

既往病毒性呼吸道传染疾病研究对抗 COVID-19 药物研发的启示

王慧^{1,2}, 高振^{3,4}, 林跃家⁵, 万妮¹, 陈斌¹, 王燕清¹, 张慧⁵, 张星⁶(1.珠海市丽珠微球科技有限公司创新药研究部, 广东 珠海 519090; 2.浙江大学高分子科学与工程学系, 杭州 310027; 3.深圳大学第一附属医院, 深圳市第二人民医院, 深圳 518035; 4.中山大学肿瘤防治中心, 华南肿瘤学国家重点实验室, 广州 510060; 5.广东省中医院珠海医院, 广东 珠海 519015; 6.山西医科大学第六医院, 太原 030001)

摘要: 新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情严重威胁人类的健康, 并对世界经济造成了巨大损失。COVID-19 是急性爆发性疾病, 目前尚无靶向治疗特效药或疫苗上市, 主要是对症支持治疗。由于时间紧迫, 市场急需, 这给医药领域的新药研发带来了巨大挑战。针对 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2), 充分借鉴既往的病毒(如流感病毒、SARS 病毒、MERS 病毒、埃博拉病毒等)引起的病毒性呼吸道传染疾病的防治理论和经验, 快速形成有效的药物研发方案, 是医药工业界应对新突发传染病的重要使命和有力抓手。本文综述了 SARS-CoV-2 与其他既往流行性病毒引起的急性呼吸道传染性疾病的发现、疫情蔓延和防治, 剖析了病毒感染的发病机制, 总结了既往病毒感染及防治药物的研究进展, 以期为 COVID-19 的药物研发提供思路和启发。

关键词: 病毒性呼吸道疾病; 新型冠状病毒; SARS; MERS; 新型冠状病毒肺炎(COVID-19); 肺部给药

中图分类号: R978.7 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)05-0513-12

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.05.001

引用本文: 王慧, 高振, 林跃家, 等. 既往病毒性呼吸道传染疾病研究对抗 COVID-19 药物研发的启示[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(5): 513-524.

Implications of Previous Studies on Viral Respiratory Infections for Anti-COVID-19 Drug Development

WANG Hui^{1,2}, GAO Zhen^{3,4}, LIN Yuejia⁵, WAN Ni¹, CHEN Bin¹, WANG Yanqing¹, ZHANG Hui⁵, ZHANG Xing⁶(1.R&D of Innovative Medicine, Zhuhai Livzon Microsphere Technology Co., Ltd., Zhuhai 519090, China; 2.Department of Polymer Science and Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China; 3.The First Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen 518035, China; 4.State Key Laboratory of Oncology in South China, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China; 5.The Zhuhai Hospital of Guangdong TCM Hospital, Zhuhai 519015, China; 6.The Sixth Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

ABSTRACT: The COVID-19 epidemic seriously threatened human health and caused huge losses to the world economy. COVID-19 is an acute explosive disease. Currently, symptomatic treatment is the only option for the patients who are suffering from COVID-19 and there is very few targeted medications or vaccines available in the market. Due to the lack of time and the urgent need for the market, which brings great challenges to the research and development of new drug in the pharmaceutical field. Therefore, seeking therapeutic options for treatments of COVID-19 based on previous theories and experience such as influenza virus, SARS-CoV, MERS-CoV, Ebola virus etc. Which caused viral respiratory infectious diseases is a critical priority. This review summarizes progresses of pharmacotherapeutic options and detection, spread and preventions of SARS-CoV-2 and other types of viruses that could cause epidemic pneumonia, and discusses the mechanism of virus infection, aiming to provide broad ideas and perspectives for developing novel medications against COVID-19.

KEYWORDS: viral respiratory infectious diseases; SARS-CoV-2; SARS; MERS; COVID-19; pulmonary drug delivery

2019 年 12 月以来, 由 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引发的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情在全世界蔓延, 且病例数增加非常快, 这对新药研发带来了巨大的挑战。首先,

由于疫情的迅速爆发, 没有足够的时间筛选新的抗病毒化合物分子。其次, 缺乏合适的动物模型, 筛选出的抗病毒活性物质需要进行很多动物实验, 以确定它的安全性和有效性。但很多时候即

基金项目: 国家自然科学基金项目(81802537); 中国博士后科学基金项目(2019M652950); 广东省“珠江人才计划”第六批引进创新创业团队项目(2016ZT06Y229)

作者简介: 王慧, 女, 博士, 高级研究员 Tel: (0756)8135594 E-mail: joyence223@163.com

使动物实验得到好的药动学结果，也并不能真实反映出 SARS-CoV-2 感染的所有特征，因此参考价值有限。第三，药物有效性与不良反应的权衡。许多化合物在体外试验中展现出很好的抗病毒作用的潜力，但在体内试验中，需要增大给药剂量才能达到最低的抗病毒浓度，与此同时会带来明显的不良反应。第四，SARS-CoV-2 变异的风险。病毒本身是只含一种遗传物质的非细胞性生物，因此，病毒极容易发生变异。SARS-CoV-2 可能会随着环境的改变而改变，从而适应环境，适应人类。最后，临床经验方面的挑战：人类目前只遇到过 SARS 病毒(SARS-CoV)、中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV) 2 种可引起严重的呼吸系统疾病的冠状病毒，SARS 自 2003 年后再无报道，而 MERS 的少有病例数也分散在世界各地，无法招募到足够数量的患者进行临床试验。

目前，药物和疫苗是应对病毒性传染性疾病的 2 个主要手段。考虑到疫苗不仅在使用范围上有一定的限制，而且病毒的变异亦给疫苗的临床应用带来一定阻碍。因此药物治疗仍然是最好的控制病毒传播的手段。基于 COVID-19 目前暂无特效药的情况，本文综述了人类历史上几类由病毒引起的急性呼吸道传染疾病的治疗和防治(表 1)，总结了既往不同病毒的防治药物的研究进展，以期对治疗 COVID-19 的药物研发提供新思路和新策略。

表 1 部分可引起急性呼吸道传染疾病的病毒的对比

Tab. 1 Comparison of viruses which cause acute respiratory infectious diseases

病毒名称	发现年份	类别	基因组	基因组大小/kb	受体	致死率/%	受疫情影响国家数	传播方式	主要临床症状
H1N1	2009	甲型流感病毒属	ss(-)RNA	13.6	SA- α -2,6-Gal	0.29	214	飞沫/密切接触	发热、咳嗽、肌痛、肺炎
H5N1	1977	甲型流感病毒属	ss(-)RNA	13.5	SA- α -2,3-Gal	52.8	18	飞沫/密切接触	发热、咳嗽、肺炎、ARDS、MODS、MOF
H7N9	2013	甲型流感病毒属	ss(-)RNA	13.1	SA- α -2,3-Gal SA- α -2,6-Gal	39.3	3	飞沫/密切接触	发烧、咳嗽、肺炎、ARDS、MODS、MOF
SARS-CoV	2002	β 冠状病毒属 B 群	ss(+)RNA	29.7	ACE2	10.9	29	飞沫/密切接触	发热、咳嗽、呼吸困难、肺炎、ARDS、SIRS、MOF
MERS-CoV	2012	β 冠状病毒属 C 群	ss(+)RNA	30.1	DPP4	34.4	27	飞沫/密切接触	发热、咳嗽、呼吸急促、肺炎、ARDS、MODS、MOF
SARS-CoV-2	2019	β 冠状病毒属 B 群	ss(+)RNA	29.9	ACE2	2.7	114(截至 2020 年 3 月 12 日)	飞沫/密切接触 /气溶胶	发热、干咳、乏力、肺炎、ARDS、SIRS、MOF
EboV	1976	埃博拉病毒属	ss(-)RNA	18.9	NPC1	40.4	9	体液/皮肤/黏膜接触	发热、乏力、肌痛、呼吸困难、出血症、MOF

注：ARDS-急性呼吸窘迫综合征；MOF-多器官功能衰竭；MODS-多器官功能障碍综合征；SIRS-全身炎症反应综合征。

Note: ARDS-acute respiratory distress syndrome; MOF-multiple-organ failure; MODS-multiple organ dysfunction syndrome; SIRS-systemic inflammatory response syndrome.

