

· 综 述 ·

抗流行性感病毒药物研究进展

朱艳慧, 刘雅琳, 祝侠丽, 蔡邦荣, 贾永艳
(河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046)

摘要: 流行性感(流感)是由流感病毒引起的传染性呼吸道疾病。虽然接种疫苗是减轻流感流行的有效手段,但面对新的大流行病毒的传播和复杂住院流感患者,抗流感病毒药物的应用必不可少。目前,正处于非临床和临床研究阶段的抗流感病毒药物主要包括血凝素抑制剂、M2 离子通道蛋白抑制剂、RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RdRp)抑制剂和神经氨酸酶抑制剂等。与其他 3 种抑制剂相比,RdRp 抑制剂可快速降低病毒载量,具有广谱抗病毒作用,且不易产生耐药性,但其临床疗效需进一步评估。神经氨酸酶抑制剂是防治流感的常用药物。本文综述抗流感病毒药物的抗病毒活性、作用机制和临床应用的研究进展,以期为研发具有广谱活性的新型抗流感病毒药物提供参考。

关键词: 流行性感; 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-(2022)02-0129-12

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2022.02.007

流行性感(流感)是由流感病毒引起的传染病,具有高发病率和高死亡率的特点。流感病毒可借助空气迅速传播,引起呼吸道感染,免疫缺陷患者感染易患严重的并发症,如肺炎或急性呼吸衰竭等^[1]。据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)2019 年报道,全球每年估计有 10 亿流感病例,其中 300 万~500 万重症病例,29 万~65 万死亡病例^[2]。接种疫苗是减轻流感流行的有效手段,但儿童、老年人、慢性呼吸道疾病患者和孕妇等易感人群易出现严重并发症,需及时使用抗病毒药物治疗降低该风险。另外,疫苗研发具有滞后性,有效的抗病毒药物治疗可延迟或阻断病毒传播^[3]。目前,直接靶向流感病毒蛋白或基因及靶向参与病毒复制和传播的关键宿主因子是抗流感病毒药物研发的有效策略^[4]。

流感病毒属于正黏病毒科(Orthomyxoviridae)家族,是分节段单链反义 RNA 病毒。根据病毒基质蛋白 1(matrix 1, M1)和核蛋白的抗原性,可将流感病毒分为甲型(influenza A virus, IAV)、乙型(influenza B virus, IBV)、丙型(influenza C virus, ICV)和丁型(influenza D virus, IDV)。IAV 根据其表面糖蛋白血凝素(hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶

(neuraminidase, NA)的分子特征又可分为不同亚型,迄今鉴定的有 18 种 HA 亚型(H1~H18)和 11 种 NA 亚型(N1~N11)^[5]。IAV 可感染人、动物和禽类等多种物种,易受到抗原变异的影响。抗原变异与表面蛋白 HA 和 NA 的变化有关,通常被归类为抗原漂移(antigenic drift)或抗原转变(antigenic shift)。抗原漂移包括 HA 或 NA 蛋白的小的、渐进的氨基酸取代,这可能导致流感小规模暴发。当 HA 或 NA 蛋白发生显著变化时,抗原转变就会产生新的流感病毒亚型,有可能引起流感大规模流行;而每个流感病毒亚型都同时编码 HA 和 NA 蛋白(如 H3N2 和 H5N1)^[6]。

图 1 为流感病毒依靠宿主细胞进行复制涉及的多个步骤^[7]。HA 与细胞表面的唾液酸(sialic acid, SA)受体结合后,病毒颗粒被内吞进入细胞,形成内吞体。此时,离子通道蛋白 M2 被激活,离子通道打开,允许 H⁺ 进入病毒;pH 值降低到 5.0 时,内吞体膜与病毒包膜融合,病毒粒子中的病毒 RNA(viral RNA, vRNA)被释放到细胞质中(脱壳)。vRNA 与 RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)被输运到细胞核进行转录和复制。合成的 RNA 不含 mRNA 所必需的帽子(Cap)结构,RdRp 的 Cap 依赖性内切酶将宿主 mRNA 的 Cap 结构切除并转移到 vRNA 上,形成病毒 mRNA(抢帽反应)。vRNA 被转录成 mRNA,用于产生病毒蛋白,并通过互补 RNA(complementary RNA, cRNA)

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题(20-21ZY2147);

河南中医药大学科研启动基金(RSBSJJ2019-08)

