新型冠状病毒治疗药物的研究现状及展望

张儒¹, 孙子茹¹, 刘胜男^{1,2*}, 高清志^{1*}

1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津市现代药物传递及功能高效化重点实验室, 天津 300072;

2. 天津大学分子+研究院, 天津 300072

* 联系人, E-mail: shengnan_liu@tju.edu.cn; qingzhi@tju.edu.cn

2021-09-13 收稿, 2021-11-12 修回, 2021-11-12 接受, 2021-11-15 网络版发表

国家自然科学基金(21772144)资助

摘要 新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19)因具有极强的传染力和无特效治疗药物, 导致其在全球大规模传播. 目前疫苗的接种和推广一定程度上缓解了COVID-19大流行, 但从临床治疗角度仍需要行之有效的治疗手段和抗病毒药物才能阻止这种新型病毒对人类健康造成的巨大威胁. 由于抗病毒新药的研制周期漫长, 其研发过程涉及靶点的选择、体外药效筛选、体内药理学及毒理学验证以及临床安全性与治疗效果的确证等不同阶段, 才能最终获得具有临床应用价值的治疗药物. 经过科研工作者的不懈努力, 针对新型冠状病毒SARS-CoV-2的特异性靶点而设计和筛选的少数小分子新型冠状病毒抑制剂药物, 目前已进入临床验证并取得了令人振奋的治疗效果. 本文综述了COVID-19暴发以来的抗病毒热点药物, 尤其是对SARS-CoV-2具有潜在治疗作用的代表性抗病毒化合物的药理学分类、作用靶点、药效机制以及相关的临床测试结果. 基于抗新型冠状病毒药物的研发现状进行了分析和总结, 明确了药物研发人员在新型冠状病毒肺炎疫情防控工作中肩负的责任和面临的挑战, 提出能有效抑制病毒感染的新药的研发方向.

关键词 新型冠状病毒, 抗病毒药物, 药物靶点, 分子机制, 新药研发

席卷全球的新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19, 简称新冠肺炎)由一种新型单链RNA冠状病毒引起, 国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)将该病毒命名为SARS-CoV-2. 受到感染的患者初始症状多为发热、乏力和干咳, 并逐渐出现呼吸困难等严重症状. 到目前为止, 全世界已经有210多个国家和地区通报被SARS-CoV-2感染的患者. 截至2021年8月累计报告全球确诊病例超过2亿例, 病死人数超过440万人. 随着疫苗的接种和推广, 病毒的传播和新感染患者的增加在一定程度上得到了控制, 但针对该病毒具有临床特效的防治药物尚未开发成功. 2020年10月, 由美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准使

用的瑞德西韦(Remdesivir, Gilead公司), 是目前唯一被正式批准的冠状病毒聚合酶抑制剂. 瑞德西韦的获批主要基于包括轻度至重度COVID-19住院患者的3项随机对照临床试验数据, 即瑞德西韦5 d治疗组患者与接受标准护理的受试者相比, 症状改善率明显提高. 但从患者康复率、重症患者病死率以及病毒清除率的角度, 瑞德西韦并未显示出理想的治疗效果^[1]. 除瑞德西韦以外, 目前尚未成功筛选和开发出能有效抑制SARS-CoV-2的临床抗病毒药物.

从临床病毒学角度, 能有效控制、预防和治疗SARS-CoV-2传播与感染的主要方法包括: 疫苗、单克隆抗体、干扰素治疗以及包括寡核苷酸和肽在内的小分子抗病毒药物等^[2]. 然而, 包括老药新用在内, 新治疗

引用格式: 张儒, 孙子茹, 刘胜男, 等. 新型冠状病毒治疗药物的研究现状及展望. 科学通报, 2022, 67: 933-947

Zhang R, Sun Z R, Liu S N, et al. Progress on COVID-19 chemotherapeutics (in Chinese). Chin Sci Bull, 2022, 67: 933-947, doi: 10.1360/TB-2021-0953

方法的筛选和药物发现及临床开发一般最少需要数年的时间来完成。

鉴于目前COVID-19疫情的紧迫性,本文针对SARS-CoV-2不同靶点的活性分子及其作用机制与相关临床药效信息进行分析和总结,以期对设计和研发抗SARS-CoV-2新药提供策略和思路。

1 SARS-CoV-2的特征

SARS-CoV-2属套式病毒目(Nidovirales),冠状病毒科(Coronaviridae),冠状病毒亚科(Coronavirinae),Beta冠状病毒属(*Betacoronavirus*)。与严重急性呼吸综合征冠状病毒SARS-CoV和中东呼吸综合征冠状病毒MERS-CoV相似,是一种有包膜的正义单链RNA病毒(positive-sense single-stranded RNA virus)。SARS-CoV-2感染宿主细胞的机制是通过病毒附着、融合、渗透、脱壳、转录、翻译和病毒粒子释放等一系列过程进行增殖。其基因组进入宿主细胞后会借助宿主细胞机制编码出非结构蛋白:如3C样胰凝乳蛋白酶(3-chymotrypsin-like protease, 3CLpro)、木瓜样蛋白酶(papain-like protease, PLpro, ns3)、解旋酶(helicase)和RNA依赖性RNA聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)及结构蛋白:如刺突糖蛋白(spike protein)和辅助蛋白(accessory protein),以进行病毒复制(图1)^[3]。

SARS-CoV-2首先通过与特定的宿主细胞受体结合并通过胞吞进入宿主细胞,随后借助上述自身特异性蛋白(酶)工具完成病毒复制、再组装和胞外释放等关键工序。抗病毒药物的主要目的是针对上述不同阶段,通过抑制或干扰其感染或复制过程阻断病毒的感染和传播。因此针对药物靶点的不同,可以将抗病毒药物分为以病毒蛋白为靶点的直接抗SARS-CoV-2药物以及以宿主细胞蛋白为靶点的间接抗SARS-CoV-2药物。

2 直接抗SARS-CoV-2药物

2.1 以RNA依赖性RNA聚合酶RdRp为靶点的药物

SARS-CoV-2基因组进入宿主细胞后编码了一系列非结构蛋白(nonstructural proteins, ns1~16),并按照一定的空间和时间顺序形成了负责病毒转录复制的“核心机器”:转录复制复合体(replication and transcription complex, RTC),其包含了众多保守的抗病毒药物

设计的关键靶点,而RTC的核心部件就是RNA合成酶nsp12。nsp12借助辅助因子nsp7和nsp8激发其酶活性,并与nsp7和nsp8一起形成核心RdRp复合物^[4]。RdRp是一类以病毒RNA为模板、4种核苷三磷酸(nucleoside triphosphate, NTP)为底物合成RNA的RNA合成酶。目前在RCSB蛋白质数据库中已经有超过30种不同功能状态下的SARS-CoV-2 RNA合成酶晶体结构。下面列举3个具有代表性的药物。