1 病原学与流行病学

1.1 流感病毒

流感病毒是一类引发人及动物急性上呼吸道感染 RNA 病毒，由该病毒引发的呼吸道传染疾病就是俗称的“流感”。流感病毒属于正黏液病毒科，其基因组为单负链 RNA，电镜下流感病毒呈球形，新分离的毒株则多呈丝状，直径通常在 80~120 nm。流感病毒的结构自外而内可分为囊膜、基质蛋白和核心 3 个部分。囊膜上有许多放射状排列的突起糖蛋白，主要是血球凝集素(hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶(neuraminidase, NA)。HA 包含 2 条蛋白链，其功能是与呼吸道表面的唾液酸受体集合，并介导病毒包膜与宿主细胞膜的融合，释放病毒核衣壳进入宿主细胞的细胞质进行繁殖。NA 含有 4 条糖蛋白的四聚体，其功能是参与病毒释放，切断病毒与宿主细胞的连接，促使成熟的病毒体出芽，从宿主细胞中释放。HA 和 NA 均有抗原易变性，呈现出流感病毒的亚型特异性。

根据流感病毒的抗原特异性，流感病毒分为甲型、乙型、丙型和丁型(国外称 A、B、C 和 D 型)，它们的抗原变异性依次减弱，感染人类的能力也依次减弱。人类历史上几次世界性流感大流行都是甲型流感病毒引起的。甲型流感病毒极易变异，产生许多亚型，目前已发现了 18 种血球凝集素(H1-H18)，以及 11 种神经氨酸甘酶(N1-N11)。主要表现为发热、头痛、肌痛和全身不适。

甲型流感病毒于 1933 年由 Smith 等^[1]通过雪貂分离培养。流感潜伏期一般为 1~7 d, 多为 2~4 d, 大多为自限性疾病, 主要表现为发热、咳嗽、头痛、全身酸痛、咽痛和流鼻涕, 但部分可发展至重症流感, 少数重症病例病情进展快, 临床表现为迅速进展的间质性肺病, 严重者短期内可出现急性呼吸窘迫综合征及多器官功能障碍, 病死率较高。2009 年 4 月甲型 H1N1 流感从墨西哥和美国暴发, 疫情共造成约 1.85 万人死亡, 出现疫情的国家 and 地区达到了 214 个^[2]。甲型流感病毒 H5N1 亚型, 是甲型流感病毒的一个高致病性亚型。H5N1 病毒从鸟直接传到人的首次病例是于 1997 年在香港发现。2003—2020 年, 全世界已向世界卫生组织(WHO)报告 861 例确诊人类感染 H5N1 病例, 其中 455 例死亡, 死亡率约 53%^[2]。2013 年 3 月, 人类感染甲型流感 H7N9 病毒的病例在中国上海等城市被首次发现。截至目前, 全球累计报告病例 1 568 例, 其中死亡病例 616 例^[2]。

1.2 冠状病毒

冠状病毒(corona virus, CoV)是一类可以引起呼吸系统感染并可以在动物与人类之间传播的人畜共患的 RNA 病毒。冠状病毒颗粒的表面有许多规则排列的突起, 整个病毒颗粒就像一顶皇冠。1975 年, 由世界病毒命名委员会正式命名冠状病毒科。冠状病毒基因组为非节段单正链 RNA, 长约 26~30 kb, 是 RNA 病毒中最长的 RNA 核酸链。冠状病毒包膜由双层脂质组成, 病毒内部为 RNA 和衣壳蛋白组成的核蛋白核心, 呈螺旋状结构。冠状病毒有 4 种结构蛋白: 刺突蛋白(spike protein, S 蛋白)、膜蛋白(membrane protein, M 蛋白)、包膜蛋白(envelope protein, E 蛋白)、核衣壳蛋白(nucleocapsid, N 蛋白)。在冠状病毒感染宿主细胞的过程中, S 蛋白特异性识别细胞表面受体并形成复合物, 是决定病毒入侵和宿主范围限制的关键性因素。不同的冠状病毒有不同的受体。成熟的 S 蛋白通常会在宿主蛋白酶的作用下裂解成 2 个亚基: S1 和 S2, 其中 S1 负责受体的识别, 而 S2 启动病毒与宿主的膜融合^[3]。

目前已知可感染人类的冠状病毒共有 7 种。其中 4 种冠状病毒(HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1)在人群中较为常见, 致病性较低, 是人类感冒的常见病原体, 一般引起类似普通感冒的轻微呼吸道症状。另外 3 种冠

状病毒(SARS-CoV、MERS-CoV、SARS-CoV-2), 可引起 SARS、MERS 和 COVID-19 等严重的呼吸系统传染性疾病。

SARS: SARS-CoV 人冠状病毒可引起 SARS。从 2002 年 11 月—2003 年 8 月 7 日, 全球累计 SARS 病例共 8 422 例, 涉及 29 个国家, 其中死亡病例 919 例^[4]。SARS 的常见症状包括发烧, 咳嗽, 呼吸困难, 偶尔有水样腹泻。在感染的患者中, 需要进行机械通气的患者占 20%~30%, 死亡的患者占 10%, 在老年患者和有合并症的患者中死亡率更高。SARS-CoV 的受体是血管紧张素转换酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2), 主要感染有纤毛的支气管上皮细胞和人肺 II 型上皮细胞。也可进入巨噬细胞及树突状细胞, 但是在这类细胞中并不能完成完整的复制周期, 属流产型感染, 不会产生完整的病毒, 但是病毒进入这类细胞可以诱发促炎症细胞因子的产生而致病。研究发现在 SARS 患者血清中这类细胞产生的细胞因子及趋化因子均升高, 造成肺组织严重病变。

MERS: 2012 年从 1 例死于急性肺炎和肾功能衰竭的 60 岁沙特男性患者的痰液标本中发现了一种能够引发人类严重呼吸道感染疾病的病毒——MERS-CoV^[5]。MERS 与 SARS 具有许多相似的临床特征, 如严重的非典型肺炎, 但两者间又有显著区别: MERS 患者有明显的胃肠道症状, 并且常常是急性肾衰竭, 这可能是由于 MERS-CoV 的 S 糖蛋白与下呼吸道以及胃肠道和肾脏中存在的二肽基肽酶 4(Dipeptidyl peptidase 4, DPP4, 又称 CD26)结合所致^[6]。与 SARS-CoV 的受体不同, MERS-CoV 的受体为 DPP4。由于 DPP4 是人、猪和蝙蝠等所共有, 使 MERS-CoV 病毒在传播过程中具有较低的种属屏障。根据 WHO 的数据, 截至 2019 年 11 月, MERS-CoV 总共造成 2 506 例病例和 862 例死亡^[6]。这些病例来自 28 个国家和地区, 病例多集中在沙特阿拉伯、阿联酋等中东地区。

COVID-19: 2019 年 12 月, 另一种可以使人类致病的冠状病毒 SARS-CoV-2 被确认, 引起 COVID-19。截至 3 月中旬肺炎疫情扩散到全球 114 个国家和地区, 全球累计报告病例 126 135 例, 其中死亡病例 4 630 例。2019 冠状病毒病潜伏期为 1~14 d, 多为 3~7 d。人体感染 SARS-CoV-2 后, 以发热、乏力、干咳为主要表现。少数患者伴有

鼻塞、流涕、肌痛、咽痛和腹泻等症状。有部分患者仅表现为低热、轻微乏力等，无肺炎表现。还有部分患者无任何临床表现^[7]。重症患者大多在发病 1 周后出现呼吸困难和(或)低氧血症，严重者快速进展为急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克、代谢性酸中毒和凝血功能障碍及多器官功能衰竭等，甚至导致死亡。

SARS-CoV-2 属于 β 属的冠状病毒，病毒颗粒呈圆形或椭圆形，有包膜，直径 60~140 nm。实验室可采用基因组测序、核酸检测、病毒分离等方法对病人的肺泡灌洗液、咽拭子、血液等样本进行病原学检测确诊 COVID-19。有研究显示 SARS-CoV-2 基因序列与中华菊头蝠冠状病毒 RaTG13(Bat-CoV RaTG13)的相似度有 96%^[8]。SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 一样，均使用人 ACE2 作为受体，通过 S 蛋白与 ACE2 受体的结合进入靶细胞。但 SARS-CoV-2 的 S 蛋白与人 ACE2 受体的结合力是 SARS-CoV 的 10~20 倍^[8]。因此，SARS-CoV-2 与 ACE2 的高亲和力可能导致其更容易发生人与人之间的传播^[9-10]。