作者简介: 朱艳慧, 博士, 讲师, 主要从事药理学研究。

通讯作者: 贾永艳, E-mail: hnzyjyy@126.com

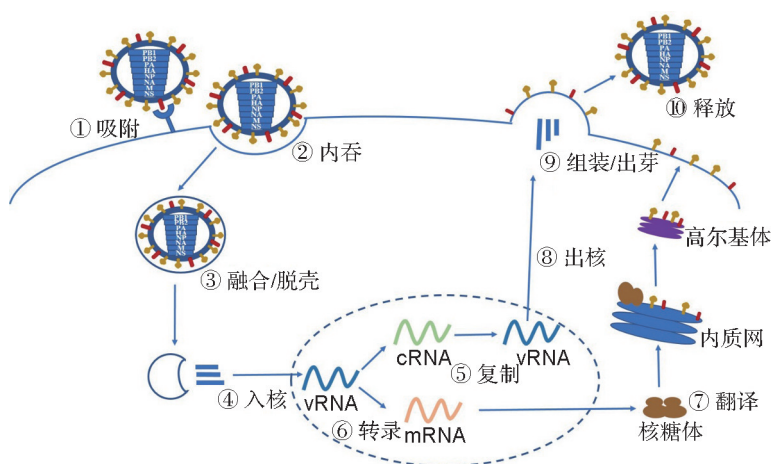


图 1 流行性感冒(流感)病毒复制周期^[7]. vRNA: 病毒 RNA; cRNA: 互补 RNA.

进行复制。病毒蛋白和 RdRp-RNA 复合物形成病毒颗粒,随后从细胞膜上出芽。从细胞表面生长出来的病毒颗粒上的 HA 与被感染细胞表面的 SA 受体结合,NA 通过水解 SA 受体释放出病毒颗粒,成为具有感染力的新病毒。

截至 2020 年,美国和日本已批准用于临床治疗的主要抗流感病毒药物见表 1。其中,美国疾病控制与预防中心(Centers for Disease Control and Prevention)推荐奥司他韦(oseltamivir, Tamiflu)、扎那米韦(zanamivir, Relenza)、帕拉米韦(peramivir, Rapivab)和巴洛沙韦(baloxavir marboxil, S-033188, Xofluza)用于治疗急性无并发症的非妊娠期门诊流感患者^[8];拉尼米韦(laninamivir, Inavir)和法匹拉韦(favipiravir, T-705, Avigan)在日本被批准作为抗流感药物^[9-10]。

目前,正处于非临床和临床研究阶段的抗流感病毒药物主要包括 HA 抑制剂、M2 离子通道蛋白抑制剂、RdRp 抑制剂和神经氨酸酶抑制剂等。本文综述抗流感病毒药物的抗病毒活性、作用机制和临床应用的研究进展,以期为研发具有广谱活性的新型抗流感病毒药物提供参考。

1 靶向血凝素的抗流感病毒药物

流感病毒 HA 不但介导与 SA 受体的结合,还参与病毒包膜与内吞体膜的融合。HA 分子作为同源三聚体聚集在病毒粒子表面形成外部尖峰,具有高度的 α 螺旋二级结构,处于亚稳态,疏水融合肽隐藏在分子的底部^[11]。HA 蛋白形成膜远端口袋作为结合位点,构成袋子的氨基酸残基通过氢键和范德华

表 1 截至 2020 年已批准用于临床治疗的主要抗流感病毒药物

药物	作用靶点	给药途径	适用患者	批准时间
奥司他韦	NA	口服	治疗:任何年龄 预防:成人和儿童(≥ 3 月龄婴儿)	2000年(美国FDA)
扎那米韦	NA	吸入	治疗:成人和青少年(≥ 7 岁) 预防:成人和青少年(≥ 5 岁)	1999年(美国FDA)
帕拉米韦	NA	静脉注射	治疗:成人和儿童(≥ 2 岁) 预防:不推荐	2010年(美国FDA)
巴洛沙韦	PA	口服	治疗:成人和青少年(≥ 12 岁) 预防:不推荐	2018年(美国FDA)
拉尼米韦	NA	吸入	治疗:任何年龄 预防:任何年龄	2010年(日本)
法匹拉韦	PB1	口服	治疗:成人 预防:不推荐	2014年(日本 Restrict)

NA: 神经氨酸酶; PA: 酸性聚合酶; PB: 碱性聚合酶; FDA: 食品药品监督管理局.