2.1.1 莫努匹韦

莫努匹韦(molnupiravir, MK-4482, EIDD-2801)是2021年11月4日英国药品与健康产品管理局(Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, MHRA)批准上市的第一款用于成年人轻度至中度新冠病毒感染治疗的RdRp口服抑制剂药物。与由美国FDA最先批准临床使用的瑞德西韦不同,莫努匹韦在整个临床试验(I~III期: NCT04392219、NCT04405570、NCT04405739、NCT04939428、NCT04575597、NCT04575584)中均表现出针对新冠肺炎患者较理想的治疗效果和安全性。莫努匹韦在SARS-CoV-2感染的Vero细胞中的抗病毒药效约为 $EC_{50}=0.3 \mu\text{mol/L}$,在呼吸道上皮细胞中抗病毒复制的药效为 $EC_{50}=0.14 \mu\text{mol/L}$ ^[5~8]。体外毒性数据显示,针对Vero细胞的 $CC_{50}>10 \mu\text{mol/L}$,毒性与药效的安全窗口较为理想,因此莫努匹韦被选定为临床候选化合物。科学家在药效机理研究中发现,莫努匹韦能有效插入SARS-CoV-2病毒的RNA模板,促进病毒的突变和复制终结。细胞培养中的临床前数据显示,发生G到A和C到U转换突变的病毒RNA数量在莫努匹韦作用下剂量依赖性增加,这与莫努匹韦的抗冠状病毒药效成正相关。因此,莫努匹韦被归类为诱变核苷酸类似物。科研人员用SARS-CoV-2纯化的RdRp蛋白酶结合病毒RNA复制测试评价,研究了药物潜在的生化机制(图2)。即莫努匹韦作为前药在血浆中代谢为 N^4 -羟基胞苷(EIDD-1931),该活性主体分子进入宿主被感染细胞后,经激酶磷酸化形成 N -羟基胞苷三磷酸作为药物活性成分,参与病毒RNA复制过程并诱导RNA复制突变体的产生,最终导致病毒复制终止^[9]。2021年3月默克公司(Merck)的II期临床结果显示,从第5天接受该药治疗的新冠肺炎患者,在所有剂量组均达到了病毒阳性检出率为0%(安慰剂组为24%)的效果。最新的III期临床结果显示,莫努匹韦受试者在死亡和住院风险两项指标中均降低了50%。接受莫努匹韦治疗的患者在随机分组后的第29天住院或死亡

图1 (网络版彩色)新型冠状病毒的感染机制及靶点分布

Figure 1 (Color online) SARS-CoV-2 infection mechanism and related biotargets

的概率为7.3%，而安慰剂治疗的患者为14.1%。在安全性方面，莫努匹韦治疗组因药物相关不良事件而终止治疗的受试者约为1.3%，治疗组和安慰剂组发生任何级别不良反应的比率分别为35%和40%^[10]。

2.1.2 法匹拉韦

法匹拉韦(Favipiravir, T-705)被用于新发或复发流感的治疗。工业上主要以3-氨基吡嗪-2-羧酸为原料，经

羟基化、酯化、氨解、硝化、还原、重氮化等反应制得，收率较低，故此生产成本较高^[11]。法匹拉韦是一种前药(图3(a))，作为一种鸟嘌呤类似物，在进入受感染细胞后，通过模拟鸟苷三磷酸(GTP)(图3(b))嵌入延伸的RNA链中竞争性抑制RdRp，从而抑制病毒基因组的复制和转录，实现抗RNA病毒(例如流感病毒、埃博拉病毒、黄热病毒、奇昆古尼亚病毒、诺如病毒和肠病毒

图2 莫努匹韦分子结构及其作为前药的药效机制

Figure 2 Structure of molnupiravir and the prodrug activation mechanism

图3 (网络版彩色)法匹拉韦结构式及其分子机制。(a) 法匹拉韦分子结构; (b) 法匹拉韦核苷三磷酸; (c) 法匹拉韦与RdRp蛋白酶的复合结构(PDB: 7AAP)

Figure 3 (Color online) Structure of favipiravir and its molecular mechanism. (a) Structure of favipiravir; (b) structure of favipiravir-derived ribonucleoside triphosphate; (c) favipiravir/RdRp enzyme complex crystal structure (PDB: 7AAP)

等)的作用^[12]。鉴于它对SARS-CoV-2也具有良好的体外抑制活性(在Vero E6细胞中 $EC_{50}=61.88 \mu\text{mol/L}$)^[13], 法匹拉韦于2020年5月率先在印度获得了新冠肺炎治疗的“紧急使用授权”, 随后俄罗斯卫生监管部门也赋予了该药物针对新冠肺炎患者的紧急使用授权。法匹拉韦在日本已经完成了针对新冠肺炎危重病人的Ⅲ期临床试验, 目前正处于“预注册”阶段。但由于该药物在临床阶段的结果仍存在争议, 所以为了更好地理解该药物的抗病毒机制, Peng等人^[13]确定了法匹拉韦在预催化状态下与SARS-CoV-2的RdRp复合物冷冻电子显微镜结构(图3(c))。研究发现, 该药物除非在模板RNA中遇到重复的嘧啶残基, 否则RNA产物中法匹拉韦的存在不会立即终止生长链的延伸, 并且法匹拉韦能够逃脱转录复制复合体(replication and transcription com-

plex, RTC)的校对机制, 导致后代病毒基因组发生突变, 从而发挥抗病毒功效。这一发现也解释了该药物在体外没有显著抑制RNA合成的现象。

2.1.3 瑞德西韦

瑞德西韦(remdesivir, GS-5734)是美国吉利德科学公司的一款在研核苷类似物前药(图4(a)), 可以从核糖衍生物经由多步反应合成获得^[14]。瑞德西韦作用机制与法匹拉韦相似(体内活性结构见图4(b))。在体外试验中, 瑞德西韦可以抑制SARS-CoV-2(在Vero E6细胞中的 $EC_{50}=0.77 \mu\text{mol/L}$)^[15]。但针对该药物有效性的临床研究产生了前后矛盾的结果。基于自适应性COVID-19治疗试验(adaptive clinical design)的结果, 美国FDA已经批准该药物治疗COVID-19住院患者。而世界卫生组织基于“团结实验项目(solidarity clinical trial)”则认为, 该

图4 (网络版彩色)瑞德西韦结构式及其分子机制。(a) 瑞德西韦分子结构; (b) 瑞德西韦体内形成的核苷三磷酸; (c) 瑞德西韦与RdRp蛋白酶的复合结构(PDB: 7BV2)

Figure 4 (Color online) Structure of remdesivir and its molecular mechanism. (a) Structure of remdesivir; (b) structure of remdesivir-derived ribonucleoside triphosphate; (c) remdesivir/RdRp enzyme complex crystal structure (PDB: 7BV2)

