

·综述·

本文引用:林秀莲,王卫,覃丽,李凯,戴爱国,廖端芳. SARS-CoV-2与SARS-CoV的主要生物学特性差异对研发防治COVID-19药物的启示[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(11): 1413-1420.

SARS-CoV-2与SARS-CoV的主要生物学特性差异 对研发防治COVID-19药物的启示

林秀莲¹,王卫²,覃丽²,李凯¹,戴爱国^{3*},廖端芳^{1,2*}

(1.湘产大宗药材品质评价湖南省重点实验室,湖南长沙410208;2.湖南中医药大学干细胞中药调控与应用实验室,湖南长沙410208;3.湖南中医药大学医学院呼吸疾病研究室,湖南长沙410208)

[摘要] 本文分析了2019年新型冠状病毒(SARS-CoV-2)的基本构成、遗传性状、受体特征、蛋白切割位点、进入宿主细胞机制及引起细胞因子风暴等主要生物学特征,并与2003年“非典”病毒(SARS-CoV)进行比较,以期对研发防治COVID-19药物有所启示。

[关键词] SARS-CoV-2;SARS-CoV;生物学特性;致病原理;药物研发

[中图分类号]R259 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.11.023

Implications of Biological Differences of SARS-COV-2 and SARS-COV for the Development of Drugs Against COVID-19

LIN Xiulian¹, WANG Wei², QIN Li², LI Kai¹, DAI Aiguo^{3*}, LIAO Duanfang^{1,2*}

(1. Key Laboratory for Quality Evaluation of Bulk Herbs of Hunan Province, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Division of Stem Cell Regulation and Application, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Department of Respiratory Diseases, School of Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] This paper tried to have an in-depth analysis of its basic composition, genetic traits, receptor characteristics, protein cleavage sites, mechanism of entering host cells and characteristics of cytokine storm of this novel coronavirus SARS-CoV-2, and its differences with SARS virus (SARS-CoV) in 2003, to provide some inspiration for the research and development of drugs for prevention and treatment of COVID-19.

[Keywords] SARS-COV-2; SARS-CoV; biological characteristics; COVID-19; pathogenic mechanism; drug development

冠状病毒(coronavirus)可引起严重呼吸道综合征。新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染事件于2020年1月30日被世界卫生组织(WHO)宣布为“国际关注的突发公共卫生事件”^[1]。截至2020年9月底,SARS-CoV-2感染所致的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)人数已超过3000万,导致的死亡人

数已超过100万,其对人类的影响远超2003年爆发的“非典”(SARS)和2012年爆发的中东呼吸综合征(MERS),目前尚无疗效肯定、机制明确的抗病毒药物,疫苗仍处于研究之中,全球抗疫形势依然严峻,研发有效针对SARS-CoV-2病毒以防治COVID-19的药物迫在眉睫。因此,本文分析了SARS-CoV-2与

[收稿日期]2020-09-18

[基金项目]湖南省教育厅重大病毒感染性疾病防治科技攻关专项(湘财教指[2020]17号);湖南省中医药防治新冠肺炎科研攻关课题(KYGG06,湘中医药[2020]5号)。

[作者简介]林秀莲,女,在读硕士研究生,研究方向:中药抗炎药理。

[通讯作者]*廖端芳,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:dfliao@hnuocm.edu.cn;戴爱国,男,博士,主任医师,教授,E-mail:daiaguo@126.com。

SARS-CoV 的主要生物活性特性,并总结了其对研发防治 COVID-19 药物启示。

1 SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 的基本构成与差异

冠状病毒是一大类病毒正向单链 RNA 基因组,基因组大约 26 000-32 000 个碱基,G+C 含量在 32%~43%之间^[2],其单链 RNA 可直接在细胞内表达蛋白。据系统进化分析,正链 RNA 冠状病毒亚科由 4 个属(α 、 β 、 γ 、 δ)组成,SARS-CoV-2 属于 β 冠状病毒属的亚属(sungenus),为携带 30 kb 单个正链 RNA 基因组。RNA 病毒的一个重要特征就是可通过变异产生新的变异株以逃避宿主防御,且可能存在逆向/返祖进化^[3]。SARS-CoV-2 与“非典”冠状病毒(SARS-CoV)之间存在较大的遗传距离,与 MERS 冠状病毒的遗传距离更大^[4]。SARS-CoV-2 的基因组是由 29 891 个碱基对组成,编码 9 860 个氨基酸,SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 的核苷酸同源性为 79.0%^[5],氨基酸同源性为 75.80%^[6]。