力与宿主细胞膜上 SA 受体相互作用进入细胞内。HA1(重链)是宿主细胞受体结合的关键位点;而 HA2(轻链)是体内融合的关键位点^[12]。在内吞体低 pH 环境下,HA 发生构象变化,HA 前体(HA0)经剪切后形成 HA1 和 HA2,将埋藏的 HA2 融合肽挤压到 HA 分子的远端。新形成的 HA2 N 端融合肽插入内吞体膜导致两膜合并,形成明显的半融合中间体,然后形成融合孔,病毒核糖核蛋白复合体从内吞体通过融合孔释放到细胞质中^[13]。

目前,抑制 HA 与 SA 受体的结合阻断病毒感染是抗流感病毒药物研发的重要策略。根据其靶标不同,抑制病毒吸附的抗流感病毒药物可分为 4 类(表 2)。

1.1 血凝素前体糖基化抑制剂

HA0 的头区在几个位置有大量糖基化。HA 的糖基化与受体结合特异性、毒力、传导性和抗体免疫应答有关。硝唑尼特(nitazoxanide)是噻唑内酯类抗感染药物,用于治疗儿童和成人隐孢子虫和蓝氏贾第鞭毛虫引起的肠炎,其活性循环代谢物替唑尼特(tizoxanide)对多种流感病毒株均具有抗病毒活性^[14]。硝唑尼特可通过阻断 HA 末端糖基化和损害内质网和高尔基体之间的 HA0 转运对 H1N1 具有抗病毒活性。噻唑内酯类在翻译后水平通过选择性阻断 HA 在抗糖苷内切酶 H 消化之前阶段的成熟,从而损害 HA 细胞内转运及插入宿主细胞膜,这是病毒正确组装和从宿主细胞释放的关键步骤。目前,硝唑尼特在美国已完成治疗≥12 岁无并发症流感患者的 III 期临床试验(NCT03336619)^[15]。衣霉素(tunicamycin)是一种核苷类抗生素,具有 N-糖基化抑制作用,具有广谱抗病毒作用,但细胞毒性限制了其应用;而 IW3 和 IW7(2-脱氧尿苷衍生物)

靶向病毒糖蛋白成熟过程中的多糖加工步骤,对 IAV 复制有较强的抑制作用^[16]。

1.2 血凝素前体裂解抑制剂

蛋白酶将 HA0 裂解为 HA1 和 HA2 是病毒融合的第一步。在体外实验中,需要将胰蛋白酶添加到细胞培养基中,促进流感病毒感染。因此,蛋白酶抑制剂是一种有效的抗病毒策略。抑肽酶能抑制引起流感病毒激活的丝氨酸蛋白酶,俄罗斯已批准抑肽酶作为抗流感药物,雾化吸入用于治疗轻度到中度流感;静脉滴注用于治疗严重流感减少全身病理学和炎症反应^[17]。丝氨酸蛋白酶抑制剂亮抑蛋白酶肽(leupeptin)^[18]和卡莫司他(camostat)^[19]均可抑制 HA0 裂解,并通过作用于 HA 裂解位点上的单一精氨酸限制人类和禽流感病毒的繁殖。最近,卡莫司他又被用于治疗新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)^[20]。6-氨基己酸在儿童患者中可缩短流感病毒抗原在鼻咽上皮中的持续时间,并将流感症状的持续时间缩短至原时间的 2/3 ~ 1/2,其吸入给药可发挥最有效的抗病毒作用和治疗效果^[21]。但选择一种蛋白酶抑制剂只特异性地作用于 HA 的裂解而不影响其他细胞蛋白酶,这是需要解决的一项难题。

1.3 血凝素吸附抑制剂

流感病毒通过 HA 与宿主细胞表面含 SA 低聚糖的糖蛋白和糖脂结合而引起感染,可通过去除 SA 受体或保护 SA 受体 2 个途径阻止病毒吸附,阻止其与 HA 结合。DAS181(流感酶)是一种 46 ku 的重组蛋白,由细菌 SA 酶催化域和黏膜细胞表面锚定序列组成,可切断分别表达在人上呼吸道和下呼吸道的 SA α -2,6 半乳糖受体和 α -2,3 半乳糖受体与宿主细胞表面的连接。在一项评估 DAS181 对季