1.3 埃博拉病毒

埃博拉病毒(Ebola virus, EBoV)在 1976 年被首次分离，属于丝状病毒科，是一种能够引发脊椎动物，特别是灵长类动物产生出血热症状的高危、致死性病毒。埃博拉病毒病毒体由核衣壳和包膜构成。埃博拉病毒的主要靶细胞是血管内皮细胞、肝细胞、巨噬细胞等，通过抑制天然和获得性免疫应答反应，增加血管通透性，引起肝脏为代表的多脏器损伤，引发严重的发热、出血、休克、多器官功能衰竭等症状，重者可致死亡。埃博拉病毒感染机体后，通过刺突糖蛋白与宿主细胞膜表面的受体结合进入细胞。其中单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞是早期被感染的细胞和主要的病毒复制场所。受到感染的单核细胞和巨噬细胞释放多种细胞因子和趋化因子，引起单核细胞和巨噬细胞的聚集，并激活中性粒细胞，进一步扩大炎症反应。埃博拉病毒可在重要的抗原呈递细胞如树突状细胞内完成增殖，导致抗原呈递细胞失去原有功能，而不能激活 T 细胞，直至破坏细胞结构，引起肝、肾上腺皮质、脾脏等组织器官的损伤。埃博拉病毒的潜伏期为 2~21 d，常见潜伏期 8~10 d。起病急，早期常见症状有非特异性发热、厌食、虚弱无力，可能还有寒颤、肌

肉疼痛、精神萎靡等，以后迅速进展为严重呕吐、腹泻、呼吸困难、低血压、出血、多器官功能衰竭甚至死亡。

2 现有的病毒性呼吸道传染疾病的药物治疗

目前可用于治疗病毒性呼吸道传染疾病的药物见表 2。

2.1 对流感的治疗

目前 FDA 已批准上市的抗流感病毒药物有神经氨酸酶抑制剂(Neuraminidase inhibitor, NAI, 代表药物: 奥司他韦、扎那米韦)和 M2 离子通道抑制剂(代表药物: 金刚烷胺、金刚乙胺)。金刚烷胺和金刚乙胺可以通过阻断 M2 离子通道来阻止病毒脱壳，使病毒 RNA 不能释放到细胞质中，病毒的早期复制被中断，从而起到抗流感病毒的作用。由于 M2 蛋白为甲型流感病毒所特有，所以 M2 离子通道抑制剂仅对甲型流感有效，是一种窄谱抗病毒药^[11]。病毒 NA 蛋白可以催化唾液酸水解，协助复制的流感病毒脱离宿主细胞。大多数 NAI 的化学结构与唾液酸相似，通过与流感病毒 NA 蛋白的活性中心特异性结合阻断其水解唾液酸，使病毒颗粒不能从宿主细胞脱离，从而抑制了病毒的释放和增殖。现口服 NAI 是治疗甲型流感的常用治疗策略。奥司他韦(Oseltamivir, 商品名: 达菲), 由罗氏公司 1999 年开发上市的 NA 抑制剂，已被临床证实可以有效地治疗甲型和乙型流感病毒引起的流感。2017 年，FDA 报告了自 1999 年以来奥司他韦在上市后的主要不良反应有胃肠道系统损害及神经紊乱^[12]。然而，有研究报道称，2008 年美国爆发的流感 H1N1 病毒株对奥司他韦耐药，但奥司他韦-扎那米韦的联合用药治疗，可以得到比单一用药更好的临床效果^[13]。1999 年扎那米韦(zanamivir)被 FDA 批准上市，用于治疗 and 预防 A 型和 B 型流感病毒。研究发现扎那米韦能有效抑制流感病毒 NA，其 IC_{50} 为 0.1~5 nmol·L⁻¹。由于扎那米韦的强极性，口服生物利用度低(2%~3%)，因此制成喷雾剂，通过鼻腔给药^[14]。扎那米韦对 H5N1 禽流感病毒也有明显作用。1993 年在俄罗斯上市的阿比多尔(Arbidol)具有抗流感病毒的作用。它通过阻止流感病毒外壳与宿主细胞细胞膜的接触、黏附和融合抑制 A、B 型病毒早期阶段的复制，从而实现抗病毒作用^[15]。该药物现已被收录在国家卫健委发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(第七版)》^[16]。

2.2 对 SARS 和 MERS 的治疗

SARS-CoV 和 MERS-CoV 都属于 β 冠状病毒属, 但 SARS-CoV 与靶细胞的结合是利用 ACE2 受体介导, 而 MERS-CoV 是由 DPP4 受体介导。目前临床针对 MERS 的药物很多是根据应对 SARS 和流感得来的, 如广谱抗病毒药物、干扰素、恢复期的血清及针对症状的糖皮质激素治疗等。

利巴韦林(Ribavirin, 又名病毒唑或三氮唑核苷), 是一种合成的核苷类广谱抗病毒药。目前, 已被收录在国家卫健委发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(第七版)》^[16]。利巴韦林对 DNA 和 RNA 病毒有抑制作用, 能抑制肌苷酸-5-磷酸脱氢酶, 阻断肌苷酸转化为鸟苷酸, 从而干扰病毒复制所需的 RNA 代谢, 从而阻碍病毒的复制。在 SARS 爆发期间, 利巴韦林联合干扰素曾被广泛应用, 据报道, 74.1%~80.0%的 SARS 患者症状得到了缓解, 但是其对病死率的影响却不一致, 主要报道的病死率范围是 5.0%~42.8%。另外, 口服大剂量的利巴韦林可以导致明显的溶血性贫血、恶心等不良反应, 口服用量达 1.2 g 时, 发生率可达 68.5%。MERS 爆发后, 临床也有联合使用利巴韦林和干扰素, 但是报道的临床效果并不一致。1 则回顾性研究报道该治疗方案作用有限, 可能只对感染初期的患者有效, 对症状较重及合并并发症较多的患者无效^[17]。另外 1 项回顾性研究报道利巴韦林与干扰素的联合应用可显著提高 MERS 重度患者发病的前中期生存率^[18]。体外研究显示, 利巴韦林可以减少 MERS-CoV 的复制, 但是有效浓度要远远高于体内应用时候的浓度; 因此, 当使用利巴韦林作为治疗药物时候, 需考虑相关不良反应及患者耐受情况, 综合权衡风险与收益。

洛匹那韦/利托那韦(lopinavir/ritonavir, 商品名: 克力芝)是 SARS-CoV 蛋白酶抑制剂。研究显示, 对于 SARS 患者的治疗, 相比于利巴韦林的单纯治疗, 联合使用利巴韦林与洛匹那韦/利托那韦可以明显减少患者的死亡率^[19]。1 项针对猕猴的非人临床研究显示, 洛匹那韦/利托那韦治疗降低了感染 MERS-CoV 猴的死亡率^[20]。Cheng 等发现 SARS-CoV PL 抑制剂 6-巯基嘌呤(6MP)和 6-巯鸟嘌呤(6TG)与霉酚酸能够抑制 MERS-CoV 的重要抗病毒靶标——木瓜蛋白酶样蛋白酶(PL pro), 而 PL pro 对病毒成熟是必需的。3 种针对 MERS-CoV PL pro 的抑制剂, 可用作进一步抗病毒药物开发

的先导化合物^[21]。蔡莫司他为蛋白酶抑制剂, 1992 年即发现可抑制流感病毒(甲、乙型)、呼吸道合胞病毒及麻疹病毒。实验发现蔡莫司他对丝氨酸蛋白酶有很强的选择性抑制作用, 仅需要 1% 的浓度即可抑制 MERS-CoV 的膜融合。低浓度蔡莫司他能够有效抑制 MERS-CoV 对细胞的感染^[22]。