SARS-CoV-2 基因组含有两个开放阅读框分别对应编码 pp1a 和 pp1ab 两种多蛋白前体蛋白,二者成熟后在维持基因组稳定和病毒复制中起关键作用。在 SARS-CoV-2 病毒全基因组核酸序列中,5' 端相对比较保守,而 3' 端变异比较活跃^[7],其 4 种主要蛋白棘突蛋白 S、包膜蛋白 E、膜蛋白 M 和核衣壳蛋白 N 均位于基因组 3 末端的 1/3 处,故较易发生变异^[8]。

SARS-CoV 的 S 蛋白是影响受体结合和宿主特异性的关键蛋白之一。主要介导受体识别和膜融合,在病毒感染靶细胞过程中发挥重要作用。与 SARS-CoV 和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)相比,SARS-CoV-2 的 S 蛋白相对较长^[9];且在 N-末端有 3 个短片插入,可分为 S1 和 S2 两个部分^[9],S1 含有一个受体结合域(receptor binding domain, RBD),可与细胞表面 ACE2 结合;S2 含有两个七肽重复序列 HR1 和 HR2,参与病毒与宿主细胞膜的融合。其 RBD 内的受体结合基序有 4 个变化,均与 SARS-CoV 的 S 蛋白有差别^[11]。此外,有文献^[12]报道 SARS-CoV-2 的 S 蛋白普遍存在 D614G 突变。

2 SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 进入宿主细胞的过程及机制差异性

SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 的复制过程和其他 RNA 病毒大多相似,基本包括棘突蛋白 S 识别宿主受体并附着、膜融合后入侵、脱壳放出遗传物质、RNA 复制、相关蛋白合成、病毒组装和释放等过程。冠状病毒进入宿主细胞大多依赖受体介导,包括多肽类受体中的 CEACAM1、APN、ACE2 和 DPP4 等。研究证实人类 ACE2 是 SARS-CoV-2 的受体^[13]。

2.1 SARS-CoV-2 对宿主细胞 ACE2 受体及其结合域的认识

冠状病毒通过表面 S 蛋白和宿主细胞 ACE2 受体识别并结合,进而发生膜融合实现入侵宿主细胞。ACE2 受体属于 I 型跨膜糖蛋白,其表达十分广泛。ACE2 高表达的组织如肺、心脏、肾、肠道等易受 SARS-CoV-2 的侵袭。文献报道通过 X 射线衍射技术解析了 SARS-CoV-2 表面 S 糖蛋白受体结合区(RBD)与 ACE2 蛋白复合物的晶体结构,准确定位出两者的相互作用位点,SARS-CoV-2 的 S 蛋白 C 末端结合域(CTD)利用其外部子域识别 ACE2 受体中 N 末端结合域(NTD)的子域实现与 ACE2 受体结合^[14]。

进一步研究发现,当病毒接触到宿主细胞时,其表面 S 蛋白的 2 个亚基(S1 和 S2)处于亚稳态,然后 S1 蛋白包含的 RBD 的正电荷与 ACE2 受体的负电荷结合,形成融合蛋白并发生构象变化,RBD 主要通过极性残基被 ACE2 的肽酶结构域(PD)识别,每个 PD 可以容纳一个 RBD。此过程促进病毒膜和宿主细胞膜之间的融合,有利于核衣壳含有病毒的遗传物质进入细胞质^[15-16]。

实时表面等离子体共振(SPR)分析显示,ACE2 与 SARS-CoV-2-CTD 结合区之间的原子相互作用比 SARS-CoV-RBD 高约 4 倍^[15]。最近文献报道,在 S 蛋白所介导病毒进入细胞的过程中,ACE2 和跨膜丝氨酸蛋白酶 2(transmembrane serine proteinase 2, TMPRSS2)共表达是 SARS-CoV-2 进入宿主细胞的关键因素,TMPRSS2 是棘突蛋白 S 的关键激活因子,TMPRSS2 抑制剂就可阻断 SARS-CoV-2 对肺细胞的感染^[17]。除了 ACE2 受体和 TMPRSS2 外,Furin、GRP78、CD147 和溶酶体蛋白酶也参与了病毒的导

入。研究发现,SARS-CoV-2 棘突蛋白可与宿主细胞上的受体 CD147 结合,从而介导病毒入侵^[18]。ZHANG 等^[19]合成针对 SARS-CoV-2 棘突蛋白的多肽粘合剂,该多肽粘合剂通过与受体结构域结合,从而阻止病毒与 ACE2 相互作用。