表 2 靶向血凝素(HA)的抗流感病毒药物

种类	名称	靶点	作用机制	文献
HA 前体糖基化抑制剂	硝唑尼特	HA 前体	在翻译后阶段阻断 HA 的成熟	[14]
	IW3, IW7	HA, NA	抑制病毒糖蛋白成熟过程中的多糖加工步骤	[16]
HA 前体裂解抑制剂	抑肽酶	HA 前体	抑制 HA 前体裂解成亚基 HA1	[17]
	卡莫司他	HA 前体	抑制 HA 前体裂解成亚基 HA1	[19]
HA 吸附抑制剂	DAS181	唾液酸受体	移除呼吸道上皮细胞表面唾液酸受体	[22]
HA 膜融合抑制剂	MBX2546	HA 茎区	与 HA 蛋白结合,阻止融合	[23]
	BMY-27709	HA2	阻断 H1 和 H2 亚型病毒的融合	[24]
	叔丁基对苯二酚	HA2	稳定 HA 中性 pH 结构,抑制 H3 亚型病毒膜融合	[27]
	阿比多尔	HA 茎区	结合在 HA 茎区的疏水腔中,稳定 HA 预融合构象,抑制早期膜融合	[25]

节性和大流行流感病毒感染疗效的完整 II 期临床试验中, DAS181 以每天 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的吸入剂量连续给药 5 d, 可显著降低流感病毒滴度^[22]。

1.4 血凝素膜融合抑制剂

HA 作为一种病毒包膜蛋白, 在病毒遗传物质进入感染细胞的细胞质过程中发挥重要作用。通过改变 pH 环境, 阻止 HA 构象变化干预膜融合过程。MBX2546 是一种(H1 和 H5 亚型)IAV 抑制剂, 通过直接结合 HA 蛋白的茎区, 靶向 HA 介导的病毒宿主膜融合。由于 MBX2546 与 HA 蛋白稳定结合, 阻止了 pH 改变诱导融合所需的构象变化^[23]。BMY-27709 含有水杨酸酰胺骨架结构, 可作为“分子胶”来抑制 HA2 融合肽的移动, 阻断 HA 介导的融合过程, 在感染早期发挥抗流感病毒作用, 并且只对 H1 和 H2 亚型病毒有效, 对 H3 亚型病毒无效^[24]。阿比多尔 (umifenovir, Arbidol) 是一种广谱抗病毒药物, 可抑制多种包膜和非包膜病毒, 如流感病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒、柯萨奇 B5、副流感病毒、埃博拉病毒以及乙型和丙型肝炎。阿比多尔结合在 HA 三聚体茎区的疏水腔中, 通过分子胶作用稳定 HA 的预融合构象, 在内吞体的低 pH 值环境中抑制与膜融合相关的构象重排, 可用于治疗由 IAV 和 IBV 引起的上呼吸道感染。在俄罗斯和中国, 阿比多尔主要作为非处方药物用于预防和治疗包括流感在内的急性呼吸道感染^[25]。目前, 在中日友好医院正在进行阿比多尔与奥司他韦联合用药治疗 ≥ 16 岁严重流感患者的 III 期临床试验 (NCT03787459)^[26]。但阿比多尔主要缺点是必须使用大剂量才能达到血浆浓度峰值和治疗效果, 临床使用较少。另外, 苯并醌类和对苯二酚类化合物可抑制低 pH 诱导的 HA 构象变化。这些化合物还可抑制病毒诱导的胞体形成、HA 介导的溶血和体外病毒感染。作用最强的叔丁基对苯二酚抑制 H3N2 病毒 HA 的构象变化, 抑制体外培养细胞病毒感染的 IC_{50} 值为 $5 \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[27]。司他弗林 (stachyflin) 类化合物、罗汉松酸类衍生物和六氢吡啶类衍生物均可通过抑制低 pH 诱导的 HA 构象变化发挥抗流感病毒活性^[28], 但当流感病毒 HA 糖基化缺失或减少时此类药物的抗流感活性会降低。

2 靶向离子通道蛋白 M2 的抗流感病毒药物

IAV 和 IBV 含有不同的包膜蛋白, 分别是 AM2 和 BM2, 发挥质子通道作用。流感病毒通过内吞作用进入感染的细胞后, 包含在内吞体中的病毒粒子

必须酸化才能脱壳将遗传物质释放到细胞质中。AM2 和 BM2 是同源四聚体组成的 III 型跨膜蛋白, 由 N 端胞外区、单跨膜区和 C 端胞内尾区组成。AM2 和 BM2 除跨内膜区残基 HXXXW 有相同之处, 其他一级序列差异较大^[29]。M2 跨膜区的四聚体形成门控离子通道, 当胞外区暴露于酸性环境时通道打开, 选择性透过质子进入病毒颗粒内。病毒内 pH 降低促进病毒包膜与内吞体膜的融合, 病毒核糖核蛋白复合体与 M1 解离然后进入宿主细胞核进行转录和复制。由于 M2 离子通道不仅可在病毒进入细胞后平衡病毒内 pH, 而且在病毒成熟期间平衡高尔基体膜 pH, 因此 M2 离子通道可作为有效的抗流感病毒靶标^[30]。M2 离子通道抑制剂可通过破坏螺旋结构的稳定性阻断质子跨膜转运, 发挥药理学活性, 主要有金刚烷胺和金刚乙胺及非金刚烷胺衍生物。