药物在提高患者生存率或降低患者对吸氧的需求等方面没有产生有意义的影响^[16]。

可喜的是, 目前Yin等人^[17]和Bravo等人^[18]已经获得该药物与靶蛋白RdRp的低温电子显微镜晶体结构(PDB: 7BV1, 7BV2, 7L1F)(图4(c)), 可以帮助科学家了解瑞德西韦的抗病毒作用机制, 指导改进抗病毒药物的合理设计。这些电子显微镜结构揭示了模板RNA能被nsp12中的基序F和基序G识别, 并将此链导入核心位点, 从而进行链延伸的病毒基因组复制机制^[1]。研究发现, 瑞德西韦的抗病毒机制是由于瑞德西韦分子结构中含有的氰基(CN)基团在瑞德西韦单磷酸酯掺入碱基后与nsp12上的Ser861发生空间碰撞阻断RNA易位, 导致链终止^[18]。

2.2 以木瓜样蛋白酶为靶点的药物

PLpro是剪切经宿主细胞翻译机制表达的多聚蛋白pp1a和pp1ab的两个关键蛋白酶之一(PLpro负责切割nsp1、nsp2和nsp3), 可以高活性地切割Lys48连接的多聚泛素和泛素样分子干扰素刺激基因15(ISG15)的修饰来实现免疫逃逸^[19]。因此, 当PLpro被抑制后, 理论上可以实现病毒载量的降低以及宿主先天免疫系统的恢复。因其在病毒复制和宿主细胞控制中的多重作用, PLpro被认为是一个潜在的抗病毒靶点^[20]。

GRL0617最初是在2003年SARS暴发时开发的PLpro抑制剂(图5(a))。由于SARS-CoV-2的PLpro与SARS-CoV PLpro具有82%序列相似性和90%的结构相似性^[21], 研究人员针对前期具有SARS-CoV抑制活性的化合物开展了SARS-CoV-2抗病毒活性筛选。研究显示, 在SARS-CoV-2感染的Vero E6细胞中100 $\mu\text{mol/L}$ 的GRL0617能有效抑制SARS-CoV-2的胞内复制, 抑制率达50%以上。为了验证化合物的抗病毒复制作用与靶标的相关性, 对其进行了体外细胞测试并获得了该药物与PLpro的共晶结构(图5(b))。体外测试结果表明, 该抑制剂针对SARS-CoV-2的PLpro蛋白酶具有较强的抑制活性($\text{IC}_{50}=2.1 \mu\text{mol/L}$), 并且在Vero E6细胞中该药物浓度达到100 $\mu\text{mol/L}$ 时无明显的细胞毒性^[21]。在晶体结构解析和相关试验结果显示, GRL0617通过结合在SARS-CoV-2 PLpro蛋白的泛素特异性蛋白酶(USP)域中阻断ISG15与PLpro的连接, 以此发挥其抑制病毒复制的作用(PDB: 7CJM)^[22]。

2.3 以3C样胰凝乳蛋白酶为靶点的药物

3C样胰凝乳蛋白酶(3C-like protease, 3CLpro, Mpro, nsp5)亦称为M蛋白酶, 是病毒复制过程必需的功能蛋白。该蛋白酶通过水解多聚蛋白pp1a、pp1ab中至少11个保守位点, 以保证病毒转录复制关键非结构

蛋白nsp4~16的生成,其中包括RdRp、解旋酶以及Mpro自己,并且Mpro不同毒株之间具有高度同源性^[23]以及与人类宿主细胞缺乏同源性^[24]。因此,M蛋白酶也被认为是抗病毒药物开发的重要靶点之一。截至2021年10月,美国辉瑞公司设计和研发的口服M蛋白酶抑制剂PF-07321332是处于临床Ⅲ期试验的唯一SARS-CoV-2小分子抑制剂候选药物。与PF-07321332类似,目前报道最多的M蛋白酶抑制剂大多为多肽抑制剂,通过自身醛基、 α -酮酰胺^[25]等活性基团与Mpro的Cys145发生不可逆共价结合,使Mpro失活来达到抗病毒的效果。2020年4月,中国科学院上海药物研究所、清华大学与上海科技大学通过联合攻关在*Science*首次发表了SARS-CoV-2 Mpro的有效抑制剂11a和11b(图6(a)),并

通过获得抑制剂-Mpro复合物晶体结构首次揭示了该类非可逆抑制剂的作用机制(PDB: 6LZE)(图6(b))^[24]。2021年3月,四川大学以及中国科学院昆明动物研究所再次于*Science*发表了一种新型强效Mpro抑制剂(图7(a), (b))^[26],凸显了我国科学家在新型冠状病毒抑制剂探索研究方面的科研实力和科学贡献。

2.3.1 临床药物PF-07321332/瑞托那韦

辉瑞公司研究人员以SARS-CoV-2 Mpro为靶标,设计和筛选出了具有强效病毒抑制作用的临床候选药物PF-07321332(图8(a), (b))^[27,28]。其在体外实验中针对SARS-CoV-2 Mpro的酶抑制常数 K_i 为3.11 nmol/L,酶抑制活性为 IC_{50} =18.0 nmol/L,而针对SARS-CoV-2病毒感染的抗病毒活性为 EC_{50} =74~93 nmol/L。PF-07321332在

图5 (网络版彩色)GRL0617结构式及其分子机制。(a) GRL0617分子结构;(b) GRL0617与PLpro蛋白酶的复合结构(PDB: 7CMD)

Figure 5 (Color online) Structure of GRL0617 and its molecular mechanism. (a) Structure of GRL0617; (b) GRL0617/PLpro enzyme complex crystal structure (PDB: 7CMD)

图6 (网络版彩色)Mpro抑制剂11a和11b的结构式及11a的分子机制。(a) Mpro蛋白酶抑制剂11a和11b的分子结构;(b) 11a抑制剂与Mpro蛋白酶的复合结构(PDB: 6LZE)

Figure 6 (Color online) Structure of Mpro inhibitor 11a, 11b and the molecular mechanism of 11a. (a) Structures of Mpro inhibitors 11a and 11b; (b) 11a/Mpro enzyme complex crystal structure (PDB: 6LZE)

图7 (网络版彩色)Mpro抑制剂MI-23结构式及其分子机制。(a) Mpro蛋白酶抑制剂MI-23的分子结构; (b) Mpro蛋白酶与抑制剂MI-23的复合结构(PDB: 7D3I)

Figure 7 (Color online) Structure of Mpro inhibitor MI-23 and its molecular mechanism. (a) Structure of Mpro inhibitor MI-23; (b) MI-23/Mpro enzyme complex crystal structure (PDB: 7D3I)

图8 (网络版彩色)Mpro抑制剂PF-07321332结构式及其分子机制。(a) 临床药物PF-07321332的分子结构; (b) PF-07321332与Mpro蛋白酶的复合结构(PDB: 7SI9)