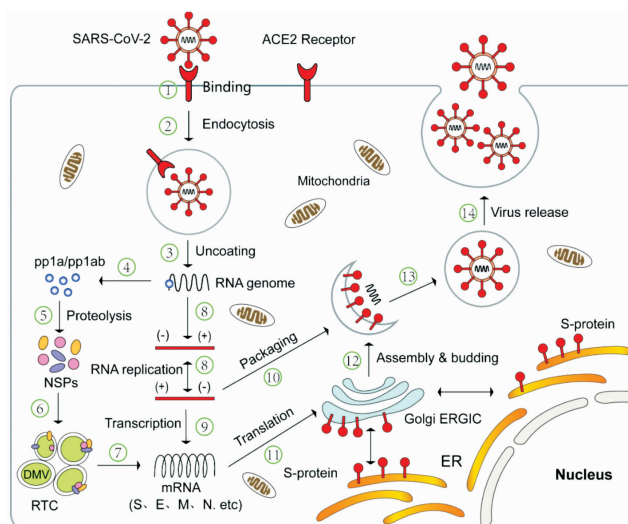
2.2 冠状病毒 S 蛋白切割与膜融合

膜融合通常发生在胞内体(endosomes),融合蛋白的构象转变往往使埋藏的疏水融合肽从核心结构中暴露出来。融合肽插入宿主细胞质膜的外叶并启动膜融合过程。一般情况下,病毒在成功附着到宿主细胞表面后,通过组织蛋白酶(如 TMPRSS2 等)进入宿主细胞内,这一过程依赖于 Furin 酶对 S 蛋白进行的切割^[17,20]。SARS-CoV 棘突蛋白 S 的切割发生在蛋白 S2 结构域的两个不同位置,一个为 S1/S2 切割位点,另一个存在于 S2 近氨基端,称为 S2' 蛋白酶切割位点。第一次切割有助于 RBD 和融合结构域的分离,第二次切割恰好暴露了位于 S2' 切割位点附近的内部融合肽。接着,S2 中的两个七肽重复序列连接在一起,形成一个六螺旋束结构。借助这种螺旋束结构导致的膜融合,病毒基因组被释放到宿主胞浆中^[21-22]。有文献报道,SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 的 S2' 切割位点及紧随其后的内部融合多肽(IFP)序列完全相同^[20]。SARS-CoV-2 的内部融合肽也与 SARS-CoV 相同,具有 P1 和 P2 碱性残基,表明这两种冠状病毒具有共同的病毒融合和进入宿主细胞的机制^[22]。

然而,与 SARS-CoV 的 S 蛋白切割位点不同的是,SARS-CoV-2 病毒的 S1/S2 切割位点上还存在一个保守的 Furin 酶识别位点。Furin 蛋白酶决定病毒进入宿主细胞的效率及其致病性。Furin 蛋白酶识别位点的存在也可能是 SARS-CoV-2 传染性较高的另一个原因^[23]。

2.3 冠状病毒在宿主细胞内的复制过程

病毒经 ACE2 介导进入细胞质后,在其 RNA 依赖性 RdRp 聚合酶作用下,从 3' 开始复制。复制过程既可以产生连续性负链全基因组,也可以产生负链亚基因组 RNAs(-sgRNAs),在这些负链 RNA 基础上进一步合成正链全基因组 RNAs 或 sgRNAs。后者既可作为子代病毒基因组被组装到病毒颗粒中,也可作为 mRNAs 模板合成病毒复制所需的调控蛋白及结构蛋白^[24-25]。见图 1。



注:①-⑭可作为药物干预靶点,其中①②、④-⑭可作为关键靶点

图 1 新冠病毒进入宿主细胞、复制、组装及释放全过程模式图

病毒基因组复制主要由病毒复制酶(如 NSP3、NSP4、NSP6 等)介导,同时还牵涉到多种其他酶类(如酪氨酸蛋白激酶、二氢乳清酸脱氢酶等)及宿主因素的参与。

SARS-CoV-2 的主蛋白酶 Mpro(或 3CLpro)和 RdRp 聚合酶是两个最重要的病毒靶点,新型冠状病毒的复制复合物主要由病毒的非结构蛋白(non-structural protein, NSP)的多亚基转录复合物组成,核心成分主要是 RNA 依赖的 RNA 聚合酶催化亚基(NSP12),而 NSP12 的功能发挥也需要 NSP7 和 NSP8 两个辅因子参与,它们的加入将促进 NSP12 与 RNA 模板的结合,同时也成为了核苷酸类似物例如瑞德西韦(Remdesivir)的作用靶标^[25]。

NSP 属于冠状病毒非结构蛋白,也是病毒复制的关键酶(RNA 聚合酶催化亚基),由多蛋白前体 pp1a 和 pp1ab 切割而成,可诱导宿主细胞膜重排形成双膜小泡(DMV),后者为病毒复制转录复合物提供锚定场所。NSP3 是最大的复制酶亚单位之一,被认为是通过插入宿主细胞膜并与 NSP4、NSP6 等相互作用,易发生点突变^[26],其中的木瓜蛋白酶(PLpro)^[26]是参与 SARS-CoV 复制所必须的过程,因此被认为是开发抗病毒药物的良好靶点。

