

• 热点关注 •

抗新型冠状病毒靶点及药物研究进展

韩 露, 王同兴, 肖智勇, 周文霞, 张永祥

(军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所, 抗毒药物与毒理学国家重点实验室, 北京 100850)

周文霞, 博士, 研究员, 博士生导师。主要从事神经免疫药理、中药药理、网络药理学研究以及新药研发。发表学术论文 180 余篇, 主编(副主编)专著 2 部, 参编 3 部, 申请专利 30 余项, 授权 16 项, 获新药临床批件 3 项; 获北京市科学技术奖一等奖 1 项、军队及上海市科技进步二等奖 3 项; 曾被评为全国优秀科技工作者, 获第七届唐氏中医药发展奖。现兼任中国药理学学会常务理事兼副秘书长、中国药理学学会网络药理专业委员会主任委员等职。



摘要: 新型冠状病毒肺炎(COVID-19)是由严重急性呼吸综合征冠状病毒新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的严重威胁人类健康的传染性疾病。SARS-CoV-2 的病毒颗粒由外层的包膜和内层的核衣壳两部分构成, 其基因组编码的非结构蛋白和结构蛋白在其吸附、穿入、脱壳、核酸和蛋白质合成、装配和释放整个生命周期中发挥重要作用, 针对病毒自身或其感染依赖的宿主分子均可研发抗病毒药物。靶向 SARS-CoV-2 刺突糖蛋白的抗体药物和靶向 SARS-CoV-2 RNA 聚合酶的小分子药物等表现出一定的抗病毒作用, 是潜力较大的候选药物, 但其疗效仍有待进一步临床试验证明。综合考虑病毒自身和宿主靶点, 进行多靶点多药物组合可能会取得更佳的防治效果。本综述对 SARS-CoV-2 的结构和生命周期、潜在的靶点和药物等研究进展进行综述, 为研发抗 SARS-CoV-2 药物提供参考。

关键词: 冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 新型冠状病毒; 抗病毒药物

中图分类号: R978.7

文献标志码: A

文章编号: 1000-3002-(2020)12-0881-18

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2020.12.001

2002 年末以来, 严重急性呼吸综合征冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)、中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)和新型冠状病毒(SARS-CoV-2)等冠状病毒的传播, 不仅导致了严重的人类疾病, 威胁民众的生命安全, 还引发严峻的公共卫生危机, 造成了巨大经济损失^[1-3]。因 SARS-CoV-2 感染引起的 COVID-19 已在全球范围内大流行, 成为自 1918 年流感大流行暴发以来最大的公共卫生、社会和经济危机。然而, 迄今尚无针对冠状病毒的特效防治药物。此次疫情发生后, 我国迅速启动了包括药物筛选、研发等在内的科技攻关计划, 首先对已上市或处于临床研究阶段的对 COVID-19 可能有效的药物进行了筛选和研究, 发现一些具有抗 SARS-CoV-2 活性的药

物, 如氯喹(chloroquine)、羟氯喹(hydroxychloroquine)、法匹拉韦(favipiravir)和瑞德西韦(remdesivir)等^[4]。随着疫情进展, 国外也开展了抗 SARS-CoV-2 药物的研发, 但这些药物疗效有待进一步研究确定。随后进一步的研究发现, 氯喹不能有效阻止 SARS-CoV-2 入侵肺细胞^[5], 提示氯喹可能治疗 COVID-19 疗效欠佳。深入研究并阐明 SARS-CoV-2 的生物学特性、感染和致病等机制, 寻找有效靶标, 研发疗效及安全性好的抗 SARS-CoV-2 药物是当前的迫切需求。本文介绍 SARS-CoV-2 的组成和生存周期, 综述其潜在的靶点和药物研发现状, 为快速有效地研发 COVID-19 防治药物提供参考。

1 SARS-CoV-2 结构与生存周期

导致 COVID-19 的病原体 SARS-CoV-2 是一组高度多样、具包膜的正义单链 RNA 病毒, 与

SARS-CoV 和 MERS-CoV 同属于 β 冠状病毒^[1]。SARS-CoV-2 的基因组成和功能与已知冠状病毒具有高度相似性^[6]。SARS-CoV-2 基因组由多达 29 个开放阅读框和一些附属基因组成,长度约 30 kb^[1]。SARS-CoV-2 确切的功能蛋白数目虽尚待确定,但至少有 16 种非结构蛋白、4 种结构蛋白和 6~7 种辅助蛋白得到了确认。

1.1 结构

冠状病毒属病毒颗粒由外层的包膜和内层的核衣壳构成,包膜与细胞膜一样同为磷脂双分子层结构,其中包含由病毒基因组编码的结构蛋白包括刺突糖蛋白(spike glycoprotein, S 蛋白)、包膜蛋白(envelope protein, E 蛋白)和膜蛋白(membrane protein, M 蛋白),核衣壳则由核衣壳蛋白(nucleocapsid protein, N 蛋白)和病毒 RNA 组装而成(图 1A)。

S 蛋白在病毒-细胞受体相互作用中起着关键作用,对抗病毒药物或疫苗的开发具有重要意义。S 蛋白由 S1 亚基和 S2 亚基组成,其中 S1 具有与受体结合的功能,而 S2 则介导随后与宿主细胞膜融合^[3]。S1 亚基的受体结合域(receptor-binding domain, RBD)与宿主受体结合,触发 S2 亚基的构象变化,使病毒和宿主细胞膜接近并产生融合^[7](图 1B)。E 蛋白是一种小型膜结合蛋白,参与病毒装配和出芽等。M 蛋白是冠状病毒最丰富的结构蛋白,主要功能是维持病毒包膜的形状,并可将其他结构蛋白募集到“内质网-高尔基中间室(endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment, ERGIC)”以介导病毒组装和出芽。N 蛋白的主要作用是病毒基因组 RNA 结合并形成螺旋状核糖核蛋白,参与基因组保护、病毒 RNA 复制、病毒体组装和免疫逃逸。

非结构蛋白主要由冠状病毒的 2 个功能开放阅读框(open reading frame, ORF) 1a 和 ORF1b 编码。ORF1a/b 翻译出多聚蛋白 1a(polyprotein 1a, pp1a)和 pp1ab,它们被木瓜蛋白酶样蛋白酶(papain-like protease, PLpro)和 3-胰凝乳样蛋白酶(3C-like protease, 3CLpro)分割产生多个非结构蛋白,其中包括参与病毒转录和复制的 RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)和解旋酶等^[3, 8](图 1)。

SARS-CoV-2 作为冠状病毒属成员,其基因组和结构组成与其他冠状病毒基本相同,而基因组中的关键位点差异导致 SARS-CoV-2 的不同致病特点及感染后果^[9]。其结构蛋白中的 S 蛋白在病毒吸附和穿入细胞中发挥关键作用, E 蛋白、M 蛋白和 N

蛋白则对于病毒的装配起关键作用;非结构蛋白包括病毒的酶以及由非结构蛋白组成的复制复合体,在病毒完成整个生命周期中起关键作用。这些蛋白、病毒结构中的脂质膜以及结构和复制中的核酸都可成为抗病毒的重要靶点。由于病毒生存周期高度依赖宿主,所有参与病毒生存周期的宿主蛋白也都可成为重要的抗病毒宿主靶点。

1.2 复制周期

SARS-CoV-2 复制周期与其他冠状病毒相似,包括吸附、穿入、脱壳、核酸和蛋白质合成、装配和释放 5 个步骤。吸附:首先 SARS-CoV-2 通过 S 蛋白与宿主表面受体蛋白结合,实现吸附作用(图 2①)。冠状病毒可吸附的宿主蛋白包括血管紧张素转换酶 2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)、二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase 4, DPP4)、氨肽酶 N(aminopeptidase N)和 CD147 等,而目前已经发现 SARS-CoV-2 可以利用 ACE2 或 CD147 实现吸附^[10-13]。穿入:吸附之后, SARS-CoV-2 可通过 2 种途径穿入细胞(图 2①),一种是胞内体途径,另一种是细胞表面非胞内体途径^[3]。其中胞内体途径需要依靠低 pH 值环境以及 pH 依赖性的半胱氨酸蛋白酶,从而促进膜融合反应^[14-15]。冠状病毒穿入的非胞内体途径依赖其他宿主蛋白酶,如跨膜蛋白酶丝氨酸 2(transmembrane protease serine 2, TMPRSS2)和跨膜蛋白酶丝氨酸 11D(transmembrane protease serine 11D, TMPRSS11D)。蛋白酶可将 S 蛋白切割成 S1 和 S2 亚基,从而激活 S 蛋白,促进非胞内体途径进入^[16-17]。脱壳:穿入之后冠状病毒在宿主细胞内解体,将核衣壳和病毒 RNA 释放到细胞质中(图 2②)。核酸和蛋白质合成:在核酸和蛋白质合成阶段, ORF1a/b 翻译为 pp1a 和 pp1ab(图 2③),病毒基因组 RNA 开始复制(图 2④)^[8]。pp1a 和 pp1ab 被 PLpro 和 3CLpro 裂解产生大量非结构蛋白,并形成复制-转录复合物。冠状病毒复制-转录复合物的疏水结构域附着在内质网膜上,产生冠状病毒复制结构^[18-19]。病毒基因组 RNA 的全长正链转录形成全长负链模板,负链模板用于合成新的全长基因组 RNA^[3, 8]。病毒复制结构合成亚基因组 RNA(subgenomic RNA)和各种结构蛋白的 mRNA(图 2⑤),并产生结构蛋白和辅助蛋白(图 2⑥)^[3, 8]。装配和释放:最后在装配和释放阶段, N 蛋白和全长基因组 RNA 组装形成螺旋状核衣壳,核衣壳与 S 蛋白、E 蛋白和 M 蛋白形成组装的成熟病毒(图 2⑦和⑧),组装完成的病毒通过胞吐释放到细胞外,继续新的病毒复制周期(图 2⑨)^[6]。