2.3 对埃博拉病毒的治疗

目前, 对埃博拉病毒的治疗主要以对症和支持治疗为主, 包括保持电解质平衡, 维持血氧浓度和血压稳定及治疗继发感染。广谱抗病毒药物 BCX4430(Galidesivir, 商品名: 加利司韦), 属于小分子的腺苷类似物, 被整合进病毒 RNA 复制过程后, 使得病毒 RNA 空间构型改变, 从而严重影响后续转录、翻译过程。BCX4430 对马尔堡病毒和扎伊尔型埃博拉病毒效果明显^[23]。化合物 GS-5734(Remdesivir, 商品名: 瑞德西韦)是一种小分子抗病毒药物, 为腺苷类似物前体, 它通过阻断埃博拉病毒复制 RNA 的能力而抑制这种病毒。动物实验结果显示, 恒河猴在病毒暴露后 3 d 开始治疗(此时 6 只猴子中有 2 只已检测到全身性病毒 RNA), 每日 1 次静脉注射 10 mg·kg⁻¹ 的瑞德西韦, 连续 12 d 后埃博拉病毒复制得到大幅抑制, 猴子存活率 100%, 临床症状显著改善, 但值得思考的是, 在临床试验中发现接受瑞德西韦治疗的患者死亡率为 53%^[24]。瑞德西韦在体外和动物模型中也均显示出对 SARS-CoV 和 MERS-CoV 病毒病原体的活性^[25]。因此, 人们猜想具有抗病毒活性的瑞德西韦表现出可用于 SARS-CoV-2 的可能性。据报道, 美国首例 COVID-19 确诊病例接受瑞德西韦作为“同情给药”, 病情出现迅速缓解。随后, 吉列德科学就瑞德西韦对 COVID-19 治疗的可能性与美国和中国合作研究所进行积极沟通, 并发布科学战略申明, 将促进与全球医药卫生监管机构和企业合作开展瑞德西韦抗 COVID-19 的临床试验。2 月 5 日, 临床研究在武汉市金银潭医院正式启动, 临床试验的入组患者共计 761 例, 其中轻、中症患者 308 例, 重症患者 453 例, 预计于 4 月 27 日结束。因为瑞德西韦针对 COVID-19 仅有 1 个治疗案例, 且目前是美国一款处于研发阶段的药物, 也未在任何国家上市, 需要更多的数据评价其安全性和有效性。

生物治疗是治疗埃博拉病毒的另一种选择。ZMapp 是由美国与加拿大联合研制的药物, 包含 3

种人源化的单克隆抗体, 通过植物细胞表达系统(烟草属)表达生产^[26], 包含针对埃博拉病毒感染有保护效果的单克隆抗体组合 MB003 和 ZMAB 中最有效的成分。该药物通过与病毒多个关键致病位点结合, 从而使人体获得保护。TKM-Ebola 是一种基因治疗药物, 属于 siRNA, 专门针对埃博拉病毒相关基因 VP24 和 VP35、RNA 依赖的 RNA 聚合酶, 通过 RNA 干扰, 使得相关蛋白的 RNA 被沉默封闭, 达到阻止病毒增殖的目的^[27]。2019 年 9 月, 美国 FDA 授予了 Ridgeback Biotherapeutics 公司单抗药物 mAb114 突破性药物资格, 这是一种治疗性单抗, 起源于 1995 年刚果民主共和国基奎特市的埃博拉疫情。研究人员从这些幸存者体内分离出了抗体, 其中 mAb114 是最有效的一种^[28]。

Niemann-Pick C1(NPC1)基因编码的膜蛋白是埃博拉病毒的一种胞内受体, 它主要参与细胞胆固醇的转运。埃博拉病毒与宿主细胞的结合, 需要借助 NPC1 穿过细胞膜。Carette 等对 NPC1 突变细胞进行感染实验, 发现有 NPC1 缺陷的成纤维细胞不易受埃博拉病毒感染, 然而可以受其他病毒的攻击; 同时, 携带埃博拉病毒包膜蛋白且有复制能力的疱疹性口炎病毒(rVSV-GP-EBOV)几乎不能感染该 NPC1 突变细胞; 而当细胞恢复表达 NPC1 蛋白后, 它又恢复了对埃博拉病毒的易感性^[29]。依折麦布是现今唯一一款 NPC1 抑制剂, 由默沙东公司于 2002 年开发生产, 它可以通过阻止埃博拉病毒包膜表面的糖蛋白与 NPC1 蛋白的结合来抑制病毒膜融合过程, 由此来用于埃博拉病毒的治疗。

表 2 目前可用于治疗病毒性呼吸道传染病的药物

Tab. 2 Current therapeutic options for the treatment of viral respiratory infectious diseases

药物名称	研发公司	作用机制	适应证	研发阶段	临床效果
金刚烷胺 (amantadine)	ENDO PHARMS	可以抑制病毒穿入宿主细胞, 并影响病毒的脱壳, 抑制其繁殖, 起治疗和预防病毒性感染的作用 ^[30]	甲型流感	1968 年上市	在临床上能有效地预防和治疗各种 A 型流感病毒的感染。在流感流行期采用本品作预防药, 保护率可达 50%~79%, 对已发病者, 如在 48 h 内给药, 能有效治疗由于 A 型流感病毒引起的呼吸道症状
金刚乙胺 (rimantadine)	FOREST LABS	干扰 M2 蛋白的功能, 阻止病毒脱壳, 并能防止某些 A 型流感病毒株发生突变 ^[30]	甲型流感	1993 年上市	金刚乙胺对 A 型流感有预防和治疗功效, 对甲型 H1N1 流感对的预防效率平均为 70%~80%, 与流感疫苗的效率几乎相同。且对所有自然发生的人和动物甲型(即 A 型)流感病毒株(包括禽流感 H5N1、H5N2, 猪流感 H1N1)均有效
洛匹那韦/利托那韦 (lopinavir/ritonavir 商品名: 克力芝)	艾伯维	可阻止该裂解过程, 导致不成熟、无感染性病毒颗粒的堆积, 从而产生抗病毒作用 ^[31]	SARS/MERS/ HIV/HPV/ COVID-19	2009 年上市	香港联合医院研究发现, 其在早期作为抗 SARS-CoV 的“鸡尾酒”治疗, 死亡率和气管插管率明显低于单用利巴韦林组
利巴韦林 (ribavirin)	默克	能抑制肌苷酸-5-磷酸脱氢酶, 阻断肌苷酸转化为鸟苷酸, 从而抑制病毒的 RNA 和 DNA 合成, 对 DNA 病毒和 RNA 病毒均有抑制复制作用	SARS/MERS/ HCV/ COVID-19	1970 年上市	口服大剂量的利巴韦林可以导致明显的溶血性贫血、恶心等不良反应; 使用前需考虑相关不良反应及患者耐受情况, 综合权衡风险与收益
扎那米韦 (zanamivir)	葛兰素史克 公司	通过抑制流感病毒的神经氨酸酶, 从而抑制了流感病毒在感染细胞内的聚集和释放 ^[14]	流感	1999 年上市	健康成人使用后, 其中 67%对流感病毒有预防作用, 对伴有发热症状的流感患者疗效最好, 对易感人群可显著降低并发症的发生, 使并发支气管炎和肺炎的发生率由 65%降至 14%, 并可降低抗生素用量, 由 38%降至 14%
奥司他韦 (oseltamivir; 商品名: 达菲)	罗氏制药公司	通过抑制病毒从被感染的细胞中释放, 从而减少了甲型或乙型流感病毒的播散	流感/COVID-19	1999 年上市	能够有效治疗甲型和乙型流感, 但是乙型流感的临床应用数据尚不多
法匹拉韦 (favipiravir; T-705)	富士胶片集团 富山化学工业株式会社	可选择性抑制流感病毒 RNA 聚合酶, 而不会对哺乳动物细胞产生毒性作用 ^[32]	流感/COVID-19	2014 年上市	对治疗新型和复发型流感有显著效果
帕拉米韦 (peramivir)	美国BioCryst 制药公司	帕拉米韦分子上多个基团分别作用于流感病毒 NA 分子的多个活性位点, 强烈抑制 NA 的活性, 阻止子代的病毒颗粒在宿主细胞的复制和释放。从而有效地预防流感和缓解流感症状	流感	2014 年上市	对体外试验的所有 9 种 NA 亚型病毒都有效, 包括高致病性 H5N1 病毒