3 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 所致细胞因子风暴的差异性

促炎因子与抗炎因子之间的平衡是维持机体正常免疫功能和抵抗疾病的关键,也是抗 COVID-19

药物研发的切入点之一。一般认为,非特异性炎症细胞浸润引起的肺组织损伤是急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的核心病理改变,而局部细胞因子过度释放是导致这种病理改变和临床表现的决定性因素。SARS-CoV-2感染人体后,CD4⁺T淋巴细胞被激活,并产生粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等细胞因子,进而诱导CD14⁺、CD16⁺炎性单核细胞过度激活,高度表达白介素-6(IL-6),加剧炎症反应,在体内诱发细胞因子风暴^[27]。早期研究表明,COVID-19患者血清中促炎细胞因子(IL-2、IL-6)水平与肺损伤及病情严重程度呈正相关^[28]。细胞因子风暴也是导致COVID-19患者肺外组织器官损害和功能衰竭(如肝酶、肌酐升高等)的关键因素^[29]。

SARS-CoV-2患者存在IL-1B、IFN- γ 、IP-10和单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的高表达。这些炎症因子可能激活辅助性T细胞1型(Th1)细胞反应^[30]。Th1激活是特异性免疫激活的关键环节。SARS-CoV-2与SARS-CoV感染患者的不同之处在于前者还存在Th2型细胞分泌的抗炎因子(如IL-4和IL-10)水平升高。因此,SARS-CoV-2诱导细胞因子反应与SARS-CoV不同,调节炎症反应、及时控制细胞因子风暴,是提高新冠肺炎患者治疗成功率、降低死亡率的关键步骤。此外,SARS-CoV-2导致的宿主重要病理改变还包括较之其他冠状病毒感染更为严重的T淋巴细胞下降、凝血系统障碍和内皮细胞损伤等。

4 防治 COVID-19 药物的启示

SARS-CoV-2与其同属SARS-CoV相比,既有共性、也有其特殊性。可以根据冠状病毒的共同生物学特性和与宿主相互作用共同规律寻找药物干预靶点,或者从已有抗病毒药物中寻找防治COVID-

19的药物。我们对SARS-CoV-2病毒与宿主细胞相互作用不同阶段的关键靶标进行了总结,详见表1。

4.1 针对 SARS-CoV-2 识别/结合宿主细胞受体环节的药物研发

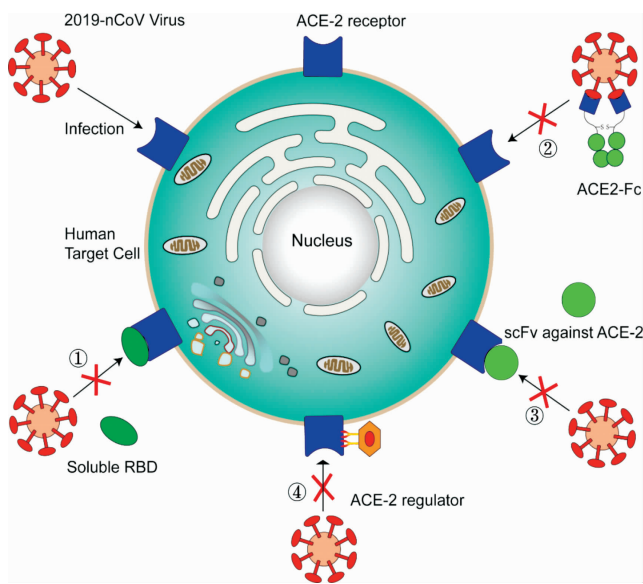
阻断病毒与宿主细胞的结合进入宿主细胞,一方面可以保护宿主免受病毒的感染;另一方面对已经被感染的个体,则能通过阻断病毒从一个细胞进入另一个细胞的过程,可以达到快速清除体内病毒的效果。

ACE2为SARS-CoV-2进入人体细胞的关键靶标。目前,依赖于ACE2靶点阻断SARS-CoV-2治疗COVID-19的药物研发可以选择如下几种策略:(1)筛选特异性化合物通过可溶性受体结合域(RBD)对ACE2受体进行结合阻滞。(2)通过ACE2的单链抗体或小分子核酸进行ACE2受体阻滞。(3)通过ACE2的嵌合人工抗体对SARS-CoV-2进行中和。(4)筛选特异性化合物调节ACE2受体功能(图2)。已知SARS-CoV-2与人ACE2受体结合亲和力的6个相应氨基酸为L455、F486、Q493、S494、N501和Y505。这些发现为基于ACE2靶向SARS-CoV-2识别的特异分子药物筛选提供了重要的基础。