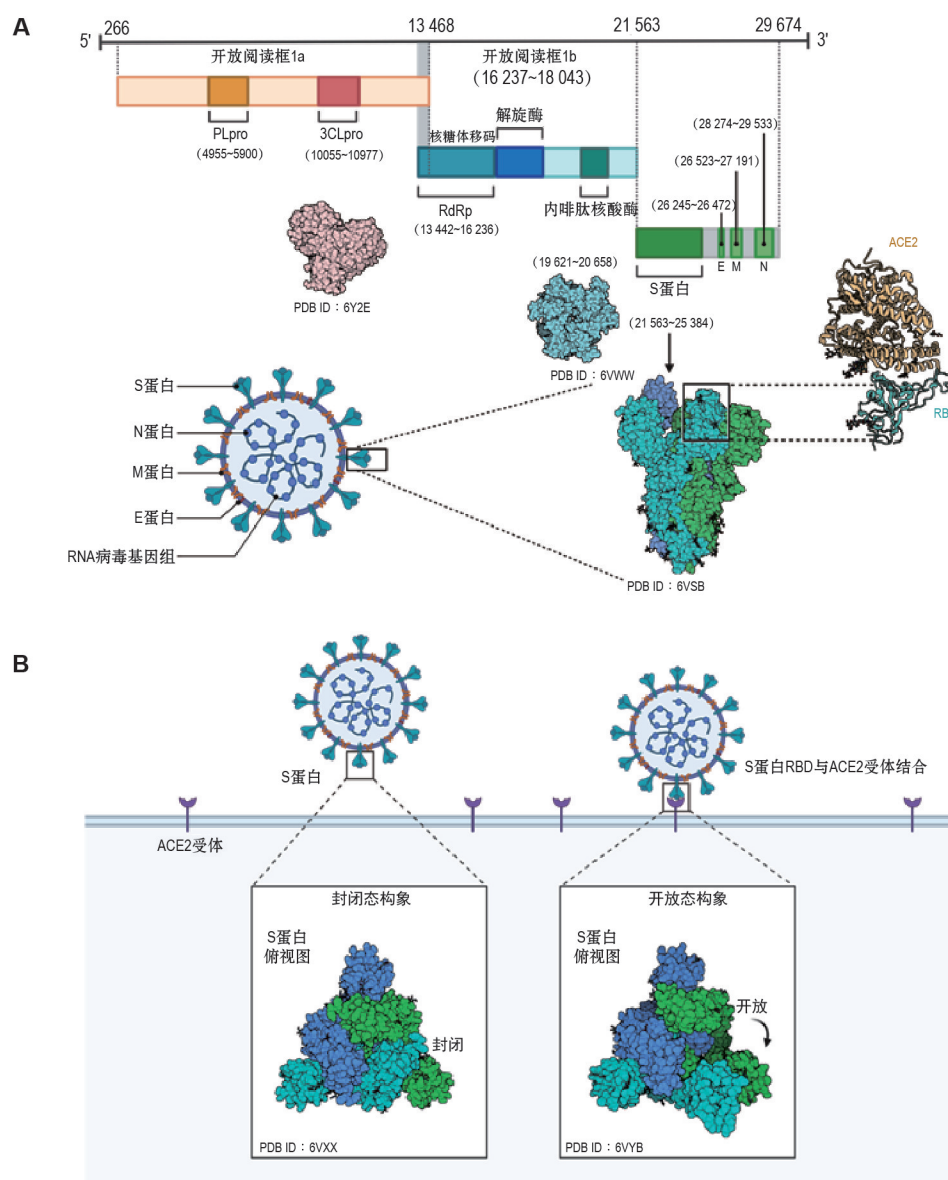


图1 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)基因组结构和刺突糖蛋白(S蛋白)介导的与宿主细胞融合. A: SARS-CoV-2基因组结构及其蛋白组成;其中数字表示基因组结构碱基序列位置,数字~数字表示编码蛋白的基因组区间; B: S蛋白通过不同构象实现与细胞受体结合介导膜融合. ACE2:血管紧张素转换酶2;RBD:受体结合域;PLpro:木瓜蛋白酶样蛋白酶;3CLpro:3-胰凝乳样蛋白酶;RdRp:RNA依赖性RNA聚合酶;E蛋白:包膜蛋白;M蛋白:膜蛋白;N蛋白:核衣壳蛋白.

2 靶向 SARS-CoV-2 与相关药物研发

SARS-CoV-2是一种高度宿主依赖的病原体,因此靶 SARS-CoV-2病毒本身或靶向宿主的治疗手段都可发挥作用。针对 SARS-CoV-2的吸附、穿入、脱壳、核酸和蛋白质合成、装配和释放5个步骤的每个阶段都可实现抗病毒效果。目前针对病毒结构蛋白(图2a)、病毒的酶(图2b)、病毒的复制复合体(图2c)和病毒核酸、核苷酸及脂质膜(图2d)的药物研究取得了一定进展。由于病毒的生命周期本身高度依赖宿主,因此针对宿主在各阶段发挥作用的分子也可产生抗病毒效果。目前针对参与病毒入侵的膜受体和蛋白酶(图2e)、细胞内吞作用

(图2f)、其他参与病毒复制的信号通路(图2g)以及免疫调节(图2h)(表1)^[6]的药物研究取得一定进展。

2.1 病毒自身靶点及其相关药物

冠状病毒整个生命周期中可作为靶点的分子包括病毒的结构蛋白、非结构蛋白(包括关键的酶以及由非结构蛋白构成的复制复合体)以及病毒的核酸。这些分子共同组成病毒来源的 COVID-19 治疗靶点。下面将分别叙述这些靶点的靶向药物。

2.1.1 病毒结构蛋白靶点及其相关药物

感染性病毒颗粒中的结构蛋白可以作为抗病毒药物的靶点。根据冠状病毒的结构可知其主要结构蛋白包括S蛋白、E蛋白、M蛋白和N蛋白(图2a),其中S蛋白作为冠状病毒进入宿主细胞的重

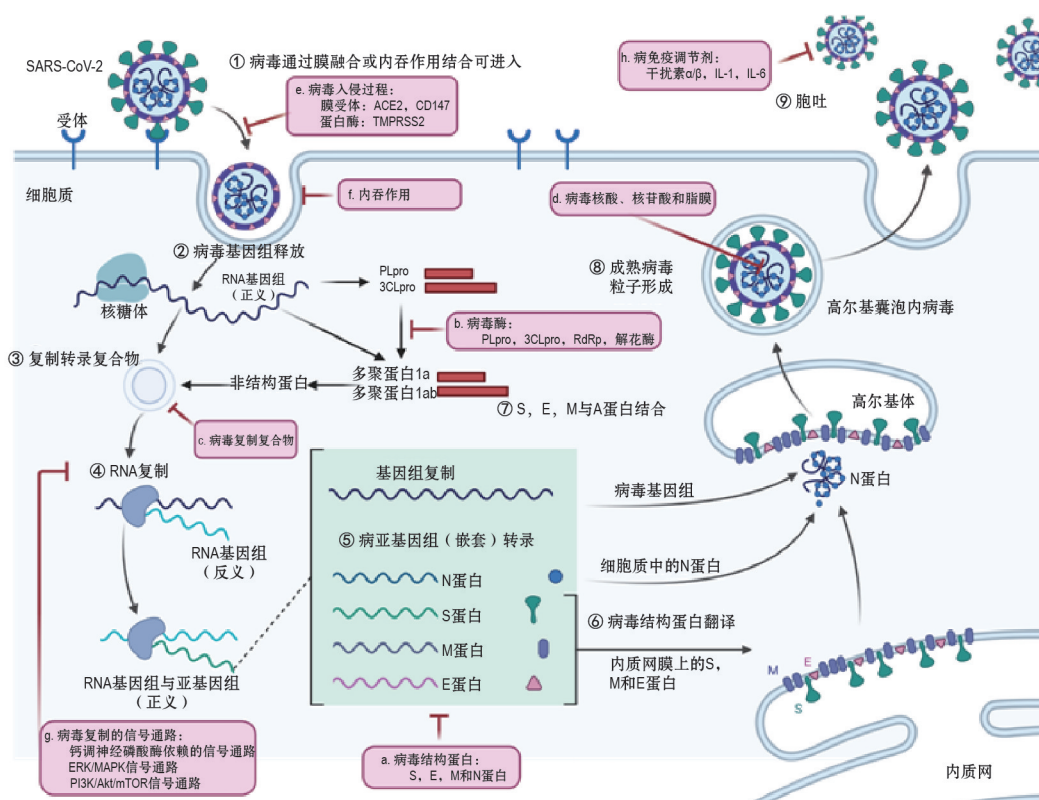


图2 SARS-CoV-2复制周期及药物靶向策略. CD147: 基质金属蛋白酶诱导因子; TMPRSS2: 跨膜蛋白蛋白酶丝氨酸2; ERK: 细胞外调节蛋白激酶; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶; PI3K: 磷脂酰肌醇 3-激酶; Akt: 蛋白激酶B; mTOR: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; IL-1: 白细胞介素1; →: 病毒复制周期涉及的步骤; —: 药物靶向策略.

要蛋白可与宿主细胞表面受体结合,帮助病毒进入宿主细胞^[9, 20-22]。因此,以S蛋白为靶点是抗冠状病毒药物研发的重要策略。

针对S蛋白的抗体在SARS-CoV和MERS-CoV病毒中已经表现出抗病毒活性。在SARS-CoV研究中,部分SARS患者在症状发作后接受恢复期患者血浆治疗后出院率显著升高,且死亡率降低,而这些血浆中含有靶向SARS-CoV-S的抗体^[23-24]。在MERS-CoV研究中发现,对于利用腺病毒载体表达人源DPP4基因的MERS-CoV感染的BALB/c小鼠模型,含MERS-CoV-S抗体的血清可以阻断病毒附着并加速体内病毒的清除^[25]。在SARS-CoV-2 S蛋白抗体研发中发现,人源化单克隆抗体H014可在nmol水平通过与S蛋白RBD结合以中和SARS-CoV-2,并在ACE2人源化小鼠模型中降低感染肺部的病毒滴度,预防肺部病变^[26]。单克隆抗体COV2-2196和COV2-2130也能够靶向RBD,阻断病毒与ACE2受体结合,并在小鼠和恒河猴模型得到验证^[27]。对于病毒频繁突变可能产生的耐药问题,可能通过多抗体联合治疗的方法解决。已有研究表明,2种或以上靶向非交叉耐药表位或S蛋白不同区域的单克隆抗体有助于减少病毒突变导致的免疫逃逸现象^[28]。

靶向S蛋白的多肽药物也具有抗病毒活性,提示这类药物在COVID-19防治中具有良好的应用前景。在抗SARS和MERS的体外药物实验中,针对S蛋白的抗病毒肽类均显著减少感染导致的细胞空斑形成^[29-30]。而在MERS感染的小鼠模型中,抗病毒肽HP2P-M2表现出保护作用,且与干扰素 β 联合使用时具有增效作用^[31]。靶向S蛋白的多肽药物对SARS-CoV-2感染也具有对抗作用,基于SARS-CoV和MERS-CoV的抑制剂EK1开发的脂肽EK1C4,体外应用对SARS-CoV-2膜融合过程有显著抑制作用,并能保护小鼠模型不受HCoV-OC43感染,提示其对SARS-CoV-2感染的防治作用^[32]。针对S蛋白不同区域的抗病毒肽可具有协同作用,并克服病毒的耐药突变^[33]。

靶向S蛋白的其他蛋白类药物在冠状病毒感染模型上也表现出治疗效果。如格瑞弗森(griffithsin)是从一种红藻中分离得到的抗病毒蛋白^[34],能与冠状病毒S蛋白上的寡糖特异性结合^[35],并在体外模型和感染SARS-CoV的小鼠模型中表现出对冠状病毒的抑制作用。然而其对SARS-CoV-2的治疗效果尚未见报道。