Figure 8 (Color online) Structure of Mpro inhibitor PF-07321332 and its molecular mechanism. (a) Structure of the clinical drug PF-07321332; (b) PF-07321332/Mpro enzyme complex crystal structure (PDB: 7SI9)

临床前试验中具有比较低的口服生物利用度, 在大鼠和犬的药代动力学实验中生物利用度保持在20%~25%, 其原因在于PF-07321332本身是体内药物代谢酶CYP3A4的代谢底物^[27]。鉴于此, 在临床试验中采用了与CYP3A4强效抑制剂瑞托那韦(ritonavir)联用的策略(NCT04756531), 以提高药物在体内的半衰期和生物利用度。药物与SARS-CoV-2的晶体结构显示, 药物分子中的CN取代基以共价方式与蛋白酶中的Cys145残基结合, 但该共价结合模式在非可逆SARS-CoV-2

抑制剂竞争实验中被证实是一种可逆模式。该现象为科研工作者的分子设计提供了宝贵的试验依据^[28]。目前, 已经完成了PF-07321332针对轻度及中度症状新型冠状病毒感染者的Ⅲ期临床试验研究。结果显示, 在1219名未接种新型冠状病毒疫苗的成年患者中, 发热、干咳等新冠肺炎症状出现后3 d内服用本抑制剂的住院率从安慰剂组的7%降至0.8%, 病死率从1.8%降至0%。本药物已于2021年11月申请美国FDA的紧急使用授权。

2.3.2 洛匹那韦/利托那韦

洛匹那韦(lopinavir)和利托那韦(ritonavir)(图9)在临床上常以固定剂量的复方药配方用于HIV(human immunodeficiency virus)感染患者的治疗. 利托那韦的制备工艺: 先合成甲氧羰基衍生物片段、正己烷片段和缬氨酸衍生物片段, 再对3个片段进行酰胺缩合制得^[29]. 洛匹那韦需要以(2S,3S,5S)-2-氨基-3-羟基-5-(叔丁氧羰基氨基)-1,6-二苯基己烷的丁二酸盐为原料, 经酰胺化、氨基脱保护、酰胺化三步反应制备^[30]. 研究发现, 洛匹那韦和利托那韦可能与MERS-CoV及SARS-CoV的3C样胰凝乳蛋白酶发生相互作用. 在一项非随机开放性临床试验中发现, 使用此复方药物改善了SARS-CoV患者的症状^[4]. 因此, 科学家开展了一项随机、对照、开放性临床试验(ChiCTR2000029308), 以测试洛匹那韦和利托那韦对重症COVID-19住院患者的疗效, 结果表明, 洛匹那韦和利托那韦试验组治疗效果未明显优于对照治疗组.

图9 洛匹那韦和利托那韦结构式
Figure 9 Structures of lopinavir and ritonavir

2.3.3 GC376/GC373

GC376(图10(a))最初是在猫冠状病毒(FCoV)动物试验中被发现耐受性良好且能有效阻止猫的感染. 该药物作为一种易于转化为肽醛(GC373)(图10(a))的前药发挥药效^[31]. GC373与GC376在针对SAR-CoV-2细胞试验中都表现出纳摩尔级的抑制活性(IC_{50} 分别为 0.40 ± 0.05 和 $0.19 \pm 0.04 \mu\text{mol/L}$)^[32]. 通过GC376/GC373与SARS-CoV-2 Mpro的共晶结构(PDB: 6WTJ, 6WTK)发现, 亚硫酸氢盐官能团从GC376中脱去, Mpro的Cys145与GC376/GC373形成半硫缩醛, 以此抑制Mpro活性(图10(b))^[32]. 因为它们已经在动物模型中获得了体内药效验证, 该类化合物被认为是治疗人类冠状病毒感染的有力候选药物.

2.3.4 黄芩素

黄芩素(baicalein)(图11(a))是双黄连口服液的主要有效成分之一, 我国科学家在发现双黄连制剂对Mpro具有明显抑制作用之后(三家不同公司生产的双黄连

图10 (网络版彩色)GC376、GC373结构式以及GC376的分子机制. (a) Mpro蛋白酶抑制剂GC376和GC373的分子结构; (b) Mpro抑制剂GC376与蛋白酶的复合结构(PDB: 6WTK)

Figure 10 (Color online) Structures of GC376 and GC373, and the molecular mechanism of GC376. (a) Structures of Mpro inhibitor GC376 and GC373; (b) GC376/Mpro enzyme complex crystal structure (PDB: 6WTK)

图 11 (网络版彩色)黄芩素结构式及其分子机制。(a) 黄芩素的分子结构; (b) 黄芩素与Mpro蛋白酶的复合结构(PDB: 6M2N)

Figure 11 (Color online) Structure of baicalein and its molecular mechanism. (a) Structure of baicalein; (b) baicalein/Mpro enzyme complex crystal structure (PDB: 6M2N)

口服液 IC_{50} 分别为0.090、0.064、0.076 $\mu\text{L/mL}$), 进一步研究了中国药典中提到的3个指标成分(绿原酸、连翘和黄芩苷)以及双黄连制剂中的其他25种化合物. 9种化合物被鉴定为Mpro的低微摩尔范围抑制剂(黄芩素在Vero E6中对SARS-CoV-2的 $IC_{50}=0.94 \pm 0.20 \mu\text{mol/L}$)^[30]. 其中, 科研人员对黄芩素与Mpro的结合进行了全面表征, 还确定了SARS-CoV-2 Mpro与黄芩素复合物的晶体结构(PDB: 6M2N). 研究表明, 黄芩素针对SARS-CoV-2 Mpro蛋白酶的抑制作用为 $IC_{50}=0.94 \pm 0.20 \mu\text{mol/L}$, 在SARS-CoV-2感染的Vero E6细胞中, 黄芩素的抗病毒复制活性为 $EC_{50}=2.94 \pm 1.19 \mu\text{mol/L}$, 细胞毒性为 $CC_{50}>200 \mu\text{mol/L}$. 结晶构造分析发现, 与拟肽类小分子抑制剂特异性和Cys145结合的作用模式不同, 黄芩素通过在His41和Cys145两个催化二连体残基界面处扮演“盾牌”角色, 有效阻挡底物进入活性位点(图11(b)). 这种独特的结合模式及其高效的配体结合效率与其较小的分子母核, 使黄芩素成为进一步开发Mpro抑制剂药物的重要先导化合物. 黄芩素是目前发现的抑制剂中少有的非共价、非拟肽小分子抑制剂^[33].