除ACE2外,宿主CD147受体、TMPRSS-2、GRP78、Furin酶等均参与了SARS-CoV-2进入宿主细胞的过程,且在结构或功能上具有SARS-CoV-2靶向特异性,如Furin酶就可以针对SARS-CoV-2棘突蛋白S1/S2切割位点上特殊的Furin识别位点。针对SARS-CoV-2棘突蛋白的多肽黏合剂通过与受体结构域结合调控ACE2功能,也可阻止病毒与ACE2的相互作用。文献报道,很多中药活性成分如白藜芦醇(resveratrol)、槲皮苷(querctetin)、木犀草素(luteolin)、柚皮素(naringenin)、姜黄素(curcumin)、没

表1 SARS-COV-2与宿主细胞相互作用不同阶段的关键靶标

阶段	关键靶标
与宿主细胞受体识别、融合阶段	S蛋白(特别是RBD),ACE2受体,跨膜丝氨酸蛋白酶2(TMPRSS2),Furin酶及识别位点,GRP78,CD147。
复制、修饰、组装、释放阶段	多蛋白前体蛋白(pp1a和pp1ab);RdRp聚合酶;蛋白水解酶:主蛋白酶(Mpro或3CLpro),NSP3,NSP12,木瓜蛋白酶(PLpro,NSP之一),酪氨酸蛋白激酶,二氢乳清酸脱氢酶。
诱导宿主细胞免疫应答和细胞(炎症)因子风暴阶段	B细胞;T细胞(如CD4 ⁺ T、CD16 ⁺ T、Th1/2细胞);S蛋白D614G突变;S21P2、S14P5表位;致炎因子:GM-CSF,MCP-4,IL-6,IFN- γ ;抗炎因子:IL-4,IL-10。
其他过程(血管内皮细胞损伤、凝血等)	VEGF,PGFs,凝血因子等。



注:①阻断病毒受体结合域与 ACE2 受体结合;②单链抗体小分子或核酸阻滞 ACE2 受体;③通过嵌合人工抗体,中和 SARS-CoV-2;④通过特异性化合物调节 ACE2 受体功能

图 2 依赖于 ACE2 靶点阻断 SARS-CoV-2 治疗 COVID-19 的途径

食子酸(gallic acid)能抑制 ACE2 受体介导的 SARS-CoV-2 黏附作用^[31]。因此,针对上述靶点从现有候选

化合物或中药中筛选特异性高、作用强的药物,是应优先考虑的策略。如利用核酸适配体可望筛选出特异性针对 ACE2、CD147 受体、TMPRSS-2、GRP78、Furin 酶等靶点的抗 SARS-CoV-2 的药物。

4.2 针对 SARS-CoV-2 在宿主细胞内复制、组装环节的药物研发

针对 SARS-CoV-2 复制环节的药物主要是蛋白酶抑制剂(如 RNA 聚合酶抑制剂、主蛋白酶 Mpro/3CLpro 抑制剂),包括核酸类似物、单克隆抗体、氯喹及其衍生物等(表 2)。但冠状病毒是病毒中种类最多,变异最快的病原体之一,因此,有待研发 SARS-CoV-2 针对性更强的抗病毒药物,特别是针对 RbRp、Mpro、3CLpro 的强效特异抑制剂。

4.3 针对 SARS-CoV-2 诱导宿主炎症反应及细胞因子风暴环节的药物研发

炎症应激、细胞因子风暴是 COVID-19 的严重病理改变。参与的炎症因子包括 IL-6、GM-CSF、MCP-1、IFN- γ 、IL-10、IL-4 等。其中 IL-6 是最主要