靶向S蛋白的小分子药物也同样受到关注。如在体外实验中,阿比朵尔(arbidol)具有抗SARS-

表 1 冠状病毒靶点和具有潜在作用的药物

表 1 冠状病毒靶点和具有潜在作用的药物					是否针对 SARS-CoV-2 进行评价		
靶点类别	药物类别	靶点	作用药物	有效性评价			
针对病毒的靶点	病毒结构蛋白靶向药物	S 蛋白	人源化单克隆抗体 H014	动物评价 ^[26]	是		
			单克隆抗体 COV2-2196 和 COV2-2130	动物评价 ^[27]	是		
			抗病毒肽 HP2P-M2、EK1 和 EK1C4 等	细胞评价， 动物评价 ^[32]	是		
			格瑞弗森(Griffithsin)	细胞评价， 动物评价 ^[34]	否		
			阿比朵尔(Arbidol)	细胞评价 ^[36] ， 进入临床 ^[37-38]	是		
		siRNA 药物	细胞评价 ^[40]	否			
		E 蛋白，M 膜蛋白，N 蛋白，ORF3a, ORF7a 或 ORF7b	阿米洛利(amiloride)	细胞评价 ^[43]	否		
		E 蛋白	PJ34	细胞评价 ^[44]	否		
		N 蛋白	—				
		病毒酶靶向药物	PLpro	洛匹那韦(lopinavir)；洛匹那韦-利托那韦(ritonavir)联用	细胞评价 ^[59] ， 动物评价 ^[61] ， 进入临床 [#]	否	
	3CLpro			依布硒(ebselen)	分子评价， 细胞评价 ^[62] ， 进入临床 [#]	是	
	利巴韦林(ribavirin)			细胞评价 ^[4] ， 进入临床 [#]	是		
	RdRp		腺苷类似物 BCX4430	细胞评价， 动物评价 ^[68]	否		
			阿昔洛韦(aciclovir)	细胞评价 ^[69]	否		
			法匹拉韦(favipiravir)	细胞评价 ^[4] ， 进入临床 ^[71]	是		
			瑞德西韦(remdesivir)	细胞评价 ^[4] ， 进入临床 ^[75-77]	是		
			EIDD-1931；EIDD-2801	细胞评价， 动物评价 ^[78]	是		
			siRNA	细胞评价 ^[79]	否		
			巴拿宁类(bananins)	细胞评价 ^[81]	否		
			2,6-双芳甲氧-5-羟色酮				
			解旋酶	SSYA 10-001	细胞评价 ^[83]	否	
			病毒的复制复合体靶向药物	冠状病毒复制复合物	K22	细胞评价 ^[18]	否
			病毒核酸、核苷酸和脂质膜靶向药物	病毒核酸	RNA 酶	细胞评价 ^[87]	否
				病毒核苷酸	霉酚酸酯	细胞评价， 动物评价 ^[85] ， 进入临床 [#]	否
				病毒脂质膜	亲脂性噻唑烷衍生物 LJ001 和 JL103	细胞评价， 动物评价 ^[88-91]	否

续表1

靶点类别	药物类别	靶点	作用药物	有效性评价	是否针对 SARS-CoV-2 进行评价
针对宿主的靶点	参与病毒入侵的膜受体和蛋白酶靶向药物	DDP4	抗DPP4单抗	细胞评价 ^[92]	否
		ACE2	小分子抑制剂 NAAE	细胞评价 ^[93]	否
			重组人可溶性ACE2	细胞评价, 类器官评价 ^[94]	是
		CD147	抗 CD- 147 人源化抗体美珀珠单抗 (meplazumab)	细胞评价 ^[13]	是
		半胱氨酸蛋白酶	K11777	动物评价 ^[95]	否
	细胞内吞作用靶向药物	丝氨酸蛋白酶TMPRSS2	卡莫司他(camostat)	细胞评价 ^[17] , 进入临床 ^a	是
		弗林蛋白酶	—	细胞评价 ^[99]	否
		内吞作用	氯喹(chloroquine)	进入临床 ^[103]	是
		网格蛋白	氯丙嗪(chlorpromazine)	细胞评价 ^[59] , 进入临床 ^a	否
	其他参与病毒复制的信号通路靶向药物	钙调神经磷酸酶	环孢霉素A(cyclosporinA)	细胞评价 ^[107] , 进入临床 ^a	否
			阿拉泊韦(alisporivir)	细胞评价 ^[108] , 进入临床 ^a	否
		ERK/MAPK 和 PI3K/AKT/mTOR 信号通路	多种抑制剂	细胞评价 ^[109-110]	否
	免疫调节靶向药物	非特异免疫	重组 α 干扰素和 β 干扰素	细胞评价 ^[118] , 动物评价 ^[61]	否
			聚肌苷酸-聚胞苷酸	动物评价 ^[25]	否
			猕猴 θ 型防御素-1	动物评价 ^[121]	否
		IL-6	托西珠单抗(tocilizumab)	进入临床 ^[123-124]	是

—: 无对应作用的药物; #: 来自 DrugBank V 5.1.8 数据库(截止时间: 2021 年 2 月 1 日)^[129]; siRNA: 小干扰 RNA; DPP4: 二肽基肽酶 4; ORF3a: 开放阅读框 3a; NAAE: (2-氨基)-1-氮杂环丙烷胺; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶; PI3K: 磷脂酰肌醇 3-激酶; Akt: 蛋白激酶 B; mTOR: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; IL-6: 白细胞介素 6。

CoV 的活性^[36], 其可能通过作用于 S 蛋白发挥作用。阿比朵尔也在 COVID-19 患者中进行了临床试验。来自 69 例 COVID-19 患者的临床数据显示, 阿比朵尔治疗组病死率(0%)明显低于未使用阿比朵尔组(16%)^[37]。然而后续也有研究显示阿比朵尔并未表现出明确药效^[38]。

冠状病毒其他的结构蛋白, 包括 E 蛋白、M 蛋白和 N 蛋白, 不仅是病毒组装必需的蛋白, 而且部分蛋白还具有抑制宿主免疫反应以促进病毒复制的功能。例如, SARS-CoV-M 蛋白具有干扰素拮抗活性, SARS-CoV-N 蛋白可抑制由 shRNA 或 siRNA 触发的 RNA 干扰^[39-40], 且靶向 SARS-CoV E 蛋白、M 蛋白和 N 蛋白, ORF3a, ORF7a 或 ORF7b 的 siRNA 能够抑制病毒在体外模型中的复制^[41], 说明 S 蛋白以外的结构蛋白也可能成为抗病毒靶点。目前已发现部分靶向 E 蛋白和 N 蛋白的化合物具有

一定抗病毒活性, 如 SARS-CoV 和 HCoV 229E 的 E 蛋白抑制剂阿米洛利(amiloride), 与 HCoV-OC43 中 N 蛋白的 N 端结构域结合的 PJ34 等^[42-44]。然而总的看来, 以 S 蛋白以外的其他结构蛋白为靶点的药物研究仍然较少, 是否具有良好的研发前景目前尚难判断。

2.1.2 病毒酶靶点及其相关药物

病毒基因组除编码结构蛋白外, 还编码了大量的非结构蛋白, 其中病毒酶在病毒生命周期发挥重要作用(图 2b), 是潜在的治疗靶点, 包括蛋白水解酶和复制酶等。在病毒的生命周期中, 蛋白水解酶类的 PLpro 和 3CLpro 通过水解病毒的复制酶多聚蛋白, 产生的大量非结构蛋白, 进而形成病毒的复制; RdRp 和解旋酶在病毒的复制复合物过程中分别催化 RNA 合成和 RNA 双链解旋过程。PLpro、3CLpro、RdRp 和解旋酶在病毒生命周期中的重要

作用决定了它们极可能成为有效的抗病毒靶点,针对这些病毒酶的靶向药物研发也取得了一定的进展。

PLpro 作为冠状病毒的一个关键蛋白水解酶,在多聚蛋白水解、去泛素化等方面发挥作用^[45-47]。病毒 PLpro 蛋白的晶体结构解析促进了对 PLpro 蛋白功能的了解和靶向分子的发现^[48],然而目前发现的某些 SARS-CoV 的 PLpro 抑制剂却不能抑制病毒复制^[49-51]。而且不同的冠状病毒(例如 SARS-CoV 和 MERS-CoV)的 PLpro 蛋白结构具有差异,目前发现的 PLpro 抑制剂无法发挥广谱作用^[52-53]。因此,针对 SARS-CoV-2 的 PLpro 靶向药物研究应关注其 PLpro 蛋白与其他病毒的同源性,及其在细胞和动物模型中的活性。

3CLpro 是另一种冠状病毒病毒复制所需要的水解酶,可通过分解病毒复制中产生的复制酶多聚蛋白发挥作用。已有研究表明,多种药物可靶向 SARS 的 3CLpro 蛋白^[54],部分抑制剂在体外实验中表现出广谱的抗冠状病毒活性^[55-56]。已经上市的用于治疗 HIV 感染的蛋白酶抑制剂洛匹那韦是一种 3CLpro 抑制剂,在多种体内外实验中表现出单用或联合使用的抗 MERS-CoV 或 SARS-CoV 活性^[25, 57-61]。针对 SARS-CoV-2 的 3CLpro 蛋白的晶体结构解析和药物筛选也发现部分能够抑制 3CLpro 蛋白活性的小分子,其中依布硒(ebselen)在细胞模型中表现出活性^[62]。

参与病毒转录和复制的 RNA 依赖性 RdRp 是冠状病毒复制-转录复合物的的重要组成部分,参与基因组和亚基因组 RNA 的产生。核苷(酸)类似物通过抑制 RdRp 的功能发挥作用。核苷类似物利巴韦林(ribavirin)是一种具有广谱抗病毒活性的鸟嘌呤类似物,用于治疗严重呼吸道合胞病毒感染、丙型肝炎病毒感染和病毒性出血热,其确切的作用机制尚不清楚,但抑制 mRNA 加帽和诱导 RNA 依赖性病毒复制中的突变对治疗包括冠状病毒在内的多种 RNA 病毒感染至关重要^[63]。细胞实验结果表明,利巴韦林在体外能够抑制 SARS-CoV-2 复制^[4]。然而,用利巴韦林治疗 SARS 患者和 MERS 患者的结果并未显示出明显的临床获益^[64-67]。此外,使用大剂量利巴韦林的严重副作用也限制了其在严重冠状病毒感染患者中的临床应用^[2, 64]。腺苷类似物 BCX4430 作为一种非专一的 RNA 链终止剂,可抑制多种 RNA 病毒的 RdRp,包括 SARS-CoV 和 MERS-CoV 等冠状病毒以及埃博拉和马尔堡病毒等丝状病毒^[68]。其他核苷类似物,如阿昔洛韦(aciclovir)在体外可抑制 MERS-CoV 和 HCoV-NL63^[69]。