续表 2

药物名称	研发公司	作用机制	适应证	研发阶段	临床效果
瑞德西韦 (remdesvir)	吉利德科学 公司	抑制病毒 RNA 聚合酶的活性, 从而达到抑制病毒 RNA 复制的作用 ^[33]	SARS/MERS/ EboV/ COVID-19	在美国 已经完 成了 II 期临床 试验	能一定程度提高患者存活率, 但由于 REGN-EB3 和 mAb-114 的领先优势十分明显, 委员会在 2019 年 8 月决定提前结束试验
干扰素(IFN)	INTERFERON SCIENCES	可增强自然杀伤细胞(NK 细胞)、巨噬细胞和 T 淋巴细胞的活力, 从而起到免疫调节和增强抗病毒的作用	流感/HBV/ COVID-19	已上市	对急性呼吸窘迫综合征冠状病毒感染有较好的抑制作用
磷酸氯喹 (chloroquine phosphate)	拜耳制药	氯喹与病毒核蛋白结合, 抑制病毒复制 ^[33]	SARS/MERS/ 疟疾/类风湿/ COVID-19	1951 年 上市	用于治疗疟疾, 不良反应较少; 治疗 COVID-19, 临床试验启动 7 项
依折麦布 (NPC1 阻碍剂)	默沙东(MSD) 公司	NPC1 是埃博拉病毒的胞内受体, 埃博拉病毒需要借助 NPC1 穿过细胞膜, NPC1 阻碍剂阻止病毒糖蛋白与 NPC1 蛋白的结合 ^[34]	EboV	2002 年 上市	/
REGN-EB3	再生元	病毒通过产生轻度感染来激活免疫系统, 使后者产生针对埃博拉蛋白的抗体, 而抗体会通过锁定抗原来对付入侵的病毒, 减弱抗原锁定目标细胞的能力 ^[35]	EboV	II 期 临床	在刚果的临床试验中大幅降低了埃博拉死亡率, 患者死亡率分别为 27%
ZMapp	Mapp 生物 制药	结合使用 3 种抗体, 可附着在感染埃博拉病毒的细胞上, 从而帮助免疫系统杀死这些细胞 ^[36]	EboV	正式开 始临床 试验	于 2014 年 7 月 31 日开始第一次人体试验, 并显示出较高的存活率。其有效性曾在被感染的猕猴身上得到了验证, 治愈了全部 18 只感染埃博拉病毒的猴子。实验疗效达到 100%
连花清瘟胶囊	以岭药业	清瘟解毒, 宣肺泄热	流感/SARS	已上市	用于治疗流行性感冒属热毒袭肺证
抗病毒颗粒	丽珠集团	清热解暑	流感	已上市	对甲型 H1N1 流感病毒有良好的抑制作用
拉尼那米韦 CS-8958 (laninamivir)	Daiichi Sankyo(日 本第一三 共株式会 社)制药 公司	可抑制神经氨酸酶 ^[37]	流感	III 期 临床	有效预防季节性流感; 对高致病性 H5N1 型流感病毒有预防和治疗效果
DAS181	Ansun	可以切割位于人体呼吸道上皮细胞表面的病毒受体唾液酸, 阻止病毒进入呼吸道上皮细胞, 从而防止病毒感染和传播	流感/偏肺病毒	III 期 临床	可治疗呼吸道病毒感染
甘草甜素	/	抗 SARS-CoV 的作用机制仍然不完全清楚。推测甘草甜素影响细胞的信号通路, 如蛋白激酶 C、酪蛋白激酶 II 和转录因子(如蛋白 I 激活剂和核因子κB), 初步研究结果表明, 甘草甜素可诱导一氧化氮合成酶在 Vero 细胞中的合成, 提高一氧化氮的产量而最终抑制病毒的复制	HBV/HIV/SARS	已上市	研究人员从 SARS 病人提取血清样本, 发现当血清甘草甜素浓度达到 1 000 mg·L ⁻¹ 时, 血清 SARS-CoV 抗原表达明显低于其他样本; 当血清甘草甜素浓度达到 4 000 mg·L ⁻¹ 时, 可完全阻断病毒的复制

3 对新冠药物研发的启示

尽管流感、埃博拉、冠状病毒具有各自的物种多样性, 但它们共享着许多病毒基因组信息等关键元素, 可以从以往药物中寻找新的线索。同时在针对 COVID-19 设计新药时, 除了依据抗病毒的一般机制, 也可以根据 SARS-CoV-2 的靶标

进行设计。潜在的抗冠状病毒疗法可以分为 2 类, 一类作用于冠状病毒; 另一类作用于人体细胞或宿主细胞, 见表 3。

3.1 基于病毒的药物设计

依据 SARS-CoV-2 的基因序列(图 1), 对应的 4 种蛋白酶(依次为 PL pro、3-胰凝乳蛋白酶样蛋白

酶、解旋酶和 RNA 依赖性 RNA 聚合酶)在病毒生命周期中起到关键作用^[38]。可以考虑根据不同的作用靶点,作用于病毒的遗传物质,阻止病毒 RNA 的合成;或是作用于病毒的蛋白酶,进一步抑制病毒的复制;还有一些作用于病毒的结构蛋白,阻断病毒与人类细胞受体的结合,或是抑制病毒自我组装过程,设计相应地 RNA 聚合酶抑制剂、蛋白酶抑制剂或核酸合成抑制剂。

表 3 治疗 COVID-19 药物的研发策略

Tab. 3 Drug developments for the treatment of COVID-19

药物研发策略	药物靶点	候选药物
靶向病毒	RNA 依赖性 RNA 聚合酶	法匹拉韦、利巴韦林、瑞德西韦、加利司韦
	蛋白酶	洛匹那韦、利托那韦、奥司他韦、6-巯基嘌呤(6MP)、6-硫鸟嘌呤(6TG)、阿比朵尔
	核酸合成	盐酸吉西他滨
	S 蛋白	奈莫司他、GSK-2586881、Griffithsin
		磷酸氯喹
靶向宿主	ACE2	磷酸氯喹
	NPC1	依折麦布
	免疫调节	聚乙二醇干扰素 α -2a/2b、硝唑尼特、磷酸氯喹
抑制细胞因子风暴	细胞因子	托珠单抗、阿达木单抗、可利霉素、甲泼尼龙、硫辛酸

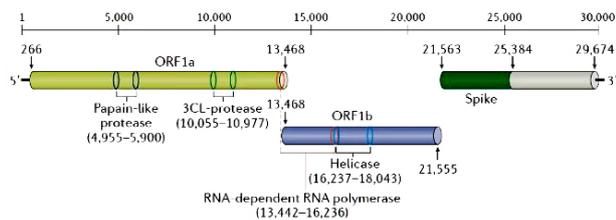


图 1 SARS-CoV-2 基因片段^[38]

Fig. 1 Genomic structure of SARS-CoV-2^[38]

法匹拉韦又称为 T-705, 由日本富山化学工业株式会社开发, 日本批准用于治疗 RNA 病毒感染的核苷类药物。法匹拉韦的作用靶点是病毒 RNA 依赖的 RNA 聚合酶, 它可引发 RNA 病毒复制过程紊乱, 从而阻碍病毒增殖。目前研究已显示法匹拉韦可以有效抑制甲型流感病毒、埃博拉病毒、黄热病病毒等。在体外的细胞系实验中, 它对 SARS-CoV-2 的 EC₅₀ 为 61.88 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[33]。在此次新冠疫情中, 有关法匹拉韦治疗 COVID-19 的临床试验已开展 3 项, 临床入组患者共 70 例(含对照组), 初步显示了较明显的疗效和较低的不良反应, 在治疗后第 3~4 天, 用药组的病毒核酸转阴率显著高于对照组。法匹拉韦的化合物专利权于 2019 年 8 月过期, 在 2016 年 6 月, 海正药业与日

本富山化学工业株式会社签定化合物专利独家授权协议, 由浙江海正负责在中国研发、制造、销售含法匹拉韦的抗流感病毒药物。截止 2020 年 2 月 17 日, 只有浙江海正获批上市, 适应证为用于成人新型或复发流感的治疗(仅限于其它抗流感病毒药物治疗无效或效果不佳时使用), 获批临床的企业有中国人民解放军军事医学科学院毒物药物研究所、石药中奇、瑞阳制药等 5 家。

