Gelbe Liste. Pharmindex. [https://www.gelbe-liste.de/wirkstoffe/Azelastinhydrochlorid\\_24908](https://www.gelbe-liste.de/wirkstoffe/Azelastinhydrochlorid_24908) (zuletzt abgerufen am 12.02.2022)
- 62 Lee C, Corren J. Review of azelastine nasal spray in the treatment of allergic and non-allergic rhinitis. *Expert Opin Pharmacotherapy* 2007; **8**:5, 701-9.
- 63 Slater JW, Zechin AD, Haxby DG. Second-generation antihistamines: a comparative review. *Drugs* 1999; **57**: 31–47.
- 64 Raymon LP. USMLE Step 1 Pharmacology – Lecture Notes. Miami: Kaplan Medical. 2016.
- 65 Amboss GmbH. Antihistamines – H1-antihistamines. 2022. <http://amboss.com/us/knowledge/Antihistamines> (zuletzt abgerufen am 10.04.2022)
- 66 Watts AM, Cripps AW, West NP, Cox AJ. Modulation of allergic inflammation in the nasal mucosa of allergic rhinitis sufferers with topical pharmaceutical agents. *Front Pharmacol* 2019; **10**: 294.
- 67 Shin MH, Baroody F, Proud D, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM, Naclerio RM. The effect of azelastine on the early allergic response. *Clin Exp Allergy* 1992; **22**: 289–95.
- 68 Hamasaki Y, Shafiqeh M, Yamamoto S, *et al.* Inhibition of leukotriene synthesis by azelastine. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996; **76**: 469–75.
- 69 Bernstein JA. Azelastine hydrochloride: a review of pharmacology, pharmacokinetics,

- clinical efficacy and tolerability. *Curr Med Res Opin* 2007; **23**: 2441–52.
- 70 Beipackzettel Pollival ® Nasenspray. Gebrauchsinformation: Information für Anwender. URSAPHARM. www.ursapharm.de (zuletzt abgerufen am 12.02.2022)
- 71 Berger WE, White M V. Efficacy of azelastine nasal spray in patients with an unsatisfactory response to loratadine. *Ann Allergy, Asthma Immunol* 2003; **91**: 205–11.
- 72 LaForce CF, Corren J, Wheeler WJ, Berger WE. Efficacy of azelastine nasal spray in seasonal allergic rhinitis patients who remain symptomatic after treatment with fexofenadine. *Ann Allergy, Asthma Immunol* 2004; **93**: 154–9.
- 73 Morganroth J, Lyness WH, Perhach JL, *et al.* Lack of effect of azelastine and ketoconazole coadministration on electrocardiographic parameters in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 1997; **37**: 1065–72.
- 74 Zhang L, Lin D, Sun X, *et al.* Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved  $\alpha$ -ketoamide inhibitors. *Science* 2020; **368**: 409.
- 75 Konrat R, Papp H, Szijártó V, *et al.* The Anti-histamine Azelastine, Identified by Computational Drug Repurposing, Inhibits SARS-CoV-2 Infection in Reconstituted Human Nasal Tissue In Vitro. *bioRxiv*: the preprint server for biology 2020; 2020.09.15.296228.
- 76 Ge S, Lu J, Hou Y, Lv Y, Wang C, He H. Azelastine inhibits viropexis of SARS-CoV-2 spike pseudovirus by binding to SARS-CoV-2 entry receptor ACE2. *Virology* 2021; **560**: 110–5.
- 77 Yang L, Pei R juan, Li H, *et al.* Identification of SARS-CoV-2 entry inhibitors among already approved drugs. *Acta Pharmacol Sin* 2021; **42**: 1347.
- 78 Odhar HA, Ahjel SW, Albeer AAMA, Hashim AF, Rayshan AM, Humadi SS. Molecular docking and dynamics simulation of FDA approved drugs with the main protease from 2019 novel coronavirus. *Bioinformation* 2020; **16**: 236.
- 79 Ghahremanpour MM, Tirado-Rives J, Deshmukh M, *et al.* Identification of 14 Known Drugs as Inhibitors of the Main Protease of SARS-CoV-2. *ACS Med Chem Lett* 2020; **11**: 2526–33.
- 80 Yong SJ. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments. *Infect Dis (London, England)* 2021; **53**: 1.
- 81 Kazama I. Stabilizing mast cells by commonly used drugs: a novel therapeutic target to relieve post-COVID syndrome? *Drug Discov Ther* 2020; **14**: 259–61.
- 82 Pinto MD, Lambert N, Downs CA, *et al.* Antihistamines for Postacute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection. *J Nurse Pract* 2022; **0**. DOI:10.1016/J.NURPRA.2021.12.016.
- 83 Klussmann JP, Lehmann C, Grosheva M, *et al.* COVID-19: Azelastine nasal spray Reduces Virus-load In Nasal swabs (CARVIN). Early intervention with azelastine nasal