2014 年,法匹拉韦在日本批准上市,用于甲型和乙型流感的治疗,其安全性良好^[70]。研究表明,法匹拉韦在体外对 SARS-CoV-2 有一定的抑制作用^[4]。且在深圳开展的一项开放性非随机对照研究中显示,其对 COVID-19 疾病进展和病毒清除具有作用,法匹拉韦治疗组病毒清除中位时间更短(内距 2.5~9.0 d),与对照组(内距 8.0~13.0 d)相比差异显著($P<0.01$),法匹拉韦治疗组胸部 CT 改善率(91.43%)也显著高于对照组(62.22%)($P=0.004$)^[71]。法匹拉韦仿制药阿维法韦(avifavir)已在俄罗斯获批用于 COVID-19 治疗(https://rdif.ru/Eng_full-News/5224/),而印度也批准了法匹拉韦用于轻度至中度 COVID-19 患者的治疗(<https://www.glenmarkpharma.com/sites/default/files/Indian-regulator-approves-Favipiravir-for-the-treatment-of-mild-to-moder.pdf>)。瑞德西韦作为靶向 RdRp 的抗 RNA 病毒的新型核苷类似物被广泛关注并尝试用于治疗 SARS-CoV-2 感染^[4, 72-73]。晶体结构研究表明瑞德西韦对 SARS-CoV-2 的 RdRp 具有靶向作用^[74]。瑞德西韦较早开展用于治疗 COVID-19 的临床研究^[75]。在中国的一项双盲安慰剂对照临床试验(注册号:NCT04257656)中,瑞德西韦不能使 COVID-19 重症患者明显获益,但在症状持续时间 ≤ 10 d 的患者中,瑞德西韦治疗组的临床改善时间比安慰剂组更短(风险比 1.52, 95% 置信区间为 [0.95~2.43])^[76]。而美国的一项 RCT 研究以及一项国际的同情用药试验则支持瑞德西韦对 COVID-19 患者的临床获益,瑞德西韦组患者的中位恢复时间为 11 d,显著小于安慰剂组的 15 d($P<0.01$)^[77]。2020 年 5 月 1 日,美国食品药品监督管理局宣布瑞德西韦获得紧急使用授权(emergency use authorization)。随后,日本、印度、英国和欧盟等也批准了瑞德西韦用于 COVID-19 治疗或紧急使用。然而瑞德西韦抗 SARS-CoV-2 的作用和安全性等还有待进一步观察和研究。一种新的核苷类似物 EIDD-1931 在细胞模型上表现出对 SARS-CoV-2 及其他病毒的抑制作用,并且对瑞德西韦耐药的病毒依然有效。口服其前体药物 EIDD-2801 可抑制冠状病毒感染的小鼠模型体质量降低和肺部出血现象^[78]。与其他病毒靶标类似,冠状病毒 RdRp 的突变可导致耐药性问题。除核苷类似物外,靶向 RdRp 的 siRNA 分子对 SARS-CoV 也有抑制作用,然而由于 siRNA 递送困难,尚难进行临床应用^[79-80]。

解旋酶在冠状病毒复制周期中催化双核苷酸链解旋成单链。由于不同冠状病毒的解旋酶高度

同源,针对解旋酶的抑制剂可具有广谱活性。解旋酶抑制剂根据其作用机制差别可分为ATP酶活性和非ATP酶活性2种不同类型。其中靶向ATP酶发挥活性的某些抑制剂,如巴拿宁(bananins)和2,6-双芳甲氧-5-羟色酮(2,6-bis-arylmethoxy-5-hydroxychromones)可在体外抑制SARS-CoV复制^[81-82]。然而,这些化合物对细胞ATP酶或激酶的抑制所产生的毒性不利于临床应用。而非ATP酶活性的冠状病毒螺旋酶抑制剂如SSYA 10-001,可选择性抑制螺旋酶的解旋活性,从而抑制包括SARS-CoV和MERS-CoV等在内的多种冠状病毒^[83-84]。因此,针对SARS-CoV-2的解旋酶研发非ATP酶活性的抑制剂,有利于减小副作用,提高成药性。

2.1.3 病毒复制复合体靶点及其相关药物

病毒的复制复合体由多种非结构蛋白组成,由于病毒的核酸合成依赖于冠状病毒复制复合物。因此,以该复合体为靶点进行治疗可起到抗病毒作用(图2c)。针对病毒复制复合体进行抗病毒研发的研究较少。已发现针对该复合物的药物K22在体外实验中表现出对多种冠状病毒的抑制活性,而对组成复合体的非结构蛋白NSP6发生突变的HCoV 229E病毒则表现出耐药性^[18],提示该药物作用靶点与该蛋白有关。由于复制复合体组成复杂,针对哪些非结构蛋白设计药物可发挥抗病毒作用仍不明确,为相关药物的研发带来了一定困难。

2.1.4 靶向病毒核酸、核苷酸和脂质膜的药物

SARS-CoV-2病毒的生命周期中除了上述蛋白外,核酸及组成核酸的核苷酸以及其结构中的脂质膜均发挥了重要作用(图2d)。针对这些非蛋白类靶点进行药物研发也可具有抗病毒作用。

核酸和核苷酸作为SARS-CoV-2的遗传物质和结构单元,承载着病毒的基因组信息,并在蛋白合成中发挥作用。靶向核苷或核苷酸的药物通常具有广谱抗病毒活性。霉酚酸酯通过非竞争性可逆性抑制嘌呤核苷酸从头合成途径,使鸟嘌呤核苷酸耗竭,其作为一种对乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒和登革病毒等具有广泛抗病毒作用的药物,在体外模型中表现出对冠状病毒的抑制活性^[85]。然而在MERS-CoV感染的动物模型中却表现出加重感染的症状^[61],这可能与其强烈抑制T淋巴细胞和B淋巴细胞增殖作用相关。因此,单独使用这类药物在整体水平未必起到很好的治疗作用。

靶向核酸的药物主要是RNA酶。RNA酶作为催化特定生化反应的RNA分子,在体外筛选模型中

可以抑制冠状病毒RNA表达^[86]。然而由于这类分子会在体内迅速降解导致其难以应用于临床治疗。

SARS-CoV-2作为一种包膜病毒,脂质膜是形成病毒结构的重要组成部分,针对病毒脂质膜的靶向药物也可发挥抗病毒作用。LJ001和LJ103通过产生单态氧分子破坏病毒脂质膜,对多种冠状病毒有抑制作用,有潜力成为一类新的抗病毒药物^[87-90]。

2.2 宿主靶点及其相关药物

2.2.1 膜受体和蛋白酶靶点及其相关药物

SARS-CoV-2利用特定的宿主受体和蛋白酶进入细胞并复制(图2e)。靶向参与病毒入侵的膜受体和蛋白酶进行药物研发可抑制冠状病毒的感染。

病毒利用的宿主受体可通过特异性抗体、肽或功能性抑制剂进行靶向干预。DPP4是MERS-CoV入侵依赖的膜受体,DPP4单抗可抑制MERS-CoV进入细胞^[91]。ACE2是SARS-CoV和SARS-CoV-2入侵依赖的膜受体,在SARS-CoV的治疗中,小分子进入抑制剂N-(2-氨基乙基)-1-氮杂环丙烷胺[N-(2-aminoethyl)-1-aziridineethanamine, NAAE]在体外实验中抑制ACE2介导的细胞融合^[92]。在SARS-CoV-2治疗的体外实验中,抗CD147人源化抗体美泊珠单抗(meplazumab)可抑制SARS-CoV-2进入宿主细胞^[13]。重组人可溶性ACE2在细胞模型中可以显著抑制SARS-CoV-2感染能力,在小鼠模型无效果,但对于工程化的人血管和肾器官,可抑制其感染,提示重组人可溶性ACE2可用于阻断SARS-CoV-2早期感染^[93]。然而针对这些受体的药物尚未在人体上证明有效,而应用这类药物时需要综合考虑这些靶点本身在人体的基本生理作用以及免疫方面的副作用。

冠状病毒通过2种不同途径,即胞内体途径和非胞内体途径进入宿主细胞^[3]。胞内体途径需要依赖宿主的蛋白酶如半胱氨酸蛋白酶,其抑制剂如K11777可以抑制冠状病毒的胞内体入侵^[94]。半胱氨酸蛋白酶抑制剂可对多种有包膜RNA病毒表现出抗病毒活性^[94-97]。而丝氨酸蛋白酶TMPRSS2介导冠状病毒非胞内体进入途径,其抑制剂卡莫司他(camostat)在体外实验中表现出对SARS-CoV, MERS-CoV和SARS-CoV-2的抑制活性,并提高SARS-CoV感染模型小鼠存活率^[16-17,94]。弗林蛋白酶在MERS-CoV进入中也起重要作用,阻断弗林蛋白酶可以在MERS-CoV的体外模型中抑制病毒进入和细胞融合^[98]。针对SARS-CoV-2胞内体途径进入细胞所依赖的蛋白酶进行药物干预,可取得一定的治疗效果,但由于病毒进入细胞途径多样,利

用的蛋白酶种类亦多样,因此,单独干预可能效果有限,临床应用时可考虑多药联用以增强药效。

靶向宿主内参与病毒入侵的膜受体和蛋白酶的藥物可抑制冠状病毒进入宿主细胞从而发挥抗病毒作用,但可能给宿主带来副作用,应考虑与不同机制的藥物联合使用。如使用不同藥物分别阻断病毒的胞内体途径或非胞内体途径,可能取得更优的效果。

2.2.2 细胞内吞作用靶点及其相关药物

在 SARS-CoV-2 的胞内体途径中,病毒通过细胞内吞作用进入细胞并释放病毒核酸,开始细胞内的生命周期。靶向这一途径也有利于冠状病毒的防治(图 2f)。抗疟疾藥物氯喹将质子隔离到溶酶体中以增加细胞内 pH 值,从而抑制内吞作用。它在体外对多种冠状病毒和其他 RNA 病毒具有广谱抗病毒活性^[59, 99-101]。体外细胞模型的受体可能会影响活性评价结果,在介导非胞内体途径的 TMPRSS2 阳性细胞上,氯喹和羟氯喹不能阻断 SARS-CoV-2 感染,这可能与其无法阻断非胞内体进入途径有关^[5]。氯喹和羟基氯喹用于 COVID-19 治疗的临床实验开展较早,影响较大^[102]。在中国开展的一项 30 例患者参与的前瞻性临床试验中,羟氯喹治疗组在体温变化,胸部 CT 改善等各方面均未表现出与对照组的显著差异^[103]。而一项纳入 1376 例患者的大样本观察性研究结果表明,相比未服用的患者,服用羟氯喹的患者插管或死亡的风险无显著降低(风险比 1.04, 95% 置信区间为 [0.82~1.32])^[104]。网格蛋白是另一个内吞作用靶点,氯丙嗪(chlorpromazine)作为一种已上市的精神类药物,可以抑制网格蛋白介导的内吞作用。该藥物在体外实验中表现出对冠状病毒的抑制活性^[59]。然而这些藥物在临床是否具有较好的抗病毒效果仍然需要进一步实验验证,同时应注意相关藥物使用带来的副作用。

2.2.3 其他参与病毒复制信号通路的靶点及其相关药物

SARS-CoV-2 在进入细胞进行病毒复制的过程中也利用其他细胞信号通路,这些通路也是潜在的治疗靶点(图 2g)。亲环素(cyclophilin)与 SARS 冠状病毒非结构蛋白 1(nonstructural protein 1, NSP1)相互作用,调节钙调神经磷酸酶途径,参与病毒复制,并在 T 细胞介导的适应性免疫应答中起重要作用^[35]。钙调神经磷酸酶抑制剂环孢霉素能够在体外广泛抑制冠状病毒感染^[35, 105-106]。而环孢霉素对免疫系统的抑制作用限制了它的临床应