3.2 基于宿主的药物设计

SARS-CoV-2 的主要受体是 ACE2。SARS-CoV-2 利用病毒表面的刺突糖蛋白(简称 S 蛋白)识别 ACE2 后侵染宿主细胞, 病毒在进入肺部细胞后, 激活免疫系统, 产生一系列物质, 从而导致肺损伤。可以考虑: ①以 ACE 为靶点, 开发 ACE2 抑制剂, 阻断 S 蛋白与 ACE2 结合; ②以刺突糖蛋白为靶点, 开发 S 蛋白抑制剂, 阻断 ACE2 与受体的结合, 从而设计治疗 COVID-19 的新药。磷酸氯喹可能通过改变受体 ACE2 的结构, 抑制病毒 S 蛋白与 ACE2 的结合, 从而抑制病毒在人体内增殖, 同时磷酸氯喹还具有免疫调节活性, 可在体内协同增强其抗病毒作用。GSK-2586881 则被认为是一种潜在的 S 蛋白抑制剂, 可以阻断 S 蛋白与受体的结合^[39]。人体 ACE2 全长有 805 个氨基酸, 其酶活性主要由 1-740 的胞外段决定。GSK-2586881 包含了 ACE2 全部的胞外段 1-740, 是一个缩短版 ACE2 重组蛋白。因此, GSK-2586881 与 ACE2 的酶活性有很高的一致性。研究认为, SARS 病人的 ACE2 表达显著降低会伴有肺损伤和肺衰竭, 增加 ACE2 酶可控制疾病急性肺损伤和肺动脉高压^[40]。由于 SARS-CoV-2 的 S 蛋白所结合的也是 ACE2 的胞外段, 笔者推测, GSK-2586881 可以发挥 ACE2 的功能, 与病毒 S 蛋白结合, 包围病毒并使其无法接近宿主细胞, 失去了在体内复制的能力, 产生 S 蛋白与 ACE2 结合阻断的效应, 同时减少肺损伤, 有希望在治疗 SARS-CoV-2 中发挥作用。然而, 由于战略调整, 2019 年 GSK 从管线中砍掉十多种呼吸系统药物, 包括当时已进入 II 期临床的 GSK-2586881, 具体临床终止原因未有报道。总之, GSK-2586881 或许是值得一试的候选分子。

在人体免疫系统方面, 先天免疫系统反应对控制冠状病毒的复制和感染有着很重要的作用, 而干扰素有望增强免疫反应。人干扰素 α -2a/2b,

可与细胞表面的特异性 α 受体结合, 阻止受病毒感染的细胞中病毒的复制与增殖, 并具有免疫调节作用。考虑到冠状病毒往往会抑制干扰素的效果, 提供重组干扰素, 或是提供干扰素诱导剂是一种新的思路。另外, 干扰素与利巴韦林联用, 或是与 HIV 感染药物洛匹那韦/利托那韦联用, 也曾见于 SARS 和 MERS 的治疗。在人体细胞方面, 阻断病毒复制所需的信号通路, 可能起到一定的抗病毒效果。环孢素(cyclosporine)就属于这一范畴。但由于这种药物会抑制人体的免疫力, 所以使用条件较为有限。没有免疫抑制不良反应的同类药物, 可能有着治疗的潜力。

3.3 针对“炎症风暴”的药物设计

炎症风暴, 又称细胞因子风暴, 它是机体感染微生物后引起机体自身免疫的一种现象。机体受到感染, 刺激免疫反应, 引发炎症, 体液中多种细胞因子(如 TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8、IL-12、IFN- α 和 IFN- β 等)参与此过程。细胞因子风暴能引起多器官功能衰竭和急性呼吸窘迫综合征, 是病毒感染重症化和患者致死的重要原因^[41]。细胞因子有 2 大类, 一类是促炎性细胞因子, 主要包括 IL-1 β 、IL-6、IL-12、TNF、IFN- γ 等, 它们可以帮助激活树突细胞、促炎型巨噬细胞、中性粒细胞、效应 T 细胞、B 细胞等, 促进炎症反应的发生发展; 另一类是抑炎性细胞因子, 主要包括 IL-4、IL-10、IL-13、TGF- β 等, 它们能够帮助激活调节型 T 细胞、抑炎型巨噬细胞等调节炎症反应。当机体免疫功能处于正常情况下, 以上 2 类细胞因子精确协同; 在炎症早期, 促炎性免疫反应被激活, 活化的促炎性免疫细胞产生大量促炎性细胞因子, 加速更多的免疫细胞加入到病原体的清除行动中; 炎症后期, 抑炎性免疫反应增多, 抑炎性免疫细胞产生大量的抑炎性细胞因子, 诱导免疫细胞凋亡或向抑炎性免疫细胞分化, 使炎症反应及时消散, 防止过度的炎症反应损伤自身正常的组织细胞。针对目前 COVID-19 的治疗, 在集中精力抗病毒的同时, 也应该警惕清除病毒以外炎症风暴带来的危害。2020 年 2 月 15 日举办的国务院联防联控机制新闻发布会上, 中国科学院院士周琪说: “现在治疗中, 尤其对于危重型患者如何抑制炎症因子、细胞因子风暴是大家关注的焦点。”因此, 结合目前相关资料, 除去既往常规治疗方法, 面对炎症风暴这个关键点, 药物研

发设计可从抑制炎症因子(比如通过抗体中和细胞因子风暴, 即针对升高的细胞因子, 通过单克隆抗体中和起作用, 防止重症化和死亡), 调节细胞因子与炎症的平衡, 不识别或阻断炎症风暴因子的发生等 3 方面考虑抑制细胞因子风暴。

3.4 通过吸入途径对呼吸道疾病的治疗

肺部吸入给药通过将目标药物制成气雾颗粒或者干粉颗粒, 然后经患者主动或者被动吸入进入呼吸系统, 从而实现全身或者局部的治疗作用。与传统的口服给药相比, 人体肺泡数量众多, 其内毛细血管数量巨大, 血流量丰富, 吸入阻碍小, 可使药物输送到达肺部靶向部位, 迅速达到较高的局部药物浓度, 减少全身不良反应。药物经肺部吸收后直接进入血液循环, 可以避免首过效应, 有效提高目标药物的生物利用度; 且吸入给药方式无痛, 患者可保持良好的依从性^[42]。目前市场上通过肺部给药的吸入剂主要包括雾化吸入剂、定量吸入剂和干粉吸入剂 3 类。雾化吸入剂, 又称喷雾剂, 它不依赖于抛射剂, 能够将药物直接递送至肺部, 且不需要抛射剂, 但由于雾化器体积一般比较笨重, 不易携带, 治疗费用较高昂, 因此限制了其日常的使用, 在医院内多见。在对 COVID-19 患者临床治疗策略中, 采用的普通氧疗和雾化吸入盐酸氨溴索溶液为雾化吸入剂。雾化吸入盐酸氨溴索溶解气道分泌物中的黏蛋白纤维、黏多糖, 进而促进呼吸道黏稠分泌物排出, 缩短黏液滞留时间。考虑到雾化过程中容易产生气溶胶, 造成二次暴露, 导致医患之间以及患者之间的交叉感染, 建议使用专门的雾化药物和雾化装备, 医护人员注意自己的个人防护措施。同时, 推荐使用干粉吸入剂或定量吸入剂, 降低交叉感染和二次暴露的风险。定量吸入剂, 又称气雾剂, 它通过阀门调控药物吸入的剂量, 具有体积小、易携带的优势。对 COVID-19 患者临床治疗策略中, 采用硫酸沙丁胺醇气雾剂和丙酸倍氯米松气雾剂, 分别达到缓解气道阻塞和气道局部抗炎的目的。但是, 因为定量吸入剂需要抛射剂辅助, 后者有可能造成环境污染; 且应用过程中需要患者调整呼吸频率来提高效率, 因此当患者无法实现呼吸的有效控制时(如肺功能较差), 药物可大量沉积于口咽处, 利用率不高, 且可能造成严重的不良反应。干粉吸入剂, 也称粉雾剂, 是一种将药物微粉化并装载于胶囊、泡囊或多剂量