- sprays reduces viral load in SARS-CoV-2 infected patients. First report on a double-blind placebo-controlled phase II clinical trial. 2021. [Preprint], Version 1 verfügbar auf Research Square unter: [<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-864566/v1>]
- 84 RKI - Coronavirus SARS-CoV-2. Empfehlungen des RKI zu Hygienemaßnahmen im Rahmen der Behandlung und Pflege von Patienten mit einer Infektion durch SARS-CoV-2. Robert Koch Institut. 2022. [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/Hygiene.html](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Hygiene.html) (zuletzt abgerufen am 07.03.2022)
- 85 Kammel M. Quantitative Bezugsproben zur Verbesserung der Vergleichbarkeit und Bewertung von Laborergebnissen zum Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2. Instand e.V.2021.
- 86 Pujadas E, Chaudhry F, McBride R, *et al.* SARS-CoV-2 viral load predicts COVID-19 mortality. *Lancet Respir Med* 2020; **8**: e70.
- 87 Ware J, Kosinski M, Keller SD. A 12-Item Short-Form Health Survey: Construction of Scales and Preliminary Tests of Reliability and Validity. *Medical care* 1996; **34**:3. 220-233.
- 88 Marshall JC, Murthy S, Diaz J, *et al.* A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *Lancet Infect Dis* 2020; **20**: e192.
- 89 Singanayagam A, Patel M, Charlett A, *et al.* Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. *Eurosurveillance* 2020; **25**: 1.
- 90 Néant N, Lingas G, Le Hingrat Q, *et al.* Modeling SARS-CoV-2 viral kinetics and association with mortality in hospitalized patients from the French COVID cohort. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 2021; **118**:8.
- 91 Zheng S, Fan J, Yu F, *et al.* Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ* 2020; **369**.
- 92 Shmuel K, Dalia M, Tair L, Yaakov N. Low pH Hypromellose (Taffix) nasal powder spray could reduce SARS-CoV-2 infection rate post mass-gathering event at a highly endemic community: an observational prospective open label user survey. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2021; **19**: 1.
- 93 Kritas SK, Ronconi G, Caraffa A, Gallenga CE, Ross R, Conti P. Mast cells contribute to coronavirus-induced inflammation: New anti-inflammatory strategy. *J Biol Regul Homeost Agents* 2020; **34**: 9–14.
- 94 Corren J, Storms W, Bernstein J, Berger W, Nayak A, Sacks H. Effectiveness of azelastine nasal spray compared with oral cetirizine in patients with seasonal allergic

- rhinitis. *Clin Ther* 2005; **27**: 543–53.
- 95 Shah CH, Brown JD. Reliability and Validity of the Short-Form 12 Item Version 2 (SF-12v2) Health-Related Quality of Life Survey and Disutilities Associated with Relevant Conditions in the U.S. Older Adult Population. *Journal of Clinical Medicine* 2020; **9**:3.
- 96 Walsh KA, Jordan K, Clyne B, *et al.* SARS-CoV-2 detection, viral load and infectivity over the course of an infection. *J Infect* 2020; **81**: 357–71.
- 97 Dadras O, Afsahi AM, Pashaei Z, *et al.* The relationship between COVID-19 viral load and disease severity: A systematic review. *Immunity, Inflamm Dis* 2022; **10**: e580.
- 98 Aranha C, Patel V, Bhor V, Gogoi D. Cycle threshold values in RT-PCR to determine dynamics of SARS-CoV-2 viral load: An approach to reduce the isolation period for COVID-19 patients. *J Med Virol* 2021; **93**: 6794–7.
- 99 Hoffmann M, Mösbauer K, Hofmann-Winkler H, *et al.* Chloroquine does not inhibit infection of human lung cells with SARS-CoV-2. *Nat* 2020 5857826 2020; **585**: 588–90.
- 100 Teyssou E, Delagrèverie H, Visseaux B, *et al.* The Delta SARS-CoV-2 variant has a higher viral load than the Beta and the historical variants in nasopharyngeal samples from newly diagnosed COVID-19 patients. *J Infect* 2021; **83**: e1.
- 101 Levine-Tiefenbrun M, Yelin I, Alapi H, *et al.* Viral loads of Delta-variant SARS-CoV-2 breakthrough infections after vaccination and booster with BNT162b2. *Nat Med* 2021 2712 2021; **27**: 2108–10.
- 102 Hoffmann M, Krüger N, Schulz S, *et al.* The Omicron variant is highly resistant against antibody-mediated neutralization: Implications for control of the COVID-19 pandemic. *Cell* 2022; **185**: 447.
- 103 Marc A, Kerioui M, Blanquart F, *et al.* Quantifying the relationship between SARS-CoV-2 viral load and infectiousness. *eLife* 2021; **10**.