2.4 以解旋酶为靶点的药物

解旋酶(helicase, HEL, nsp13)是设计抗病毒药物的重要靶点. 在病毒增殖过程中, 两个解旋酶分子依次与由nsp12、nsp8、nsp7和nsp10/nsp14组装成超级复合体Cap(0)-RTC, 并在细胞内形成稳定的同源二聚体后通过解旋酶1B结构域的重大构象变化, 引导模板核酸链

反向移动, 协同聚合酶nsp12引发产物链“回溯”机制^[8]. 这一机制可能是导致大量核苷类药物在进入临床研究后, 其抗病毒效果与预期具有一定差距的原因. 把病毒解旋酶结合模板RNA的关键位点作为关键靶点开发抗病毒药物, 有望加快新一代核苷类抗病毒药物的研发. 目前, 这一类型的药物大多处于临床前研究阶段, 尚未发现具有潜力的先导化合物.

2.5 以刺突糖蛋白为靶点的药物

刺突糖蛋白(spike glycoprotein, S蛋白)作为冠状病毒4种结构蛋白之一, 负责病毒与宿主细胞的受体识别、结合和病毒进入宿主细胞. S蛋白可以特异性结合宿主细胞表面受体血管紧张素转换酶II(ACE2), 在宿主细胞蛋白酶的作用下, 裂解为2个亚基: S1和S2, 其中S1负责细胞受体ACE2的识别, 而S2介导病毒与宿主的膜融合^[34]. 故此, S蛋白是防治冠状病毒药物感染和传播的一个很重要靶点.

然而, 目前在世界各国蔓延的新型冠状病毒均已在S蛋白上发生突变, 这些突变或使病毒传播力更强, 或使病毒对宿主的伤害更强, 或使疫苗诱导的抗体中和能力降低(表1)^[35-45]. 这些突变使得针对S蛋白研发抗病毒药物成为一项极具挑战性的工作.

值得注意的是, SARS-CoV-1和SARS-CoV-2的S蛋白具有76.9%的序列同一性^[46], 并且两者的结构比对表明, 两种S蛋白结构相似, 超过959个 α 原子的均方根偏差(root mean square deviation, RMSD)仅为3.8 $\text{\AA}$ ^[47]. 这

表 1 目前流行的SARS-CoV-2变种表^{a)}

Table 1 List of main variants of SARS-CoV-2

世界卫生组织标签	谱系+额外突变	S蛋白突变位点	对传播性产生影响	对人体免疫力产生影响	对病情严重程度产生影响
Alpha	B.1.1.7	N501Y, D614G, P681H	√	×	√
	B.1.1.7+E484K	E484K, N501Y, D614G, P681H	√	√	√
Beta	B.1.351	K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V	√	√	√
Gamma	P.1	K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y	√	√	√
Delta	B.1.617.2	L452R, T478K, D614G, P681R	√	√	√
Eta	B.1.525	E484K, D614G, Q677H	—	√	—
Theta	P.3	E484K, N501Y, D614G, P681H	√	√	—
Kappa	B.1.617.1	L452R, E484Q, D614G, P681R	√	√	—
	B.1.620	S477N, E484K, D614G, P681H	—	√	—
	B.1.621	R346K, E484K, N501Y, D614G, P681H	√	√	—
Lambda	C.37	L452Q, F490S, D614G	—	√	—

a) “—”代表目前尚不清楚; “√”代表是; “×”代表否

意味着针对SARS-CoV-1 S蛋白开发的药物也具有抗SARS-CoV-2 S蛋白的潜力。

2.5.1 阿比多尔

阿比多尔(arbidol)(图12)是一种由苏联药物化学研究中心研制的抗病毒药物。一般以5-乙酰氧基-1,2-二甲基吡啶-3-羧酸乙酯为起始原料,经溴代、缩合、曼尼希反应制得^[48]。

阿比多尔能阻止病毒外壳与宿主细胞的细胞膜发生接触、黏附和融合。分子动力学(molecular dynamics, MD)模拟的分析结果表明,阿比多尔能够以高亲和力结合并稳定在受体结合域(receptor binding domain, RBD)与ACE2的界面^[49],但该药物与SARS-CoV-2的结晶构造尚未得到成功解析。阿比多尔对多种病毒包括流感病毒、呼吸道合胞病毒(RSV)、非典型性肺炎病毒(SARS-CoV)、丙肝病毒(HCV)和乙肝病毒(HBV)等均具有抑制作用^[50]。目前研究显示,阿比多尔治疗组在加快病毒清除和改善临床症状方面均未获得优于对照组洛匹那韦/利托那韦联合治疗的临床药效,因此该药物对于新冠肺炎的治疗效果仍有待进一步评价^[51]。

2.5.2 SSAA09E2

为了找到针对SARS-CoV-1 S蛋白的小分子抑制剂,Adedeji等人^[52]根据Lipinski五规则筛选了一个由3000种化合物组成的化合物库,并筛选出一种恶唑-甲酰胺衍生物SSAA09E2(图13)。它能阻断SARS-CoV S蛋白的RBD与ACE2的结合,IC₅₀值为3.1 μmol/L, CC₅₀

为>100 μmol/L。进一步的研究证实,SSAA09E2不会影响ACE2表达,但很可能通过干扰S1亚基中的RBD直接阻断ACE2对病毒的识别^[52]。

3 宿主靶向药物

在自然复制过程和药物施加的外界环境压力下,冠状病毒极易发生基因变异,因此以病毒蛋白为靶标的抗冠状病毒药在抗病毒耐药方面具有挑战性。为此,宿主靶向策略成为抗冠状病毒药物研究的重要发展方向^[17,18]。

图 12 阿比多尔结构式
Figure 12 Structure of arbidol

图 13 SSAA09E2结构式
Figure 13 Structure of SSAA09E2

3.1 干扰素

干扰素(interferon, IFN)是在动物细胞受到病毒感染后分泌的一种具有抗病毒功能的宿主特异性糖蛋白。当受病毒感染的宿主细胞分泌出干扰素后能够与周围未受感染细胞的相关受体作用,促使这些细胞合成抗病毒蛋白防止进一步的感染,以此发挥抑制病毒的作用^[53]。

已被批准用于治疗HBV和HCV的聚乙二醇干扰素Alfa-2a和Alfa-2b对SARS-CoV-2患者固有的清除病毒的免疫功能具有促进作用^[3]。目前针对干扰素Beta-1a的临床二期试验已经结束(NCT04385095),结果表明,与接受安慰剂的患者相比,接受干扰素Beta-1a治疗的患者有更大的改善几率,并且从SARS-CoV-2感染中恢复得更快,这为进一步的试验研究提供了强有力的临床证据^[54]。

3.2 以抑制膜融合为靶点的药物

当冠状病毒S蛋白与宿主细胞受体ACE2结合后,必须通过其表达的蛋白酶(如跨膜丝氨酸蛋白酶2)或内体中的组织蛋白酶L^[55]来激活蛋白水解,以帮助S蛋白的S2亚基介导膜融合。抑制该过程在理论上与疫苗的效果类似,也是新型冠状病毒防治药物研发的重要方向。