储库中, 然后通过吸入装置的辅助, 患者通过口腔主动吸入微粉化的药物, 直接到达肺部器官, 实现局部或者全身治疗作用的制剂。由于干粉吸入剂具有吸收迅速、起效快、易携带、易操作, 且不需要借助抛射剂等优点, 已成为肺部给药系统中的研究热点^[43]。另外, 笔者注意到, 《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》试行第三至第七版均提到试用 α -干扰素雾化吸入抗病毒治疗, 而市场上现有的 α -干扰素剂型为注射剂。截止 2 月 17 日, 通过对中国临床试验注册中心(ChiCTR)官网的查询得知, 通过雾化吸入方式治疗 COVID-19 的临床试验已开展 2 项, 分别为“雾化吸入注射用重组病毒巨噬细胞炎性蛋白(vMIP)治疗 COVID-19 有效性和安全性的单臂临床试验”(ChiCTR2000029636)和“雾化吸入喜炎平注射液治疗 COVID-19 的临床研究”(ChiCTR2000029756)。注射剂雾化吸入属于“超说明书用药”, 须纳入国家相关“超说明书用药”的管理。非雾化制剂用于雾化吸入治疗后, 需考虑其可能不良反应。注射剂中常含有酚、亚硝酸盐等防腐剂, 吸入后有诱发哮喘等呼吸道疾病的风险。同时, 注射剂中使用的辅料无法经肺部清除, 最终沉积在肺部, 有诱发支气管炎、肺纤维化等肺部疾病的风险。同时注射剂用作雾化时, 雾化过程中药物的空气动力学粒径可能无法满足雾化要求, 无法达到治疗效果。当微粒粒径 $>7\ \mu\text{m}$ 时, 粒子沉积在上呼吸道, 后被纤毛运动排出; 微粒粒径 $<0.5\ \mu\text{m}$ 时, 大部分随呼吸道被排出; 只有微粒粒径在 $1\sim 5\ \mu\text{m}$ 可到达肺泡。

3.5 中西医结合

充分利用中西医各自的优势, 对疫情的防治可产生协同作用。多种中药方剂(如银翘散、葛根汤、正柴胡饮、玉屏风散、小柴胡汤、小青龙汤)可以通过多层次、多角度、多靶点发挥抗病毒的作用, 并已在多次由病毒引起的流行性肺炎疫情中得到证实。清热解毒药是中医治疗温热病的主要药物, 常用于痈肿、疮毒、毒痢等症状。现代药理和临床研究实践证明, 这类药物具有不同程度抗多种病原微生物、增强机体免疫、抗炎、解热、抗病毒作用, 如金银花、连翘、大青叶、板蓝根、鱼腥草、野菊花、黄芩、黄连、黄柏、甘草、蒲公英等, 对病毒有显著抑制作用。

使用中药的复方制剂对症治疗是中医治疗流

感的主要方式。很多中药配方具有与达菲相同的药效, 如从中药材中提取的金丝桃素对人工感染的 H5N1 亚型禽流感家禽活体具有较好的治愈率, 对 H9N2 型禽流感病毒也有一定的抑制作用^[44]。胡天佑^[45]依据传统药理学所提供的线索, 筛选出一批对流感病毒有效的中药(如大青叶、板蓝根、金银花、连翘、射干、黄芩、黄连、黄柏等), 之后通过体外实验证明能有效抑制甲型 H1N1 流感病毒, 动物实验表明该处方还可以有效保护小鼠肺部免受 H1N1 流感病毒的攻击, 为流感病毒的防治药物提供一个新的可能。国家中药现代化工程技术研究中心与香港大学医学院联合研究证明了抗病毒颗粒(丽珠药业)对甲型 H1N1 流感病毒、高致病性禽流感 H5N1 均有良好的抑制作用^[46]。目前对中药抗流感病毒机制研究得比较清楚的成分主要有两类: 一类是多酚类物质, 可以同时抑制流感病毒蛋白和 RNA 的合成, 还可以抑制流感病毒的吸附作用; 另一类是黄酮类物质, 具有抑制流感病毒唾液酸酶的活性和抑制膜融合作用。

2003 年 SARS 治疗中, 中医药发挥了独特的优势, 引起了世界的关注, 并得到了世界卫生组织专家的肯定。国内对中药防治 SARS 的研究, 主要集中在中药处方与有效成分筛选 2 大方向。在“中药抗 SARS 病毒的研究”的科技攻关项目中, 通过多学科手段, 对多种中药进行科学分析, 并从中药大黄中找到了一种对 SARS 病毒有阻断作用的 3CL 蛋白酶, 这种特效成分能够非常有效地抑制 SARS 病毒生活周期中所需的主要蛋白酶的活性, 从而阻断 SARS 病毒的转录与复制。

2014 年爆发的西非埃博拉疫情, 我国的中医治疗法也参与了该疫情的救治。2014 年 9 月我国派出了援塞医疗队, 中医专家杜宁副主任医师介绍, 在疫情期间使用以清热凉血解毒为主的药物(金银花、生地 and 生石膏等)对埃博拉病毒病进行干预, 在退热、阻断病情进展以及降低病死率等方面有一定的作用。中医医疗队采集埃博拉病毒确诊患者 102 例, 阴性对照组 84 例, 接受中药治疗的患者病程相对延长, 出血程度减轻, 为下一步的对症治疗争取了时间和机会, 直接或间接地降低了病死率^[47]。

针对此次 COVID-19 疫情, 西医治疗主要为抗病毒、抗感染药物及辅助呼吸支持、循环支持治疗, 而中医根据每位患者的病情不同, 给予个

体化治疗方案,在改善症状、调节体质状态方面具有较好效果,且恢复期通过中医药的理疗康复,对恢复体能、促进肺部残余炎症吸收具有显著优势。1项回顾性研究分析52例COVID-19患者,分别采用中西医结合治疗(34例)和单用西药治疗(18例),对其临床症状消失时间、体温复常时间等一系列参数进行比较,结果显示中西医结合治疗组症状消失时间、体温恢复时间及平均住院天数等均明显短于西药治疗组,中西药治疗显著改善患者临床症状,提高治愈率^[48]。德国法兰克福大学临床中心的科学家比较了利巴韦林、6-氮鸟苷、吡唑喹啉菌素、麦考酚酸和甘草甜素5种抗病毒药物对于2例SARS患者的抗病毒作用^[49]。试验结果显示,利巴韦林和麦考酚酸对SARS病毒的复制没有影响;6-氮鸟苷、吡唑喹啉菌素和甘草甜素能够抑制病毒的复制,其中甘草甜素表现最强,而且它可以在病毒复制的早期抑制病毒的吸附和穿膜^[50]。SARS-CoV与SARS-CoV-2同属冠状病毒,提示甘草中的甘草甜素可能潜在应用于抗SARS-CoV-2,值得进一步研究。

4 展望

针对急需开发有效药物治疗COVID-19的现状,药物研发人员可以利用已有的化合物数据库,根据已知的SARS-CoV-2的基因组信息和致病机制,筛选可能对SARS-CoV-2有治疗效果的分子,是一种在短时间内能够进行高通量筛选的策略。但它仍需体内外试验验证药物的安全性,也需要依次开展动物和临床试验考察代谢情况和不良反应,最终确定其有效性。药审中心可以为相关药物申请开通绿色通道,加快程序审批的速度,待伦理通过后才能进入临床使用。目前国内外多家药企已紧急开展相关临床试验或启动生产相关抗病毒药物,治疗COVID-19的特效药、靶向药也许不久就会出现。

REFERENCES

[1] SMITH W, ANDREWES C, LAIDLAW P, et al. A Virus obtained from influenza patients [J]. *Rev Med Virol*, 1995, 5(4): 187-191.

[2] WHO. Global influenza strategy 2019-2030 [EB/OL]. 2020. <https://www.who.int/influenza/en/>.

[3] LI F. Receptor recognition mechanisms of coronaviruses: a decade of structural studies [J]. *J Virology*, 2015, 89(4): 1954-1964.

[4] DE WIT E, VAN DOREMALEN N, FALZARANO D, et al. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses

[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(8): 523-534.

[5] HAAGMANS B L, VAN DEN BRAND J M, RAJ V S, et al. An orthopoxvirus-based vaccine reduces virus excretion after MERS-CoV infection in dromedary camels [J]. *Science*, 2016, 351(6268): 77-81.

[6] SONG Z, XU Y, BAO L, et al. From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight [J]. *Viruses*, 2019, 11(1): 59. Doi: 10.3390/v11010059.

[7] CHAN J F W, YUAN S, KOK K H, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 514-523.

[8] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in humans and its potential bat origin [J/OL]. *BioRxiv*, 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.01.22.914952>.

[9] HOFFMANN M, KLEINE-WEBER H, KRUEGER N, et al. The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells [J/OL]. *BioRxiv*, 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.01.31.929042>.