表 2 抗病毒复制药物分类及作用机制

分类及代表药物	作用机制/靶点	干扰环节	其他类似作用或类似物	参考文献
核苷酸类似物				
瑞德西韦(Remdesivir)	RNA 依赖性 RNA 聚合酶 (如 RbRp、NSP12 亚单位)	病毒复制	法维吡伟(Favipiravir)	25、32、33、34
利巴韦林(Ribavirin)			索非布韦(Sofosbuvir)	
法匹拉韦(Favipiravir)			维帕他韦(Velpatasvir) 加利司伟(Galidesivir)	
蛋白酶抑制剂				
洛匹那韦(Lopinavir)	抑制主蛋白酶(3CLpro)	病毒复制	黄芩苷(Baicalin)	33、35、36
利托那韦(Ritonavir)			槲皮苷(Quercetin)	
达芦那韦(Darunavir)				
α -酮酰酶	抑制主蛋白(MPro)	病毒复制、翻译	肉桂酰胺(Cinanserin)	37
依布硒啉(Ebselen)	抑制木瓜蛋白酶样蛋白酶 (PLpro)	病毒复制	卡莫氟(Carmofur)	38、39
巴瑞替尼(Baricitinib)	抑制酪氨酸蛋白酶,如 AP2 相关蛋白激酶-1(AKK-1)	病毒组装	厄洛替尼(Erlotinib) 伊马替尼(Imatinib) 舒尼替尼(Sunitinib)	40
环索奈德(Ciclesonide)	抑制核酸内切酶	病毒复制	属于核酸类似药	41
来氟米特(Leflunomide)	抑制二氢乳清酸脱氢酶	病毒复制、转录	与特立氟胺(Teriflunomide)合用发挥广谱抗病毒作用。	42
其他				
氯喹(Chloroquine)	调节宿主细胞 pH 值,干扰受体作用,阻断糖蛋白	病毒复制、组装	硝唑尼特(Nitazoxanide)	43、44
羟氯喹(Hydroxychloroquine)				
硫酸羟氯喹 (Hydroxychloroquine sulfate)				
阿比多尔(Arbidol)	激活 2,5 寡聚腺苷酸合成酶	病毒复制	也可阻断糖蛋白,干扰病毒-宿主融合。	45

注:广义上说, RNA 聚合酶、核酸内切酶都是蛋白酶。因此,抗病毒复制药除了单抗外,大都属于蛋白酶抑制剂。为了便于理解,此表将核苷类药物单独作为一类列出

的致炎因子,IL-10和IL-4是主要的抗炎因子,应成为药物研发的主要关注靶标。

IL-6在细胞因子释放综合征中起重要作用,IL-6受体阻滞剂Kevzara、托珠单抗(Tocilizumab)和GM-CSF抑制剂均能有效阻断IL-6信号转导通路,有望成为治疗COVID-19的有效药物^[46]。

4.4 利用中药资源研发治疗COVID-19的特异性药物

中医药在抗新冠病毒感染方面具有较独特优势。中医药《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[47]建议:COVID-19属于中医学“疫”病范畴,病因为感受“疫戾”之气,治疗方案中医学观察期推荐中成药如藿香正气胶囊、金花清感颗粒、连花清瘟胶囊、疏风解毒胶囊,临床治疗期推荐以清肺排毒汤作为通用处方。文献报道,中药活性成分黄芩苷、槲皮苷具有抑制主蛋白酶(3CL^{pro})的作用^[51]。

基于前面对SARS-CoV-2和SARS-CoV生物学特性的比较分析,在未来防治COVID-19新药研发方面,也许可采用如下思路:(1)选择具有明确抗病毒作用的经方或药材,如清肺排毒汤、麻杏石甘汤、小柴胡汤、玉屏风散、大青龙汤、莲花清温颗粒、银花清感胶囊等经方,或甘草、金银花、黄芩、连翘、杏仁、陈皮、鱼腥草、麻黄、板蓝根、黄芪、柴胡、广藿香、黄连等药材,结合微流控质谱联用高通量筛选技术,明确抗病毒有效成分类别或有效成分组合,并建库。(2)采用核酸适配体技术,分别筛选建立针对病毒感染各环节关键靶标的核酸适配体库和针对抗病毒中药有效成分(特别是有效基团)的核酸适配体库;利用GFP/mRFP双荧光标记技术,结合大数据、云计算,对关键靶标与有效成分(特别是重要基团)、成分组合进行关联性分析及验证。(3)采用合成生物学技术,对从中药中获得的抗病毒作用肯定、作用靶点明确、分子结构特异但含量低微的有效成分,进行生源合成途径解析,并探索生物合成(包括构建以植物细胞和工程菌为底盘的生物合成体系)的可能性。通过上述现代技术手段结合中医药学经典,研发出具有中医药特色的防治COVID-19的创新性药物。并为未来可能出现的新的病原尤其是病毒类疾病的中药研发,建立可借鉴的技术平台,

促进中医药现代化。

此外,针对SARS-CoV-2的单克隆抗体(特别是中和单克隆抗体)也是治疗感染性疾病的一种新手段。目前,已有多个针对SARS-CoV-2的中和性单克隆抗体正在研究中,部分已开始I期临床试验。包括:针对SARS-CoV-2棘突蛋白S的中和性单克隆抗体、可竞争性抑制S蛋白与CD147受体结合的人源化抗体美珀珠单抗以及托珠单抗^[18,27]。