## 6. Anhang

### 6.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schmatische Struktur eines Coronaviruspartikels sowie des RNA-Genoms .....	18
Abbildung 2: Übersicht des viralen Replikationszyklus .....	20
Abbildung 3: Verteilung der Patienten mit einem BMI $\geq$ 25 (Safety Gruppe) .....	43
Abbildung 4: Log <sub>10</sub> (cp/ml) an die Ausgangslage angepasst für das ORF1a/1b-Gen .....	47
Abbildung 5: Ct-Wert angepasst an die Ausgangslage für das ORF1a/1b-Gen .....	47
Abbildung 6: Fläche unter der Kurve (AUC) der absoluten Unterschiede der Viruslast vom Ausgangswert (cp/ml) für das ORF1a/1b-Gen .....	49
Abbildung 7: Geruchverlust angepasst an die Ausgangslage (ITT Gruppe).....	51
Abbildung 8: Kurzatmigkeit angepasst an die Ausgangslage (ITT Gruppe) .....	51
Abbildung 9: Erschöpfung angepasst an die Ausgangslage (ITT Gruppe).....	51
Abbildung 10: Mittlere Körpertemperatur (ITT Gruppe) .....	52
Abbildung 11: WHO Status der Behandlungsgruppen (ITT Gruppe) .....	53
Abbildung 13: Mentale Lebensqualität angepasst an die Ausgangslage (ITT Gruppe) .....	55
Abbildung 13: ORF1a/1b-Gen (log <sub>10</sub> cp/ml) angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert<25).....	56
Abbildung 14: E-Gen (log <sub>10</sub> cp/ml) angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert<25).....	56
Abbildung 15: ORF1a/1b-Gen Viruslast (cp/ml) angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert<20).....	57
Abbildung 16: Symptom Score angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median).....	58
Abbildung 17: Geruchsverlust angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median) .....	59
Abbildung 18: Geschmacksverlust angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median).....	59
Abbildung 19: Husten angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median) .....	60
Abbildung 20: Kurzatmigkeit angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median).....	61
Abbildung 21: Erschöpfung angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median) .....	62
Abbildung 22: Schläfrigkeit angepasst an die Ausgangslage (Ct-Wert > Median).....	62

## 6.2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Untersuchungen der Behandlungsphase .....	36
Tabelle 2: Demographische Daten des Patientnkollektivs (Safety Gruppe) .....	41
Tabelle 3: Deskriptive Statistik und Vergleiche der PCR Testungen für ORF1a/1b und E-Gen (log10 cp/ml) (ITT Gruppe).....	44
Tabelle 4: Fläche unter der Kurve (AUC) der absoluten Unterschiede in Viruslast vom Ausgangswert (ITT Gruppe).....	48
Tabelle 5: Erholungszeit E-Gen und ORF1a/1b-Gen (ITT Gruppe).....	49
Tabelle 6: Patienten mit >10-facher Reduktion der Viruslast nach 3 Tagen (ITT Gruppe) .....	50
Tabelle 7: Anteil der Patienten mit einer Sauerstoffsättigung (pO2) <95% (ITT Gruppe).....	52
Tabelle 8: SF-36 Fragebogen Teilergebnisse Tag 7 an die Ausgangslage angepasst (ITT Gruppe)...	54
Tabelle 9: SF-36 Lebensqualität Teilergebnis Tag 11 (Visite 7) angepasst an den Ausgangswert (Ct-Wert > Median).....	63
Tabelle 10: Anzahl von Patienten mit mindestens einer Nebenwirkung (Safety Gruppe).....	64
Tabelle 11: Liste der Nebenwirkungen (Safety Gruppe) .....	64
Tabelle 12: Verträglichkeit und Wirksamkeit (ITT Gruppe) .....	66