用。非免疫抑制的钙调神经磷酸酶抑制剂,如阿拉泊韦(alisporivir)表现出对冠状病毒 NL63 的抑制活性^[107]。调节其他细胞信号通路的藥物,如丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)等相关通路的抑制剂,也发现具有抗冠状病毒活性^[108-109]。将这些宿主靶向的抗病毒藥物用于治疗冠状病毒感染时应充分考虑其副作用。

2.2.4 免疫调节靶点及其相关药物

除以上 SARS-CoV-2 生命周期内会利用的宿主蛋白外,调节宿主的免疫功能也有助于感染防治(图 2h)。宿主应对病毒的免疫反应可分为非特异免疫和特异免疫。

非特异免疫是宿主应对感染的重要屏障。其中宿主固有的干扰素应答对包括 SARS-CoV-2 在内的多种冠状病毒感染至关重要^[110]。针对非特异免疫的治疗藥物主要包括干扰素和天然免疫调节剂,它们与有效抗病毒藥物的联合应用具有协同作用。

尽管冠状病毒能够削弱或逃避干扰素作用。但体外实验中干扰素治疗仍然有效^[111-112]。重组 α 干扰素和 β 干扰素在体外和动物模型中均可抑制 SARS-CoV 和 MERS-CoV 的复制^[2, 31, 61, 84, 113-117]。干扰素 α 或干扰素 β 与其他抗病毒藥物的各种组合已被用于治疗 SARS 或 MERS 患者。

天然免疫调节剂可诱导干扰素产生,从而发挥防治效果。聚肌苷酸-聚胞苷酸作为人工合成的核苷酸二聚物,能强烈诱导 I 型干扰素产生。在利用腺病毒载体表达人源 DPP4 基因的 MERS-CoV 感染的 BALB/c 小鼠中, MERS-CoV 的病毒载量显著降低^[25]。该藥物在针对恶性胶质瘤的 II 期临床试验中具有良好的耐受性^[118-119]。猕猴 θ 型防御素-1 参与宿主病毒感染相关的免疫调控作用,在动物模型中具有抗 SARS-CoV 作用^[120]。

特异免疫对于 COVID-19 患者治疗也非常重要,参与特异免疫的白细胞介素 1 和相关促炎通路对感染者的预后有一定的提示作用,是治疗 SARS-CoV-2 的一个候选靶点^[121]。白细胞介素 6 作为在细胞因子释放综合征中重要的靶点,其抗体托珠单抗(tocilizumab)已在临床用于 COVID-19 重症患者的救治^[122-123]。已发表的临床试验结果中托珠单抗和标准治疗患者的临床改善和死亡率无统计学差异,其有效性和安全性仍有待进一步实验验证^[124]。

在应用其他抗病毒藥物进行 COVID-19 治疗时,应考虑联合使用免疫干预手段,以起到协同增

效作用。对于重症患者,应综合考虑免疫反应带来的优势与劣势,重点关注过强的免疫反应带来的严重后果。

3 对 SARS-CoV-2 靶点和药物研究的思考

长期以来,冠状病毒作为一种引起人类轻度感染的病毒并未受到医学研究机构的较多关注。自 2002 年末 SARS 暴发以来,冠状病毒开始受到全世界的重视^[6]。由于尚缺乏针对冠状病毒感染的有效药物,充分认识病毒的感染和致病机制将为研发冠状病毒治疗药物提供帮助。

抗病毒靶点包括病毒靶点和与病毒密切相关的宿主靶点。虽然抗冠状病毒候选靶点很多,但目前关注和研究所聚焦的病毒靶点主要是冠状病毒 S 蛋白及 RdRp。S 蛋白作为病毒与宿主细胞结合的关键蛋白,在病毒入侵宿主细胞过程中具有重要作用,是一个非常被看好的抗病毒靶点,但是尚无针对该靶点的特效药问世,仍需更多实验和临床疗效评价结果证明。在抗流感病毒药物研发过程中,靶向流感病毒与宿主细胞结合的血凝素的药物研发未能成功,但靶向病毒神经氨酸酶和 M2 离子通道的抑制剂具有良好的抗病毒效果,针对这 2 个靶点的药物均已成功上市,如神经氨酸酶抑制剂磷酸奥司他韦是当前抗流感病毒的特效药物。因此,在抗 SARS-CoV-2 药物研发中还应考虑 S 蛋白以外的靶点,如 E 蛋白和 M 蛋白等。另一类受关注的靶点 RdRp 在 SARS-CoV-2 复制过程中起关键作用,该靶点受关注的主要原因是现有 RdRp 抑制剂具有广谱抗病毒作用,在体外抗病毒实验及临床试验中表现出了良好的效果,如法匹拉韦和瑞德西韦^[71,75]。因此,已经存在的靶向其他病毒 RdRp 抗病毒药物也可能对 SARS-CoV-2 有效。

关于宿主靶向的药物研究相对较少。在抗 SARS-CoV-2 研究中发现,氯喹和羟氯喹虽然能够抑制细胞内吞作用,但由于 SARS-CoV-2 可以由 TMPRSS2 介导非胞内体途径进入细胞,因此氯喹或羟氯喹无法完全阻断 SARS-CoV-2 进入细胞^[5]。为了获得较好的细胞保护作用,氯喹或羟氯喹与 TMPRSS2 抑制剂联用或许是一个更好的方案。

研究发现,COVID-19 重症患者死亡的重要原因是 SARS-CoV-2 感染引发了细胞因子风暴。虽然靶向白细胞介素 6 的抗体药物托西珠单抗用于 COVID-19 重症患者治疗的 SARS-CoV-2 临床试验失败,但是对于感染者免疫系统反应的恰当干预仍

然可能成为治疗 COVID-19 的重要手段。不同人群感染后发展为重症的概率差异很大,如肥胖者发展为重症的概率是正常体质量患者的 3.4 倍以上^[125],儿童感染后相比于成年人更少发展为重症^[126],提示患者本身在代谢与免疫方面的差异可能直接导致了不同的感染结局。运用传统中医疗法的江夏方舱医院收治的 564 例 COVID-19 患者无 1 例转为重症,或许与传统中医对代谢和免疫系统的调节作用相关^[127]。因此,深入研究 SARS-CoV-2 引发的免疫反应机制及调控免疫应答反应的关键环节,寻找有效的干预靶点,开发新型免疫疗法,对于有效发挥机体免疫系统抗病毒的能力、提高 COVID-19 的治疗效果具有重要意义。

新发病原体往往存在基因关键位点的突变,所储备的抗病毒药物,尤其是靶向病毒的药物,仍然难以直接用于新病毒的防治。因此,为了增强对新型病毒的应对能力,一方面应当加强适用范围广的抗病毒药物即广谱抗病毒药物的研发,在突发疫情到来时可快速作为候选药物进行验证筛选。发现和确证有效的广谱抗病毒靶点是研发广谱抗病毒药物的关键和难点,需要进一步加强病毒学、免疫学、生物信息学、药理学和药物化学等多学科与大数据、人工智能等新技术的密切合作,实施协同攻关,可望在广谱抗病毒药物研发方面取得新的突破。此外,充分发挥我国中医药的特色和优势,认真总结和分析防治 COVID-19 等传染病的经验,深入研究中药治疗传染病的理念和作用机制,可望研发出具有独特临床价值的防治传染病的中药新药。另一方面,进一步加强药物重定位新技术的研究,不断提高药物重定位的准确性和效率,对于从已有药物或化合物中寻找有效的抗病毒药物具有重要意义。尤其是在应急情况下,药物重定位技术是一条快速发现有效抗病毒药物的重要途径。因此,应当建立完善的应急药物研发技术流程,在获得病毒结构、序列、感染受体及致病特征等关键信息的第一时间,能够迅速运用药物重定位技术从已上市药物或已有化合物中寻找有效的抗病毒候选药物。此外,应大力发展基于计算分析及高通量筛选等新技术、新方法,不断提高抗病毒药物发现的准确性和效率。

参考文献:

- [1] ZHOU P, YANG XL, WANG XG, HU B, ZHANG L, ZHANG W, *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of

- probable bat origin [J]. *Nature*, 2020, **579** (7798):270-273.
- [2] CHENG VC, LAU SK, WOO PC, YUEN KY. Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2007, **20**(4):660-694.
- [3] CHAN JF, LAU SK, TO KK, CHENG VC, WOO PC, YUEN KY. Middle east respiratory syndrome coronavirus: another zoonotic beta-coronavirus causing SARS-like disease[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2015, **28**(2):465-522.
- [4] WANG M, CAO R, ZHANG L, YANG X, LIU J, XU M, *et al*. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro*[J]. *Cell Res*, 2020, **30** (3):269-271.
- [5] HOFFMANN M, MOSBAUER K, HOFMANN-WINKLER H, KAUL A, KLEINE- WEBER H, KRUGER N, *et al*. Chloroquine does not inhibit infection of human lung cells with SARS-CoV-2 [J]. *Nature*, 2020, **585**(7826):588-590.
- [6] ZUMLA A, CHAN JF, AZHAR EI, HUI DS, YUEN KY. Coronaviruses- drug discovery and therapeutic options [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, **15**(5):327-347.
- [7] LU L, LIU Q, ZHU Y, CHAN KH, QIN L, LI Y, *et al*. Structure-based discovery of Middle East respiratory syndrome coronavirus fusion inhibitor [J/OL]. *Nat Commun*, 2014, **5**:3067 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1038/ncomms4067>.
- [8] VAN BOHEEMEN S, DE GRAAF M, LAUBER C, BESTEBROER TM, RAJ VS, ZAKI AM, *et al*. Genomic characterization of a newly discovered coronavirus associated with acute respiratory distress syndrome in humans[J/OL]. *mBio*, 2012, **3**(6): e00473-12 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1128/mBio.00473-12>.
- [9] WRAPP D, WANG N, CORBETT KS, GOLDSMITH JA, HSIEH CL, ABIONA O, *et al*. Cryo- EM structure of the 2019- nCoV spike in the prefusion conformation[J]. *Science*, 2020, **367**(6483):1260-1263.
- [10] LI W, MOORE MJ, VASILIEVA N, SUI J, WONG SK, BERNE MA, *et al*. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus [J]. *Nature*, 2003, **426** (6965):450-454.
- [11] RAJ VS, MOU H, SMITS SL, DEKKERS DH, MULLER MA, DIJKMAN R, *et al*. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC[J]. *Nature*, 2013, **495** (7440):251-254.
- [12] YEAGER CL, ASHMUN RA, WILLIAMS RK, CARDELLICHO CB, SHAPIRO LH, LOOK AT, *et al*. Human aminopeptidase N is a receptor for human coronavirus 229E[J]. *Nature*, 1992, **357** (6377):420-422.
- [13] WANG K, CHEN W, ZHANG Z, DENG Y, LIAN JQ, DU P, *et al*. CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells [J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, **5** (1): 283 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00426-x>.
- [14] GIERER S, BERTRAM S, KAUP F, WRENSCH F, HEURICH A, KRÄMER-KÜHL A, *et al*. The spike protein of the emerging betacoronavirus EMC uses a novel coronavirus receptor for entry, can be activated by TMPRSS2, and is targeted by neutralizing antibodies[J]. *J Virol*, 2013, **87**(10):5502-5511.
- [15] QIAN Z, DOMINGUEZ SR, HOLMES KV. Role of the spike glycoprotein of human Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) in virus entry and syncytia formation [J/OL]. *PLoS One*, 2013, **8**(10): e76469 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076469>.
- [16] SHIRATO K, KAWASE M, MATSUYAMA S. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection mediated by the transmembrane serine protease TMPRSS2[J]. *J Virol*, 2013, **87**(23):12552-12561.
- [17] HOFFMANN M, KLEINE-WEBER H, SCHROEDER S, KRÜGER N, HERRLER T, ERICHSEN S, *et al*. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor [J/OL]. *Cell*, 2020, **181** (2): 271-280.e8 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.
- [18] LUNDIN A, DIJKMAN R, BERGSTROM T, KANN N, ADAMIAK B, HANNOUN C, *et al*. Targeting membrane-bound viral RNA synthesis reveals potent inhibition of diverse coronaviruses including the Middle East respiratory syndrome virus [J/OL]. *PLoS Pathog*, 2014, **10**(5): e100-4166 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004166>.
- [19] KNOOPS K, KIKKERT M, VAN DEN WORM SH, ZEVENHOVEN-DOBBE JC, VAN DER MEER Y, KOSTER AJ, *et al*. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of