5 小结与展望

由于SARS-CoV-2是一种新型冠状病毒,其生物学特性与MERS、SARS-CoV存在很大差异,其感染过程、病理改变及临床表现与SARS-CoV也有明显差别,本文通过详细比较SARS-CoV-2与SARS-CoV的主要生物学特征异同,归纳总结了参与上述过程的关键靶点,提出了针对这些靶点开发中药源性特异性药物的建议,以期为未来研发防治COVID-19新药提供思路。

参考文献

- [1] World Health Organization. Statement on the second meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV) [EB/OL]. (2020-01-31)[2020-07-10].[https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov)).
- [2] MALIK Y S, SIRCAR S, BHAT S, et al. Emerging novel coronavirus (2019-nCoV)-current scenario, evolutionary perspective based on genome analysis and recent developments[J]. The Veterinary Quarterly, 2020, 40(1):68-76.
- [3] 朱静媛,李庆波,丁记者,等.SARS-CoV、SARSL-CoV与其他冠状病毒的种系发生分析[J].中华疾病控制杂志,2016,20(02):107-111.
- [4] GUARNERJ. Three Emerging Coronaviruses in Two Decades[J]. American Journal of Clinical Pathology, 2020, 153(4): 420-421.
- [5] REN L L, WANGYM, WU Z Q, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: A descriptive study[J]. Chinese Medical Journal, 2020, 133(9): 1015-1024.
- [6] 伦永志,刘奔,董雯,等.两种严重急性呼吸综合征冠状病毒S蛋白结构特征及抗原表位比较[J].浙江大学学报:医学版,2020(3): 315-323.
- [7] LU R, ZHAO X, LI J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus ori-

- gins and receptor binding[J]. *Lancet*, 2020, 395(10224):565-574.
- [8] CHEN Y, LIU Q, GUOD. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis[J]. *Journal of Medical Virology*, 2020, 92(4): 418-423.
- [9] KANDEELM, IBRAHIMA, FAYEZM, et al. From SARS and MERS CoVs to SARS-CoV-2: Moving toward more biased codon usage in viral structural and nonstructural genes[J]. *Journal of Medical Virology*, 2020, 92(6): 660-666.
- [10] KE Z, OTON J, QU K, et al. Structures and distributions of SARS-CoV-2 spike proteins on intact virions[J]. *Nature*, 2020, 10.1038/s41586-020-2665-2.
- [11] 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]. *BioRxiv 2020*.doi: <https://doi.org/10.1101/2020.01.22.914952>.
- [12] HU J I E, HE C L, GAO Q Z, et al. The D614G mutation of SARS-CoV-2 spike protein enhances viral infectivity and decreases neutralization sensitivity to individual convalescent sera[J]. *BioRxiv 2020*.<https://doi.org/10.1101/2020.06.20.161323>.
- [13] LAN J, GE J, YU J, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor[J]. *Nature*, 2020,581(7807):215-220.
- [14] LAN J, GE J, YU J, et al. Crystal structure of the 2019-nCoV spike receptor-binding domain bound with the ACE2 receptor [J]. *BioRxiv*. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.19.956235>.
- [15] WANG Q, ZHANG Y, WU L, et al. Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2[J]. *Cell*, 2020,181(4):894-904.
- [16] YANG J, WANGW, CHENZ, et al. A vaccine targeting the RBD of the S protein of SARS-CoV-2 induces protective immunity[J]. *Nature*, 2020,10.1038/s41586-020-2599-8.
- [17] HOFFMANN M, KLEINE-WEBER H, SCHROEDER S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor[J]. *Cell*, 2020, 181(2): 271-280.
- [18] WANG K, CHEN W, ZHOU Y S, et al. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein[J]. *BioRxiv*, 2020.<https://doi.org/10.1101/2020.03.14.988345>.
- [19] ZHANG G W, POMPLUN S, LOFTIS A R, et al. The first-in-class peptide binder to the SARS-CoV-2 spike protein[J]. *BioRxiv 2020*. <https://doi.org/10.1101/2020.03.19.999318>.
- [20] COUTARD B, VALLE C, LAMBALL ERIE X, et al. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade[J]. *Antiviral Research*, 2020, 176: 104742.[doi:10.1016/j.antiviral.2020.104742](https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104742).
- [21] MADU I G, ROTH S L, BELOUZARD S, et al. Characterization of a highly conserved domain within the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein S2 domain with characteristics of a viral fusion peptide[J]. *Journal of Virology*, 2009, 83(15): 7411-7421.
- [22] LIU S, XIAO G, CHEN Y, et al. Interaction between heptad repeat 1 and 2 regions in spike protein of SARS-associated coronavirus: Implications for virus fusogenic mechanism and identification of fusion inhibitors[J]. *Lancet*, 2004, 363(9413): 938-947.
- [23] LI W. Delving deep into the structural aspects of a furin cleavage site inserted into the spike protein of SARS-CoV-2: A structural biophysical perspective[J]. *Biophysical Chemistry*, 2020, 264: 106420.
- [24] HILLEN H S, KOKIC G, FARNUNG L, et al. Structure of replicating SARS-CoV-2 polymerase[J]. *Nature*, 2020, 584(7819): 154-156.
- [25] YIN W, MAO C, LUAN X, et al. Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir[J]. *Science*, 2020, 368(6498): 1499-1504.
- [26] JAIN R P, PETERSSON H I, ZHANG J, et al. Synthesis and evaluation of keto-glutamine analogues as potent inhibitors of severe acute respiratory syndrome 3CLpro[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, 47(25): 6113-6116.
- [27] ZHOU Y G, FU B Q, ZHENG X H, et al. Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patients[J]. *National Science Review*, 2020. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa041>.
- [28] YE Q, WANG B, MAO J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19[J]. *The Journal of Infection*, 2020, 80(6): 607-613.
- [29] MEHTA P, MCAULEY D F, BROWN M, et al. COVID-19: Consider cytokine storm syndromes and immunosuppression [J]. *Lancet*, 2020, 395(10229): 1033-1034.
- [30] CHEN N, ZHOU M, DONG X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study[J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 507-513.
- [31] MAURYA V K, KUMAR S, PRASAD A K, et al. Structure-based drug designing for potential antiviral activity of selected natural products from Ayurveda against SARS-CoV-2 spike glycoprotein and its cellular receptor[J]. *Virusdisease*, 2020, 31(2): 179-193.
- [32] LU H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV) [J]. *Biosci Trends*, 2020, 14(1): 69-71.
- [33] CHEN C, ZHANG Y, HUANG J Y, et al. Favipiravir versus Arbidol for COVID-19: A randomized clinical trial[J]. *MedRxiv*,