[10] BERTRAM S, HEURICH A, LAVENDER H, et al. Influenza and SARS-coronavirus activating proteases TMPRSS2 and HAT are expressed at multiple sites in human respiratory and gastrointestinal tracts [J]. *PloS one*, 2012, 7(4): e35876.

[11] TOCHINO Y, FUJIOKA M, SAKAZAKI H, et al. Current usage and effectiveness of influenza medications and factors regarding the time taken to alleviate fever based on postcard questionnaire survey [J]. *J Gen Family Med*, 2017, 18(6): 386-392.

[12] FDA. Adverse Events Reporting System (FAERS) Public Dashboard [EB/OL]. 2017. <https://www.fda.gov/drugs/>.

[13] DE MELLO C P P, DRUSANO G L, ADAMS J R, et al. Oseltamivir-zanamivir combination therapy suppresses drug-resistant H1N1 influenza A viruses in the hollow fiber infection model (HFIM) system [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018(111): 443-449.

[14] BERGSTROM M, CASS L M, VALIND S, et al. Deposition and disposition of [11 C] zanamivir following administration as an intranasal spray [J]. *Clin Pharm*, 1999, 36(1): 33-39.

[15] BORISKIN Y, LENEVA I, PECHEUR E I, et al. Arbidol: a broad-spectrum antiviral compound that blocks viral fusion [J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15(10): 997-1005.

[16] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)[S]. 2020.

[17] AL-TAWFIQ J A, MOMATTIN H, DIB J, et al. Ribavirin and interferon therapy in patients infected with the Middle East respiratory syndrome coronavirus: an observational study [J]. *Int J Infect Dis*, 2014(20): 42-46.

[18] OMRANI A S, SAAD M M, BAIG K, et al. Ribavirin and interferon alfa-2a for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a retrospective cohort study [J]. *The Lancet Infect Dis*, 2014, 14(11): 1090-1095.

[19] CHU C, CHENG V, HUNG I, et al. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings [J]. *Thorax*, 2004, 59(3): 252-256.

[20] CHAN J F W, YAO Y, YEUNG M L, et al. Treatment with lopinavir/ritonavir or interferon-β1b improves outcome of MERS-CoV infection in a nonhuman primate model of common marmoset [J]. *J Infect Dis*, 2015, 212(12): 1904-1913.

[21] CHENG K W, CHENG S C, CHEN W Y, et al. Thiopurine analogs and mycophenolic acid synergistically inhibit the

- papain-like protease of Middle East respiratory syndrome coronavirus [J]. *Antiviral Res*, 2015(115): 9-16.
- [22] YAMAMOTO M, MATSUYAMA S, LI X, et al. Identification of nafamostat as a potent inhibitor of Middle East respiratory syndrome coronavirus S protein-mediated membrane fusion using the split-protein-based cell-cell fusion assay [J]. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 2016, 60(11): 6532-6539.
- [23] FALZARANO D, FELDMANN H. Possible leap ahead in filovirus therapeutics [J]. *Cell Res*, 2014, 24(6): 647-648.
- [24] WARREN T K, JORDAN R, LO M K, et al. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys [J]. *Nature*, 2016, 531(7594): 381-385.
- [25] XU Z J, WANG P. Potential anti 2019-nCoV drug: remdesivir [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2020, 37(3): 264-268.
- [26] GOODMAN J L. Studying "secret serums"-toward safe, effective Ebola treatments [J]. *New Engl J Med*, 2014, 371(12): 1086-1089.
- [27] GEISBERT T W, HENSLEY L E, KAGAN E, et al. Postexposure protection of guinea pigs against a lethal ebola virus challenge is conferred by RNA interference [J]. *J Infect Dis*, 2006, 193(12): 1650-1657.
- [28] GAUDINSKI M R, COATES E E, NOVIK L, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and immunogenicity of the therapeutic monoclonal antibody mAb114 targeting Ebola virus glycoprotein (VRC 608): an open-label phase 1 study [J]. *Lancet*, 2019, 393(10174): 889-898.
- [29] CARETTE J E, RAABEN M, WONG A C, et al. Ebola virus entry requires the cholesterol transporter Niemann-Pick C1 [J]. *Nature*, 2011, 477(7364): 340-343.
- [30] NAKAGAWA T, WADA H, SEKIZAWA K, et al. Amantadine and pneumonia [J]. *Lancet*, 1999, 353(9159): 1157.
- [31] PULIDO F, ARRIBAS J R, DELGADO R, et al. Lopinavir-ritonavir monotherapy versus lopinavir-ritonavir and two nucleosides for maintenance therapy of HIV [J]. *Aids*, 2008, 22(2): F1-F9.
- [32] FURUTA Y, GOWEN B B, TAKAHASHI K, et al. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor [J]. *Antiviral Res*, 2013, 100(2): 446-454.
- [33] WANG M, CAO R, ZHANG L, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro* [J]. *Cell research*, 2020: 1-3.
- [34] AGOSTINI M L, ANDRES E L, SIMS A C, et al. Coronavirus susceptibility to the antiviral remdesivir (GS-5734) is mediated by the viral polymerase and the proofreading exoribonuclease [J]. *MBio*, 2018, 9(2): e00221-18.
- [35] DYER O. Two Ebola treatments halve deaths in trial in DRC outbreak [J/OL]. *BMJ*, 2019(366): 15140.
- [36] QIU X, WONG G, AUDET J, et al. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp [J]. *Nature*, 2014, 514(7520): 47-53.
- [37] WATANABE A, CHANG S C, KIM M J, et al. Long-acting neuraminidase inhibitor laninamivir octanoate versus oseltamivir for treatment of influenza: a double-blind, randomized, noninferiority clinical trial [J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 51(10): 1167-1175.
- [38] LI G, DE CLERCQ E. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) [J/OL]. *Nature*, 2020. <https://www.nature.xilesou.top/articles/d41573-020-00016-0?from=singlemessage>.
- [39] HEMNES A R, RATHINASABAPATHY A, AUSTIN E A, et al. A potential therapeutic role for angiotensin-converting enzyme 2 in human pulmonary arterial hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2018, 51(6): 1702638. Doi: 10.1183/13993003.02638-2017.
- [40] KREUTZ R, ALGHARABLY E A. Novel drugs in the treatment of hypertension, interventional therapies for secondary and essential hypertension [J]. *Intervent Therap Second Essent Hyperten*, 2016: 157-178.
- [41] GUPTA K K, KHAN M A, SINGH S K. Constitutive inflammatory cytokine storm: A major threat to human health [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2020, 40(1): 19-23.
- [42] WANG H, GEORGE G, ISLAM N. Nicotine-loaded chitosan nanoparticles for dry powder inhaler (DPI) formulations-impact of nanoparticle surface charge on powder aerosolization [J]. *Adv Powder Technol*, 2018, 29(12): 3079-3086.
- [43] WANG H, GEORGE G, BARTLETT S, et al. Nicotine hydrogen tartrate loaded chitosan nanoparticles: Formulation, characterization and *in vitro* delivery from dry powder inhaler formulation [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2017(113): 118-131.
- [44] 黄少新, 张振开. 中医药防治人禽流感研究进展[J]. *内蒙古中医药*, 2013, 32(28): 111-112.
- [45] 胡天佑. 具有抗病毒作用的中草药应用研究[J]. *中国处方药*, 2004(8): 67-68.
- [46] 曹晖. 201401-07 ZY-26 抗病毒颗粒抗新发传染性疾病的技术发明及其应用[C]. *中华中医药学会. 第四次中华中医药科技成果论坛论文集. 中华中医药学会: 中华中医药学会, 2014: 12.*
- [47] DU N. Advantages of Chinese medicine fighting against Ebola [N]. *China Trad Chin Med(中国中医药报)*, 2015-01-07.
- [48] 夏文广, 安长青, 郑娟娟, 等. 中西医结合治疗新型冠状病毒肺炎 34 例临床研究[J/OL]. *中医杂志*, 2020. [2020-02-28]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200217.1502.004.html>.
- [49] CINATL J, MORGENSTERN B, BAUER G, et al. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus [J]. *Lancet*, 2003, 361(9374): 2045-2046.
- [50] 梁爱君, 凌云, 刘贺之. 中药在传染性非典型肺炎(SARS)防治中的应用[J]. *解放军药学报*, 2003(5): 367-369.

收稿日期: 2020-02-21

(本文责编: 蔡珊珊)