- modified endoplasmic reticulum [J/OL]. *PLoS Biol*, 2008, **6**(9): e226 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060226>.
- [20] LAN J, GE J, YU J, SHAN S, ZHOU H, FAN S, *et al*. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor [J]. *Nature*, 2020, **581**(7807):215-220.
- [21] XU X, CHEN P, WANG J, FENG J, ZHOU H, LI X, *et al*. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission [J]. *Sci China Life Sci*, 2020, **63**(3):457-460.
- [22] YAN R, ZHANG Y, LI Y, XIA L, GUO Y, ZHOU Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2 [J]. *Science*, 2020, **367**(6485):1444-1448.
- [23] CHENG Y, WONG R, SOO YO, WONG WS, LEE CK, NG MH, *et al*. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005, **24**(1):44-46.
- [24] SOO Y, CHENG Y, WONG R, HUI D, LEE C, TSANG K, *et al*. Retrospective comparison of convalescent plasma with continuing high-dose methylprednisolone treatment in SARS patients [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2004, **10**(7):676-678.
- [25] ZHAO J, LI K, WOHLFORD-LENANE C, AGNIHOTHRAM SS, FETT C, ZHAO J, *et al*. Rapid generation of a mouse model for Middle East respiratory syndrome [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(13):4970-4975.
- [26] LV Z, DENG YQ, YE Q, CAO L, SUN CY, FAN C, *et al*. Structural basis for neutralization of SARS-CoV-2 and SARS-CoV by a potent therapeutic antibody [J]. *Science*, 2020, **369**(6510):1505-1509.
- [27] ZOST SJ, GILCHUK P, CASE JB, BINSSTEIN E, CHEN RE, NKOLOLA JP, *et al*. Potently neutralizing and protective human antibodies against SARS-CoV-2 [J]. *Nature*, 2020, **584**(7821):443-449.
- [28] JIANG L, WANG N, ZUO T, SHI X, POON KM, WU Y, *et al*. Potent neutralization of MERS-CoV by human neutralizing monoclonal antibodies to the viral spike glycoprotein [J]. *Sci Transl Med*, 2014, **6**(234):234-259.
- [29] SAINZ JR B, MOSSEL EC, GALLAHER WR, WIMLEY WC, PETERS C, WILSON RB, *et al*. Inhibition of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) infectivity by peptides analogous to the viral spike protein [J]. *Virus Res*, 2006, **120**(1-2):146-155.
- [30] ZHENG BJ, GUAN Y, HEZ M, SUN H, DU L, ZHENG Y, *et al*. Synthetic peptides outside the spike protein heptad repeat regions as potent inhibitors of SARS-associated coronavirus [J]. *Antivir Ther*, 2005, **10**(3):393-403.
- [31] CHANNAPPANAVAR R, LU L, XIA S, DU L, MEYERHOLZ DK, PERLMAN S, *et al*. Protective effect of intranasal regimens containing peptidic middle east respiratory syndrome coronavirus fusion inhibitor against MERS-CoV infection [J]. *J Infect Dis*, 2015, **212**(12):1894-1903.
- [32] XIA S, LIU M, WANG C, XU W, LAN Q, FENG S, *et al*. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion [J]. *Cell Res*, 2020, **30**(4):343-355.
- [33] LIU IJ, KAO CL, HSIEH SC, WEY MT, KAN LS, WANG WK. Identification of a minimal peptide derived from heptad repeat (HR) 2 of spike protein of SARS-CoV and combination of HR1-derived peptides as fusion inhibitors [J]. *Antiviral Res*, 2009, **81**(1):82-87.
- [34] O'KEEFE BR, GIOMARELLI B, BARNARD DL, SHENOY SR, CHAN PK, MCMAHON JB, *et al*. Broad-spectrum *in vitro* activity and *in vivo* efficacy of the antiviral protein griffithsin against emerging viruses of the family Coronaviridae [J]. *J Virol*, 2010, **84**(5):2511-2521.
- [35] TANAKA Y, SATO Y, SASAKI T. Suppression of coronavirus replication by cyclophilin inhibitors [J]. *Viruses*, 2013, **5**(5):1250-1260.
- [36] KHAMITOV RA, LOGINOVA S, SHCHUKINA VN, BORISEVICH SV, MAKSIMOV VA, SHUSTER AM. Antiviral activity of arbidol and its derivatives against the pathogen of severe acute respiratory syndrome in the cell cultures [J]. *Vopr Virusol*, 2008, **53**(4):9-13.
- [37] WANG Z, YANG B, LI Q, WEN L, ZHANG R. Clinical features of 69 cases with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, **71**(15):769-777.
- [38] LI Y, XIE Z, LIN W, CAI W, WEN C, GUAN Y, *et al*. Efficacy and safety of lopinavir/ritonavir or arbidol in adult patients with mild/moderate COVID-19: an exploratory randomized controlled trial [J/OL]. *Med*, 2020, **1**(1):105-113.e4 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2020.04.001>.

- [39] SIU KL, KOK KH, NG MH, POON VK, YUEN KY, ZHENG BJ, *et al*. Severe acute respiratory syndrome coronavirus M protein inhibits type I interferon production by impeding the formation of TRAF3. TBK1/IKKepsilon complex[J]. *J Biol Chem*, 2009, **284**(24):16202-16209.
- [40] CUI L, WANG H, JI Y, YANG J, XU S, HUANG X, *et al*. The nucleocapsid protein of coronaviruses acts as a viral suppressor of RNA silencing in mammalian cells [J]. *J Virol*, 2015, **89** (17) : 9029-9043.
- [41] HE ML, ZHENG BJ, CHEN Y, WONG KL, HUANG JD, LIN MC, *et al*. Development of interfering RNA agents to inhibit SARS-associated coronavirus infection and replication [J]. *Hong Kong Med J*, 2009, **15**(3 Suppl 4):28-31.
- [42] PERVUSHIN K, TAN E, PARTHASARATHY K, LIN X, JIANG FL, YU D, *et al*. Structure and inhibition of the SARS coronavirus envelope protein ion channel[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2009, **5**(7) : e1000511 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000511>.
- [43] WILSON L, GAGE P, EWART G. Hexamethylene amiloride blocks E protein ion channels and inhibits coronavirus replication[J]. *Virology*, 2006, **353**(2):294-306.
- [44] LIN SY, LIU CL, CHANG YM, ZHAO J, PERLMAN S, HOU MH. Structural basis for the identification of the N-terminal domain of coronavirus nucleocapsid protein as an antiviral target [J]. *J Med Chem*, 2014, **57**(6):2247-2257.
- [45] MIELECH AM, KILIANSKI A, BAEZ-SANTOS YM, MESECAR AD, BAKER SC. MERS-CoV papain-like protease has deISGylating and deubiquitinating activities[J]. *Virology*, 2014, **450**:64-70.
- [46] BARRETTO N, JUKNELIENE D, RATIA K, CHEN Z, MESECAR AD, BAKER SC. The papain-like protease of severe acute respiratory syndrome coronavirus has deubiquitinating activity [J]. *J Virol*, 2005, **79**(24):15189-15198.
- [47] MIELECH AM, CHEN Y, MESECAR AD, BAKER SC. Nidovirus papain-like proteases: multifunctional enzymes with protease, deubiquitinating and deISGylating activities [J]. *Virus Res*, 2014, **194**:184-190.
- [48] HILGENFELD R. From SARS to MERS: crystallographic studies on coronaviral proteases enable antiviral drug design[J]. *FEBS J*, 2014, **281**(18): 4085-4096.
- [49] B  EZ-SANTOS YM, JOHN SES, MESECAR AD. The SARS- coronavirus papain- like protease: structure, function and inhibition by designed antiviral compounds[J]. *Antiviral Res*, 2015, **115**:21-38.
- [50] BAEZ-SANTOS YM, BARRAZA SJ, WILSON MW, AGIUS MP, MIELECH AM, DAVIS NM, *et al*. X-Ray structural and biological evaluation of a series of potent and highly selective inhibitors of human coronavirus papain-like proteases [J]. *J Med Chem*, 2014, **57**(6):2393-2412.
- [51] RATIA K, PEGAN S, TAKAYAMA J, SLEEMAN K, COUGHLIN M, BALIJI S, *et al*. A noncovalent class of papain-like protease/deubiquitinase inhibitors blocks SARS virus replication [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(42):16119-16124.
- [52] LEE H, LEI H, SANTARSIERO BD, GATUZ JL, CAO S, RICE AJ, *et al*. Inhibitor recognition specificity of MERS- CoV papain- like protease may differ from that of SARS- CoV [J]. *ACS Chem Biol*, 2015, **10**(6):1456-1465.
- [53] CHAUDHURI R, TANG S, ZHAO G, LU H, CASE DA, JOHNSON ME. Comparison of SARS and NL63 papain-like protease binding sites and binding site dynamics: inhibitor design implications[J]. *J Mol Biol*, 2011, **414**(2):272-288.
- [54] ADEDEJI AO, SARAFIANOS SG. Antiviral drugs specific for coronaviruses in preclinical development[J]. *Curr Opin Virol*, 2014, **8**:45-53.
- [55] YANG H, XIE W, XUE X, YANG K, MA J, LIANG W, *et al*. Design of wide-spectrum inhibitors targeting coronavirus main proteases[J/OL]. *PLoS Biol*, 2005, **3** (10) : e324 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030324>.
- [56] REN Z, YAN L, ZHANG N, GUO Y, YANG C, LOU Z, *et al*. The newly emerged SARS- like coronavirus HCoV- EMC also has an "Achilles' heel": current effective inhibitor targeting a 3C-like protease[J]. *Protein Cell*, 2013, **4**(4):248-250.
- [57] QUE T, WONG V, YUEN K. Treatment of severe acute respiratory syndrome with lopinavir/ritonavir: a multicentre retrospective matched cohort study [J]. *Hong Kong Med J*, 2003, **9**(6):399-406.
- [58] CHU CM, CHENG VC, HUNG IF, WONG MM, CHAN KH, CHAN KS, *et al*. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings [J]. *Thorax*, 2004, **59** (3) : 252-256.
- [59] DE WILDE AH, JOCHMANS D, POSTHUMA CC, ZEVENHOVEN-DOBBE JC, VAN NIEUWKOOP S,