2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.17.20037432>.
- [34] SHEAHAN T P, SIMS A C, ZHOU S T, et al. An orally bioavailable broad-spectrum antiviral inhibits SARS-CoV-2 and multiple endemic, epidemic and bat coronavirus[J]. *BioRxiv*, 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.19.997890>.
- [35] NASCIMENTO JUNIOR J A C, SANTOS A M, QUINTANS-JUNIOR L J, et al. SARS, MERS and SARS-CoV-2 (COVID-19) treatment: A patent review[J]. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2020, 30(8): 567-579.
- [36] UZUNOVA K, FIH POVA E, PAVLOVA V, et al. Insights into antiviral mechanisms of remdesivir, lopinavir/ritonavir and chloroquine/hydroxychloroquine affecting the new SARS-CoV-2[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020,131:110668.
- [37] ZHANG L L, LIN D Z, SUN X Y Y, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors[J]. *Science*, 2020, 368(6489): 409-412.
- [38] SIES H, PARNHAM M J. Potential therapeutic use of ebselen for COVID-19 and other respiratory viral infections[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2020, 156: 107-112.
- [39] SWAIM C D, PERNG Y C, ZHAO X, et al. 6-Thioguanine blocks SARS-CoV-2 replication by inhibition of PLpro protease activities[J]. *BioRxiv* doi: 10.1101/2020.07.01.183020. Preprint.
- [40] RICHARDSON P, GRIFFIN I, TUCKER C, et al. Baricitinib as potential treatment for 2019-nCoV acute respiratory disease[J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): E30-E31.
- [41] JEON S, KO M, LEE J, et al. Identification of antiviral drug candidates against SARS-CoV-2 from FDA-approved drugs[J]. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020 Jun 23, 64(7): e00819-20.
- [42] HU K, WANG M, ZHAO Y, et al. A small-scale medication of leflunomide as a treatment of COVID-19 in an open-label blank-controlled clinical trial[J]. *Virologica Sinica*, 2020, 21: 1-9.
- [43] WANG M L, CAO R Y, ZHANG L K, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro[J]. *Cell Research*, 2020, 30(3): 269-271.
- [44] PISZCZATOSKI C R, POWELL J. Emergency Approval of Chloroquine and Hydroxychloroquine for Treatment of COVID-19[J]. *Annals of Pharmacotherapy*, 2020, 54(8): 106002802092555.
- [45] 张菊,方峰.非核苷类抗病毒药物阿比多尔的研究进展[J].*中国循证儿科杂志*,2011,6(4):308-312.
- [46] ZHANG C, WU Z, LI J W, et al. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2020, 55(5): 105954.
- [47] 中华人民共和国国家卫生健康委员会.新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL].(2020-03-20)[2020-07-12].<http://ghs.satcm.gov.cn/gongzuodongtai/2020-03-20/14089.html>.

(本文编辑 苏维)