3.2.1 氯喹和羟氯喹

磷酸氯喹(图14)作为一种上市70年的抗疟药物,其合成工艺成熟,通常以4-氨基-7-氯喹啉和5-二乙胺基-2-戊酮为起始原料,在手性酸的催化下,通过不对称的还原氨化反应得到光学纯的氯喹(chloroquine),该路线原料易得,绿色环保^[56]。

该药物的抗病毒机制可能是通过提高内体pH,从而抑制依赖于pH的病毒-内体融合。在疫情暴发初期,研究人员发现,氯喹能够在细胞水平有效抑制SARS-CoV-2(在Vero E6细胞中的 $EC_{50}=1.13 \mu\text{mol/L}$)^[14]。羟氯喹(hydroxychloroquine)(图14),作为氯喹的一种毒性更低的衍生物,在Vero E6细胞中的 $EC_{50}=4.51 \mu\text{mol/L}$ ($MOI=0.01$, $P<0.05$)^[57],然而后续的临床研究发现,氯

图14 氯喹和羟氯喹结构式

Figure 14 Structures of chloroquine and hydroxychloroquine

喹或羟氯喹的使用对COVID-19患者的病状治愈、临床恢复时间和生存率改善没有显著影响^[58]。Hoffmann等人^[59]的研究结果为这一前后矛盾的现象作出了解释。他们发现,氯喹的病毒抑制活性有细胞类型依赖性,即氯喹和羟氯喹能高效抑制病毒进入跨膜丝氨酸蛋白酶2(TMPRSS2)表达缺失的Vero细胞,而对相对高表达TMPRSS2蛋白的Calu-3和Vero细胞则抑制无效。Ou等人^[60]的研究结果与此互为佐证,他们发现, SARS-CoV-2比SARS-CoV-1更依赖TMPRSS2通路,并且羟氯喹与TMPRSS2抑制剂的联用可以有效抑制SARS-CoV-2进入宿主细胞。

3.2.2 奈莫司他

奈莫司他(nafamostat)(图15)是一种上市药物,在许多亚洲国家被用作弥散性血管内凝血(disseminated or diffuse intravascular coagulation, DIC)患者的抗凝剂,用来防止在接受连续肾脏替代治疗和体外膜肺氧合的患者在体外循环过程中形成血凝(信息源自PubChem数据库)。

奈莫司他作为一种丝氨酸蛋白酶抑制剂,通过抑制跨膜丝氨酸蛋白酶2(TMPRSS2,一种介导SARS-CoV-2病毒细胞进入的人类细胞表面丝氨酸蛋白酶)来防止SARS-CoV-2的包膜与宿主细胞表面膜的融合^[61]。在体外活性试验中该药物在Calu-3 2B4细胞中具有良好的抑制活性($IC_{50}=2.2 \text{ nmol/L}$),并在被转导Ad5-hACE2的小鼠模型中发现,在接种病毒前2、4或6 h给药会降低小鼠肺部组织病毒滴度。如果在更接近SARS-CoV-2感染时间给药,效果会更好^[62]。该研究结果表明,奈莫司他是治疗SARS-CoV-2感染和发病的重要候选药物。目前针对该药物的一项二期临床试验(NCT04623021)已经结束,相信不久将有结果公布。

4 结语

针对COVID-19快速研发出有效的治疗药物是一项重大挑战。目前,科学家已经成功解析了大部分的

图15 奈莫司他结构式

Figure 15 Structure of nafamostat

SARS-CoV-2可靶向蛋白的晶体结构,如S蛋白、M蛋白、PL蛋白、RNA合成酶等,随着生物信息学和人工智能辅助新药研发技术的不断进步,这些成果将加速抗COVID-19防治药物的筛选和研发.本文不仅包含了针对新型冠状病毒不同靶标的新活性物质,还总结了部分已上市药物在防治新冠肺炎中的应用实例.与从头设计发掘抗病毒新药相比,老药新用策略从已上市医药品中筛选新型冠状病毒防治药物在成药性和缩短开发周期方面具有优势.另外,我国抗击疫情过程中,在中医药防治新冠肺炎方面积累了非常宝贵的临床经验,所获得的成果为以中药成分为基础发掘和筛选高效病毒抑制剂药物与开展中西医结合治疗方面奠定了

基础.最后,新型冠状病毒频繁发生的基因突变和免疫逃逸问题将是药物研发工作者最需要重视和科学对待的关键课题.由于病毒变异多发生在S蛋白和入侵宿主细胞的“感染环节”,因此将病毒抑制靶标定位在不受S蛋白变异影响的环节,例如抑制膜融合和病毒内吞过程的丝氨酸蛋白酶、组织蛋白酶等将是开发广谱高效抑制病毒药物的重要方向之一.此外,通过以M蛋白、PL蛋白以及RdRp等为目标靶点,抑制病毒在宿主细胞内的复制过程一直是设计和筛选抗病毒药物的重要方向.结合生物信息学和人工智能辅助药物设计与研发技术,相信在不久的将来将会有更多的小分子创新药物进入临床并获得理想的治疗效果.

参考文献

- Wang Y, Zhang D, Du G, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: A randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*, 2020, 395: 1569–1578
- De Clercq E, Li G. Approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clin Microbiol Rev*, 2016, 29: 695–747
- Li G, De Clercq E. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19: 149–150
- Subissi L, Posthuma C C, Collet A, et al. One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: E3900–E3909
- Sheahan T P, Sims A C, Zhou S, et al. An orally bioavailable broad-spectrum antiviral inhibits SARS-CoV-2 in human airway epithelial cell cultures and multiple coronaviruses in mice. *Sci Transl Med*, 2020, 12: eabb5883
- Cox R M, Wolf J D, Plemper R K. Therapeutically administered ribonucleoside analogue MK-4482/EIDD-2801 blocks SARS-CoV-2 transmission in ferrets. *Nat Microbiol*, 2021, 6: 11–18
- Painter W P, Holman W, Bush J A, et al. Human safety, tolerability, and pharmacokinetics of molnupiravir, a novel broad-spectrum oral antiviral agent with activity against SARS-CoV-2. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, 65: e02428-20
- Yan L, Yang Y, Li M, et al. Coupling of N7-methyltransferase and 3'-5' exoribonuclease with SARS-CoV-2 polymerase reveals mechanisms for capping and proofreading. *Cell*, 2021, 184: 3474–3485.e11
- Kabinger F, Stiller C, Schmitzová J, et al. Mechanism of molnupiravir-induced SARS-CoV-2 mutagenesis. *Nat Struct Mol Biol*, 2021, 28: 740–746
- Holman W, Holman W, McIntosh S, et al. Accelerated first-in-human clinical trial of EIDD-2801/MK-4482 (molnupiravir), a ribonucleoside analog with potent antiviral activity against SARS-CoV-2. *Trials*, 2021, 22: 561
- Zheng J Q, Zhang T, Liu C M, et al. Preparation method of 6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazinamide (in Chinese). PRC Patent, CN102775358A, 2012-11-14 [郑家晴, 张涛, 刘昌铭, 等. 6-氟-3-羟基-2-吡嗪酰胺的制备方法. 中国专利, CN102775358A, 2012-11-14]
- Furuta Y, Takahashi K, Kuno-Maekawa M, et al. Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49: 981–986
- Peng Q, Peng R, Yuan B, et al. Structural basis of SARS-CoV-2 polymerase inhibition by favipiravir. *Innovation*, 2021, 2: 100080
- Warren T K, Jordan R, Lo M K, et al. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature*, 2016, 531: 381–385
- Wang M, Cao R, Zhang L, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro*. *Cell Res*, 2020, 30: 269–271
- Garibaldi B T, Wang K, Robinson M L, et al. Comparison of time to clinical improvement with vs without remdesivir treatment in hospitalized patients with COVID-19. *JAMA Netw Open*, 2021, 4: e213071
- Yin W, Mao C, Luan X, et al. Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir. *Science*, 2020, 368: 1499–1504
- Bravo J P K, Dangerfield T L, Taylor D W, et al. Remdesivir is a delayed translocation inhibitor of SARS-CoV-2 replication. *Mol Cell*, 2021, 81: 1548–1552.e4
- Rut W, Lv Z, Zmudzinski M, et al. Activity profiling and crystal structures of inhibitor-bound SARS-CoV-2 papain-like protease: A framework for