- BESTEBROER TM, *et al.* Screening of an FDA-approved compound library identifies four small-molecule inhibitors of Middle East respiratory syndrome coronavirus replication in cell culture [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, **58** (8) : 4875-4884.
- [60] CHEN F, CHAN KH, JIANG Y, KAO RY, LU HT, FAN KW, *et al.* *In vitro* susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds[J]. *J Clin Virol*, 2004, **31**(1):69-75.
- [61] CHAN JFW, YAO Y, YEUNG ML, DENG W, BAO L, JIA L, *et al.* Treatment with lopinavir/ritonavir or interferon- β 1b improves outcome of MERS-CoV infection in a nonhuman primate model of common marmoset [J]. *J Infect Dis*, 2015, **212**(12):1904-1913.
- [62] JIN Z, DU X, XU Y, DENG Y, LIU M, ZHAO Y, *et al.* Structure of mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors[J]. *Nature*, 2020, **582** (7811):289-293.
- [63] OLSCHLAGER S, NEYTS J, GUNTHER S. Depletion of GTP pool is not the predominant mechanism by which ribavirin exerts its antiviral effect on lassa virus[J]. *Antiviral Res*, 2011, **91**(2):89-93.
- [64] CHENG VC, CHAN JF, TO KK, YUEN KY. Clinical management and infection control of SARS: lessons learned[J]. *Antiviral Res*, 2013, **100**(2):407-419.
- [65] SO LK, LAU AC, YAM LY, CHEUNG TM, POON E, YUNG RW, *et al.* Development of a standard treatment protocol for severe acute respiratory syndrome [J]. *Lancet*, 2003, **361** (9369) : 1615-1617.
- [66] OMRANI AS, SAAD MM, BAIG K, BAHLOUL A, ABDULMATIN M, ALAIDAROOS AY, *et al.* Ribavirin and interferon alfa-2a for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a retrospective Cohort study [J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, **14**(11):1090-1095.
- [67] AL-TAWFIQ JA, MOMATTIN H, DIB J, MEMISH ZA. 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.
- [68] WARREN TK, WELLS J, PANCHAL RG, STUTHMAN KS, GARZA NL, VAN TONGEREN SA, *et al.* Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430[J]. *Nature*, 2014, **508**(7496):402-405.
- [69] PETERS HL, JOCHMANS D, DE WILDE AH, POSTHUMA CC, SNIJDER EJ, NEYTS J, *et al.* Design, synthesis and evaluation of a series of acyclic fleximer nucleoside analogues with anti-coronavirus activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, **25**(15):2923-2926.
- [70] ZHAO X, ZHOU XB, ZHONG W, LI XZ. A new antiviral drug-favipiravir [J]. *Clin Med J* (临床药物治疗杂志), 2015, **13**(4):16-20.
- [71] CAI Q, YANG M, LIU D, CHEN J, SHU D, XIA J, *et al.* Experimental treatment with favipiravir for COVID-19: an open-label control study[J]. *Engineering*, 2020, **6**(10):1192-1198.
- [72] WARREN TK, JORDAN R, LO MK, RAY AS, MACKMAN RL, SOLOVEVA V, *et al.* Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys [J]. *Nature*, 2016, **531**(7594):381-385.
- [73] HOLSHUE ML, DEBOLT C, LINDQUIST S, LOFY KH, WIESMAN J, BRUCE H, *et al.* First case of 2019 novel coronavirus in the United States[J]. *N Engl J Med*, 2020, **382**(10):929-936.
- [74] GAO Y, YAN L, HUANG Y, LIU F, ZHAO Y, CAO L, *et al.* Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus [J]. *Science*, 2020, **368**(6492):779-782.
- [75] GREIN J, OHMAGARI N, SHIN D, DIAZ G, ASPERGES E, CASTAGNA A, *et al.* Compassionate use of remdesivir for patients with severe COVID-19 [J]. *N Engl J Med*, 2020, **382**(24) : 2327-2336.
- [76] WANG Y, ZHANG D, DU G, DU R, ZHAO J, JIN Y, *et al.* Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial [J]. *Lancet*, 2020, **395**(10236):1569-1578.
- [77] MCMAHON JH, UDY A, PELEG AY. Remdesivir for the treatment of COVID-19 - preliminary report [J]. *N Engl J Med*, 2020, **383**(10):992-993.
- [78] SHEAHAN TP, SIMS AC, ZHOU S, GRAHAM RL, PRUIJSSERS AJ, AGOSTINI ML, *et al.* An orally bioavailable broad-spectrum antiviral inhibits SARS-CoV-2 in human airway epithelial cell cultures and multiple coronaviruses in mice [J/OL]. *Sci Transl Med*, 2020, **12**(541): eabb5883 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abb5883>.
- [79] LU A, ZHANG H, ZHANG X, WANG H, HU Q, SHEN L, *et al.* Attenuation of SARS coronavirus by a short hairpin RNA expression plasmid targeting RNA-dependent RNA polymerase [J]. *Virology*,

- 2004, **324**(1):84-89.
- [80] WANG Z, REN L, ZHAO X, HUNG T, MENG A, WANG J, *et al.* Inhibition of severe acute respiratory syndrome virus replication by small interfering RNAs in mammalian cells [J]. *J Virol*, 2004, **78**(14):7523-7527.
- [81] TANNER JA, ZHENG BJ, ZHOU J, WATT RM, JIANG JQ, WONG KL, *et al.* The adamantane-derived bananins are potent inhibitors of the helicase activities and replication of SARS coronavirus [J]. *Chem Biol*, 2005, **12**(3):303-311.
- [82] KIM MK, YU MS, PARK HR, KIM KB, LEE C, CHO SY, *et al.* 2,6-Bis-arylmethoxy-5-hydroxychromones with antiviral activity against both hepatitis C virus (HCV) and SARS-associated coronavirus (SCV) [J]. *Eur J Med Chem*, 2011, **46**(11):5698-5704.
- [83] ADEDEJI AO, SINGH K, CALCATERRA NE, DEDIEGO ML, ENJUANES L, WEISS S, *et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus replication inhibitor that interferes with the nucleic acid unwinding of the viral helicase [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, **56**(9):4718-4728.
- [84] ADEDEJI AO, SINGH K, KASSIM A, COLEMAN CM, ELLIOTT R, WEISS SR, *et al.* Evaluation of SSYA10-001 as a replication inhibitor of severe acute respiratory syndrome, mouse hepatitis, and Middle East respiratory syndrome coronaviruses [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, **58**(8):4894-4898.
- [85] CHAN JF, CHAN KH, KAO RY, TO KK, ZHENG BJ, LI CP, *et al.* Broad-spectrum antivirals for the emerging Middle East respiratory syndrome coronavirus [J]. *J Infect*, 2013, **67**(6):606-616.
- [86] FUKUSHIMA A, FUKUDA N, LAI Y, UENO T, MORIYAMA M, TAGUCHI F, *et al.* Development of a chimeric DNA-RNA hammerhead ribozyme targeting SARS virus [J]. *Intervirology*, 2009, **52**(2):92-99.
- [87] WOLF MC, FREIBERG AN, ZHANG T, AKYOL-ATAMAN Z, GROCK A, HONG PW, *et al.* A broad-spectrum antiviral targeting entry of enveloped viruses [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(7):3157-3162.
- [88] VIGANT F, LEE J, HOLLMANN A, TANNER LB, AKYOL ATAMAN Z, YUN T, *et al.* A mechanistic paradigm for broad-spectrum antivirals that target virus-cell fusion [J/OL]. *PLoS Pathog*, 2013, **9**(4): e1003297 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003297>.
- [89] HOLLMANN A, CASTANHO MA, LEE B, SANTOS NC. Singlet oxygen effects on lipid membranes: Implications for the mechanism of action of broad-spectrum viral fusion inhibitors [J]. *Biochem J*, 2014, **459**(1):161-170.
- [90] HOLLMANN A, GONCALVES S, AUGUSTO MT, CASTANHO MA, LEE B, SANTOS NC. Effects of singlet oxygen generated by a broad-spectrum viral fusion inhibitor on membrane nanoarchitecture [J]. *Nanomedicine*, 2015, **11**(5):1163-1167.
- [91] OHNUMA K, HAAGMANS BL, HATANO R, RAJ VS, MOU H, IWATA S, *et al.* Inhibition of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection by anti-CD26 monoclonal antibody [J]. *J Virol*, 2013, **87**(24):13892-13899.
- [92] HUENTELMAN MJ, ZUBCEVIC J, HERNANDEZ PRADA JA, XIAO X, DIMITROV DS, RAIZADA MK, *et al.* Structure-based discovery of a novel angiotensin-converting enzyme 2 inhibitor [J]. *Hypertension*, 2004, **44**(6):903-906.
- [93] MONTEIL V, KWON H, PRADO P, HAGELKRÜYS A, WIMMER RA, STAHL M, *et al.* Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2 [J]. *Cell*, 2020, **181**(4):905-913.
- [94] ZHOU Y, VEDANTHAM P, LU K, AGUDELO J, CARRION R, JR, NUNNELEY JW, *et al.* Protease inhibitors targeting coronavirus and filovirus entry [J]. *Antiviral Res*, 2015, **116**:76-84.
- [95] CHEN YT, BRINEN LS, KERR ID, HANSELL E, DOYLE PS, MCKERROW JH, *et al.* *In vitro* and *in vivo* studies of the trypanocidal properties of WRR-483 against *Trypanosoma cruzi* [J/OL]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2010, **4**(9): e825 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000825>.
- [96] NDAO M, NATH-CHOWDHURY M, SAJID M, MARCUS V, MASHIYAMA ST, SAKANARI J, *et al.* A cysteine protease inhibitor rescues mice from a lethal *Cryptosporidium parvum* infection [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, **57**(12):6063-6073.
- [97] VERMEIRE JJ, LANTZ LD, CAFFREY CR. Cure of hookworm infection with a cysteine protease inhibitor [J/OL]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2012, **6**(7): e1680 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001680>.
- [98] MILLET JK, WHITTAKER GR. Host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus after