- anti-COVID-19 drug design. *Sci Adv*, 2020, 6: eabd4596
- 20 Lin M H, Moses D C, Hsieh C H, et al. Disulfiram can inhibit MERS and SARS coronavirus papain-like proteases via different modes. *Antiviral Res*, 2018, 150: 155–163
 - 21 Welker A, Kersten C, Müller C, et al. Structure-activity relationships of benzamides and isoindolines designed as SARS-CoV protease inhibitors effective against SARS-CoV-2. *ChemMedChem*, 2021, 16: 340–354
 - 22 Fu Z, Huang B, Tang J, et al. The complex structure of GRL0617 and SARS-CoV-2 PLpro reveals a hot spot for antiviral drug discovery. *Nat Commun*, 2021, 12: 488
 - 23 Anand K, Ziebuhr J, Wadhwani P, et al. Coronavirus main proteinase (3CL^{pro}) structure: Basis for design of anti-SARS drugs. *Science*, 2003, 300: 1763–1767
 - 24 Jin Z, Du X, Xu Y, et al. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*, 2020, 582: 289–293
 - 25 Zhang L, Lin D, Sun X, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors. *Science*, 2020, 368: 409–412
 - 26 Qiao J, Li Y S, Zeng R, et al. SARS-CoV-2 M^{pro} inhibitors with antiviral activity in a transgenic mouse model. *Science*, 2021, 371: 1374–1378
 - 27 Pavan M, Bolcato G, Bassani D, et al. Supervised molecular dynamics (SuMD) insights into the mechanism of action of SARS-CoV-2 main protease inhibitor PF-07321332. *J Enzym Inhib Med Chem*, 2021, 36: 1646–1650
 - 28 Owen D R, Allerton C M N, Anderson A S, et al. An oral SARS-CoV-2 M^{pro} inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19. *Science*, 2021, 374: 1586–1593
 - 29 He C Y, Ding X J, Xu H G, et al. Research on synthetic process of Ritonavir (in Chinese). *Anhui Med Pharm J*, 2015, 19: 31–34 [何彩玉, 丁小娟, 徐洪根, 等. 利托那韦的合成工艺研究. *安徽医药*, 2015, 19: 31–34]
 - 30 Xu H G, He C Y, Tang J, et al. Research on synthetic process of Lopinavir (in Chinese). *Anhui Med Pharm J*, 2014, 18: 610–613 [徐洪根, 何彩玉, 汤君, 等. 洛匹那韦合成工艺研究. *安徽医药*, 2014, 18: 610–613]
 - 31 Pedersen N C, Kim Y, Liu H, et al. Efficacy of a 3C-like protease inhibitor in treating various forms of acquired feline infectious peritonitis. *J Feline Med Surg*, 2018, 20: 378–392
 - 32 Vuong W, Khan M B, Fischer C, et al. Feline coronavirus drug inhibits the main protease of SARS-CoV-2 and blocks virus replication. *Nat Commun*, 2020, 11: 4282
 - 33 Su H X, Yao S, Zhao W F, et al. Anti-SARS-CoV-2 activities *in vitro* of Shuanghuanglian preparations and bioactive ingredients. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41: 1167–1177
 - 34 Ma Y L. Research progress on the characteristics and pathogenicity of coronavirus (in Chinese). *Chin J Clin Infect Dis*, 2018, 11: 305–315 [马亦林. 冠状病毒的特性及其致病性研究进展. *中华临床感染病杂志*, 2018, 11: 305–315]
 - 35 Davies N G, Abbott S, Barnard R C, et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science*, 2021, 372: eabg3055
 - 36 Davies N G, Jarvis C I, Edmunds W J, et al. Increased mortality in community-tested cases of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7. *Nature*, 2021, 593: 270–274
 - 37 Funk T, Pharris A, Spiteri G, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 variants of concern B.1.1.7, B.1.351 or P.1: Data from seven EU/EEA countries, weeks 38/2020 to 10/2021. *Eurosurveillance*, 2021, 26: 2100348
 - 38 Jangra S, Ye C, Rathnasinghe R, et al. SARS-CoV-2 spike E484K mutation reduces antibody neutralisation. *Lancet Microbe*, 2021, 2: e283–e284
 - 39 Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, et al. Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. *Nature*, 2021, 592: 438–443
 - 40 Faria N R, Mellan T A, Whittaker C, et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science*, 2021, 372: 815–821
 - 41 Dejnirattisai W, Zhou D, Supasa P, et al. Antibody evasion by the P.1 strain of SARS-CoV-2. *Cell*, 2021, 184: 2939–2954.e9
 - 42 Sheikh A, McMenamin J, Taylor B, et al. SARS-CoV-2 Delta VOC in Scotland: Demographics, risk of hospital admission, and vaccine effectiveness. *Lancet*, 2021, 397: 2461–2462
 - 43 Tut G, Lancaster T, Krutikov M, et al. Profile of humoral and cellular immune responses to single doses of BNT162b2 or ChAdOx1 nCoV-19 vaccines in residents and staff within residential care homes (VIVALDI): An observational study. *Lancet Healthy Longev*, 2021, 2: e544–e553
 - 44 Acevedo M L, Alonso-Palomares L, Bustamante A, et al. Infectivity and immune escape of the new SARS-CoV-2 variant of interest Lambda. *medRxiv*, 2021, 9: 2167
 - 45 Collier D A, De Marco A, Ferreira I A T M, et al. Sensitivity of SARS-CoV-2 B.1.1.7 to mRNA vaccine-elicited antibodies. *Nature*, 2021, 593: 136–141
 - 46 Zhou P, Yang X L, Wang X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, 579: 270–273
 - 47 Xiu S, Dick A, Ju H, et al. Inhibitors of SARS-CoV-2 entry: Current and future opportunities. *J Med Chem*, 2020, 63: 12256–12274
 - 48 Wang D, Wu X J, Gong P. Synthesis of Arbidol hydrochloride (in Chinese). *Chin J Pharm*, 2004, (8): 10–11 [王钝, 吴秀静, 宫平. 盐酸阿比朵尔的