- two-step, furin-mediated activation of the spike protein[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111** (42):15214-15219.
- [99] SAVARINO A, BOELAERT JR, CASSONE A, MAJORI G, CAUDA R. Effects of chloroquine on viral infections: an old drug against today's diseases? [J]. *Lancet Infect Dis*, 2003, **3**(11):722-727.
- [100] KEYAERTS E, VIJGEN L, MAES P, NEYTS J, VAN RANST M. *In vitro* inhibition of severe acute respiratory syndrome coronavirus by chloroquine [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **323** (1):264-268.
- [101] VINCENT MJ, BERGERON E, BENJANNET S, ERICKSON BR, ROLLIN PE, KSIAZEK TG, *et al*. Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread[J/OL]. *Virology*, 2005, **2**:69 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-2-69>.
- [102] ROSA SGV, SANTOS WC. Clinical trials on drug repositioning for COVID-19 treatment[J/OL]. *Rev Panam Salud Publica*, 2020, **44**: e40 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.40>.
- [103] CHEN J, LIU D, LIU L, LIU P, XU Q, XIA L, *et al*. A pilot study of hydroxychloroquine in treatment of patients with moderate COVID-19[J]. *J Zhejiang Univ (Med Sci)* [浙江大学学报(医学版)], 2020, **49**(2):215-219.
- [104] GELERIS J, SUN Y, PLATT J, ZUCKER J, BALDWIN M, HRIPCSAK G, *et al*. Observational study of hydroxychloroquine in hospitalized patients with COVID-19 [J]. *N Engl J Med*, 2020, **382** (25):2411-2418.
- [105] PFEFFERLE S, SCHÖPF J, KÖGL M, FRIEDEL CC, MÜLLER MA, CARBAJO-LOZOYA J, *et al*. The SARS-coronavirus-host interactome: identification of cyclophilins as target for pan-coronavirus inhibitors[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2011, **7**(10): e1002331 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002331>.
- [106] DE WILDE AH, RAJ VS, OUDSHOORN D, BESTEBROER TM, VAN NIEUWKOOP S, LIMPENS R, *et al*. MERS-coronavirus replication induces severe *in vitro* cytopathology and is strongly inhibited by cyclosporin A or interferon-alpha treatment[J]. *J Gen Virol*, 2013, **94**(Pt 8): 1749-1760.
- [107] CARBAJO-LOZOYA J, MA-LAUER Y, MALESEVIC M, THEUERKORN M, KAHLERT V, PRELL E, *et al*. Human coronavirus NL63 replication is cyclophilin A-dependent and inhibited by non-immunosuppressive cyclosporine A-derivatives including alisporivir[J]. *Virus Res*, 2014, **184**:44-53.
- [108] DYALL J, COLEMAN CM, HART BJ, VENKATARAMAN T, HOLBROOK MR, KINDRACHUK J, *et al*. Repurposing of clinically developed drugs for treatment of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, **58**(8):4885-4893.
- [109] KINDRACHUK J, ORK B, HART BJ, MAZUR S, HOLBROOK MR, FRIEMAN MB, *et al*. Antiviral potential of ERK/MAPK and PI3K/Akt/mTOR signaling modulation for Middle East respiratory syndrome coronavirus infection as identified by temporal kinome analysis [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, **59**(2):1088-1099.
- [110] MENACHERY VD, EISFELD AJ, SCHAFER A, JOSSET L, SIMS AC, PROLL S, *et al*. Pathogenic influenza viruses and coronaviruses utilize similar and contrasting approaches to control interferon-stimulated gene responses[J/OL]. *mBio*, 2014, **5**(3): e01174-01114 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1128/mBio.01174-14>.
- [111] LAU SKP, LAU CCY, CHAN KH, LI CPY, CHEN H, JIN DY, *et al*. Delayed induction of proinflammatory cytokines and suppression of innate antiviral response by the novel Middle East respiratory syndrome coronavirus: Implications for pathogenesis and treatment[J]. *J Gen Virol*, 2013, **94**(Pt 12):2679-2690.
- [112] JOSSET L, MENACHERY VD, GRALINSKI LE, AGNIHOTHARAM S, SOVA P, CARTER VS, *et al*. Cell host response to infection with novel human coronavirus EMC predicts potential antivirals and important differences with SARS coronavirus[J/OL]. *mBio*, 2013, **4**(3): e00165-00113 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1128/mBio.00165-13>.
- [113] CINATL J, MORGENSTERN B, BAUER G, CHANDRA P, RABENAU H, DOERR HW. Treatment of SARS with human interferons[J]. *Lancet*, 2003, **362**(9380):293-294.
- [114] FALZARANO D, DE WIT E, MARTELLARO C, CALLISON J, MUNSTER VJ, FELDMANN H. Inhibition of novel beta coronavirus replication by a combination of interferon-alpha2b and ribavirin[J/OL]. *Sci Rep*, 2013, **3**: 1686 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1038/srep01686>.
- [115] FALZARANO D, DE WIT E, RASMUSSEN AL, FELDMANN F, OKUMURA A, SCOTT DP, *et al*.

- Treatment with interferon- α 2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV-infected rhesus macaques [J]. *Nat Med*, 2013, **19**(10):1313-1317.
- [116] HAAGMANS BL, KUIKEN T, MARTINA BE, FOUCHIER RA, RIMMELZWAAN GF, VAN AMERONGEN G, *et al*. Pegylated interferon-alpha protects type 1 pneumocytes against SARS coronavirus infection in macaques [J]. *Nat Med*, 2004, **10**(3):290-293.
- [117] HART BJ, DYALL J, POSTNIKOVA E, ZHOU H, KINDRACHUK J, JOHNSON RF, *et al*. Interferon- β and mycophenolic acid are potent inhibitors of Middle East respiratory syndrome coronavirus in cell-based assays[J/OL]. *J Gen Virol*, 2014, **95** (Pt 3):571 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1099/vir.0.061911-0>.
- [118] ROSENFELD MR, CHAMBERLAIN MC, GROSSMAN SA, PEEREBOOM DM, LESSER GJ, BATCHELOR TT, *et al*. A multi-institution phase II study of poly-ICLC and radiotherapy with concurrent and adjuvant temozolomide in adults with newly diagnosed glioblastoma[J]. *Neurol Oncol*, 2010, **12**(10):1071-1077.
- [119] OKADA H, KALINSKI P, UEDA R, HOJI A, KOHANBASH G, DONEGAN TE, *et al*. Induction of CD8⁺ T-cell responses against novel glioma-associated antigen peptides and clinical activity by vaccinations with alpha-type 1 polarized dendritic cells and polyinosinic-polycytidylic acid stabilized by lysine and carboxymethylcellulose in patients with recurrent malignant glioma[J]. *J Clin Oncol*, 2011, **29**(3):330-336.
- [120] WOHLFORD-LENANE CL, MEYERHOLZ DK, PERLMAN S, ZHOU H, TRAN D, SELSTED ME, *et al*. Rhesus theta-defensin prevents death in a mouse model of severe acute respiratory syndrome coronavirus pulmonary disease [J]. *J Virol*, 2009, **83**(21):11385-11390.
- [121] CONTI P, GALLENGA CE, TETE G, CARAFFA A, RONCONI G, YOUNES A, *et al*. How to reduce the likelihood of coronavirus-19 (CoV-19 or SARS-CoV-2) infection and lung inflammation mediated by IL-1[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2020, **34**(2):333-338.
- [122] ZHANG C, WU Z, LI JW, ZHAO H, WANG GQ. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality[J/OL]. *Int J Antimicrob Agents*, 2020, **55**(5):105954 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105954>.
- [123] XU X, HAN M, LI T, SUN W, WANG D, FU B, *et al*. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, **117**(20):10970-10975.
- [124] CAMPOCHIARO C, DELLA-TORRE E, CAVALLI G, DE LUCA G, RIPA M, BOFFINI N, *et al*. Efficacy and safety of tocilizumab in severe COVID-19 patients: a single-centre retrospective cohort study[J]. *Eur J Intern Med*, 2020, **76**:43-49.
- [125] CAI Q, CHEN F, WANG T, LUO F, LIU X, WU Q, *et al*. Obesity and COVID-19 severity in a designated hospital in Shenzhen, China [J]. *Diabetes Care*, 2020, **43**(7):1392-1398.
- [126] EASTIN C, EASTIN T. Epidemiological characteristics of 2143 pediatric patients with 2019 coronavirus disease in China [J]. *Emerg Med J*, 2020, **58**(4):712-713.
- [127] SHI SF, LIU QQ. The value of traditional Chinese medicine in COVID-19 treatment was discussed from "Jiangxia Fang Cabin Traditional Chinese Medicine Model" [J]. *Jiangsu J Tradit Chin Med* (江苏中医药), 2020, **52**(4):11-14.
- [128] WISHART DS, FEUNANG YD, GUO AC, LO EJ, MARCU A, GRANT JR, *et al*. Drugbank 5.0: a major update to the drugbank database for 2018 [J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2018, **46** (D1):D1074-D1082 [2020-09-01]. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1037>.

Research progress in targets and drugs for novel coronavirus

HAN Lu, WANG Tong-xing, XIAO Zhi-yong, ZHOU Wen-xia, ZHANG Yong-xiang
(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, State Key Laboratory of Toxicology and Medical Countermeasures, Beijing 100850, China)

Abstract: The outbreak of coronavirus disease-19 (COVID-19) caused by novel coronavirus (severe

acute respiratory syndrome coronavirus-2, SARS-CoV-2) has posed a serious threat to public health. Virus particles of SARS-CoV-2 are composed of outer envelopes and inner nucleocapsids. The non-structural and structural proteins encoded by the genome play an important role in the whole life cycle of their adsorption, penetration, uncoating, synthesis of nucleic acids and proteins, assembly and liberation. Antiviral drugs can be developed to target the virus itself or key host molecules for virus infection. So far, antibody drugs targeting spike glycoprotein S and small molecule drugs targeting RNA polymerase have shown antiviral effects. They are currently more promising candidate drugs. However, their efficacy still needs to be proved by further clinical trials, and miracle antiviral drugs have not yet appeared. Considering the virus and host targets, the combination therapy of multi-targets and multi-drugs, may achieve better therapeutic effect. In this paper, the structure and life cycle of SARS-CoV-2, the research progress in potential targets and drugs were reviewed to provide useful information for the development of anti-SARS-CoV-2 drugs.

Key words: coronavirus; COVID-19; SARS-CoV-2; antiviral drugs

Corresponding author: ZHOU Wen-xia, E-mail: zhouwx@bmi.ac.cn

(收稿日期: 2020-09-10 接受日期: 2020-11-23)

(本文编辑: 齐春会)

《中国药理学与毒理学杂志》对图表的要求

1. 论文中的病理照片、电泳图及化学结构式图等要求以“插入”→“图片”方式插入 word 文档,不要使用复制粘贴。病理照片必须加标尺,并以箭头指示典型病变位置。除照片外,其他图尽量不用彩色。
2. 统计的数据图表(包括线图和柱图等)一般通过“插入”→“图表”方式插入 word 文档,双击该图即可直接进入此图的作图软件,看到作图数据。
3. 双栏图大小:宽与高的比为3:2,宽≤7.5 cm;通栏图大小为:宽≤15 cm;横、纵坐标字体为 Arial,字号为8或9磅。
4. 论著中的图表(包括图表题和图表注)全部使用英文,要求图表自明。图表注内容包括分组设计、药物浓度、给药顺序、作用时间、指标测试时间、各种缩写的解释说明、对观察内容必要的描述和统计方法等。
5. 线图图例依次使用 ○ ● △ ▲ □ ■ 等,柱图按组别顺序依次用空心、左斜线、右斜线和网格线填充。图例字体用 Arial,字号为6磅。
6. 论著中的数据统计图表,应该首先进行一级比较,如模型组与正常对照组比较,结果用“*”表示;各给药组与模型组比较,为二级比较,用“#”表示;待测药各组组间比较或者与阳性对照组比较,为三级比较,用“△”表示。统计学分析结果分 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 两个水平给出即可。
7. 综述中的图表全部使用中文。