- 合成. 中国医药工业杂志, 2004, (8): 10–11]
- 49 Padhi A K, Seal A, Khan J M, et al. Unraveling the mechanism of Arbidol binding and inhibition of SARS-CoV-2: Insights from atomistic simulations. *Eur J Pharmacol*, 2021, 894: 173836
- 50 Zhang J, Fang F. Research progress of non-nucleoside antiviral drug arbidol (in Chinese). *Chin J Evidence-Based Pediatr*, 2011, 6: 308–312 [张菊, 方峰. 非核苷类抗病毒药物阿比多尔的研究进展. 中国循证儿科杂志, 2011, 6: 308–312]
- 51 Nojomi M, Yassin Z, Keyvani H, et al. Effect of Arbidol (Umifenovir) on COVID-19: A randomized controlled trial. *BMC Infect Dis*, 2020, 20: 1
- 52 Adedeji A O, Severson W, Jonsson C, et al. Novel inhibitors of severe acute respiratory syndrome coronavirus entry that act by three distinct mechanisms. *J Virol*, 2013, 87: 8017–8028
- 53 Samuel C E. Antiviral actions of interferons. *Clin Microbiol Rev*, 2001, 14: 778–809
- 54 Monk P D, Marsden R J, Tear V J, et al. Safety and efficacy of inhaled nebulised interferon beta-1a (SNG001) for treatment of SARS-CoV-2 infection: A randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Respir Med*, 2021, 9: 196–206
- 55 Zhao M M, Yang W L, Yang F Y, et al. Cathepsin L plays a key role in SARS-CoV-2 infection in humans and humanized mice and is a promising target for new drug development. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 134
- 56 Chen F X, Hou B B, Zhang S L, et al. An asymmetric synthesis method of optically pure (R)/(S)-chloroquine (in Chinese). PRC Patent, CN105693605A, 2016-06-22 [陈福欣, 侯彬彬, 张少利, 等. 一种光学纯(R)/(S)-氯喹的不对称合成方法. 中国专利, CN105693605A, 2016-06-22]
- 57 Liu K, Tang M, Liu Q, et al. Bi-directional differentiation of single bronchioalveolar stem cells during lung repair. *Cell Discov*, 2020, 6: 1–4
- 58 Bignardi P R, Vengrus C S, Aquino B M, et al. Use of hydroxychloroquine and chloroquine in patients with COVID-19: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Pathogens Glob Health*, 2021, 115: 139–150
- 59 Hoffmann M, Mösbauer K, Hofmann-Winkler H, et al. Chloroquine does not inhibit infection of human lung cells with SARS-CoV-2. *Nature*, 2020, 585: 588–590
- 60 Ou T, Mou H, Zhang L, et al. Hydroxychloroquine-mediated inhibition of SARS-CoV-2 entry is attenuated by TMPRSS2. *PLoS Pathog*, 2021, 17: e1009212
- 61 Hoffmann M, Schroeder S, Kleine-Weber H, et al. Nafamostat mesylate blocks activation of SARS-CoV-2: New treatment option for COVID-19. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 64: e00754-20
- 62 Li K, Meyerholz D K, Bartlett J A, et al. The TMPRSS2 inhibitor nafamostat reduces SARS-CoV-2 pulmonary infection in mouse models of COVID-19. *mBio*, 2021, 12: e00970-21

Summary for “新型冠状病毒治疗药物的研究现状及展望”

Progress on COVID-19 chemotherapeutics

Ru Zhang¹, Ziru Sun¹, Shengnan Liu^{1,2*} & Qingzhi Gao^{1*}

¹ School of Pharmaceutical Science & Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

² Molecular Plus Institute, Tianjin University, Tianjin 300072, China

* Corresponding authors, E-mail: shengnan_liu@tju.edu.cn; qingzhi@tju.edu.cn

COVID-19 has caused the outbreak to spread on a global scale due to its high transmission rate and ineffective prevention and treatment. The disease is caused by a new type of single-stranded RNA coronavirus, which was named SARS-CoV-2 by the International Committee on Taxonomy of Viruses. As of November 2021, more than 210 countries and regions around the world have been affected by the coronavirus, and a total of more than 240 million confirmed cases have been reported worldwide, and the death toll has exceeded 4 million. Although the vaccine immunizations have alleviated the COVID-19 pandemic to some extent, however from the perspective of clinical treatment, the development of effective antiviral therapeutics for COVID-19 remains urgent and long-term need.

Remdesivir (Veklury, Gilead), which was approved by the US FDA in October 2020, is currently the only officially approved coronavirus polymerase inhibitor. However, the clinical efficacy of remdesivir for COVID-19 remains contentious, as the statistical differences in both mortality rate and clinical improvement between drug-treated and control groups were not clearly verified in several trials. Very recently following remdesivir, Merck announced the first effective antiviral pill against COVID-19 called molnupiravir, which has finished phase III clinical trials with proven efficacy to reduce the risk of hospitalizations and deaths by 50% in patients with mild-to-moderate COVID-19. Based on this result, Merck received the first authorization from the UK (as of November 9, 2021). It is also known that one more antiviral pill developed by Pfizer with the compound code PF-07321332, is already in the final stages of trial data analysis, so it is expected that this will be the second orally available drug for authorization application in the coming few months.

Despite the encouraging results achieved by Merck and Pfizer's scientists, the practical challenges and high attrition rates on new drug development remain a difficult reality for the medicinal chemists and pharmaceutical scientists. In this article, we provide an overview of the research hotspots of the development for COVID-19 treatment agents, especially on the representative antiviral compounds that have potential inhibitory effects against SARS-CoV-2. By focusing on specific biotargets of SARS-CoV-2 and their drug molecules, mechanism strategies, and their clinical testing results, we summarize the opportunities and challenges faced by drug developers in stopping the COVID-19 pandemic. This review further provides the current status on development of COVID-19 chemotherapeutics and outlines some future perspectives on potential innovation strategies to mitigate the risk in the new drug discovery.

SARS-CoV-2, antiviral drugs, biotarget, molecular mechanism, new drug research and development

doi: [10.1360/TB-2021-0953](https://doi.org/10.1360/TB-2021-0953)