2.1 金刚烷胺和金刚乙胺

金刚烷胺是 1966 年批准用于治疗 IAV 感染的第一个抗病毒化合物, 其通过 M2 蛋白通道阻断 H^+ 转运进入病毒颗粒内部, 从而防止病毒颗粒脱壳。金刚烷胺被发现后, 金刚乙胺及金刚烷胺衍生物被合成^[31]。但只有金刚烷胺和金刚乙胺获准用于成人患者, 它们对儿童和老年人 IAV 感染的预防、治疗或缩短病程无效。金刚烷胺和金刚乙胺可抑制 AM2 离子通道而不抑制 BM2, 所以两者只能抑制 IAV 而不抑制 IBV。近年来, 金刚烷胺很少使用, 因为 M2 蛋白中第 31 位的氨基酸由丝氨酸突变为天冬酰胺, 导致其在甲型 H1N1 毒株 [A (H1N1)] pdm09 和 A (H3N2) 中普遍存在耐药性^[32]。

2.2 非金刚烷胺衍生物

多胺类化合物如精胺、亚精胺和腐胺通常被认为是钾离子通道的内在整流器, 并与通道孔衬里和侧面的酸性氨基酸残基相互作用。与金刚烷胺的结合位点不同, M2 蛋白也具有多胺的结合位点, 该位点通常被 Na^+ 掩蔽, 可作为选择性抗病毒抑制剂靶点^[33]。螺哌啶类及其衍生物对金刚烷胺耐药病毒株具有抗病毒活性, 以螺哌啶-9 作用最为显著。天然产物中, 派那胺 (pinanamine) 衍生物和阿魏酸乙酯 (24-E-ferulate) 具有良好的抗流感活性^[6]。

3 靶向 RNA 依赖性 RNA 聚合酶的抗流感病毒药物

流感病毒的转录和复制是由 RdRp 复合物催化完成的。流感病毒 RdRp 复合物是一种由酸性聚合酶 (polymerase acidic protein, PA)、碱性聚合酶 1

(polymerase basic protein 1, PB1) 和 PB2 3 个亚基组成的异源三聚体,以 vRNA 为模板,在转录过程中合成含有 Cap、多聚腺苷酸化的 mRNA,在复制过程中合成 cRNA 和 vRNA^[34]。PB1 亚基与流感病毒 vRNA 和 cRNA 以不同的模式结合,执行 RNA 聚合酶功能;PB2 亚基结合宿主细胞前体 mRNA (pre-mRNA) 的 5' Cap 结构;PA 亚基具有内切酶活性,剪切宿主细胞前体 mRNA 的 5' Cap 结构用于病毒自身 mRNA 转录;最后形成具有 5' 甲基化 Cap 结构和 3' poly(A) 尾结构的流感病毒 mRNA^[35]。流感病毒基因组 vRNA 转录过程及潜在的抗流感病毒药物见图 2 和表 3。

3.1 巴洛沙韦

巴洛沙韦由日本研发,于 2018 年 2 月 23 日获得批准,用于治疗感染 IAV 和 IBV (年龄 ≥ 12 岁患者和体重 ≥ 10 kg 但年龄 < 12 岁儿童患者);并于 2018 年 10 月 24 日在美国获得批准,2019 年在其他几个国家获得批准,用于治疗症状出现时间 < 48 h、年龄 ≥ 12 岁且体重 ≥ 40 kg 的急性无并发症的流感患者。目前,在中国已完成一项 I 期单中心、单次口服巴洛沙韦 (40 或 80 mg) 在健康受试者体内的药动学、安全性和耐受性评价 (NCT03959332)^[36]。

巴洛韦酸 (baloxavir acid, S-033447), 是巴洛沙韦的活性形式,是基于多替拉韦 (dolutegravir) 的

2 个金属药效团概念经合理分子设计产生的。多替拉韦是人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 整合酶的抑制剂,因为流感 PA 和 HIV 整合酶都是使用 2 个二价金属离子作为辅助因子发挥内切酶活性。为增强巴洛韦酸的口服吸收,添加酚羟基,制备巴洛沙韦。巴洛沙韦可被肠道、肝和血液中的酯酶快速水解为巴洛韦酸^[37]。巴洛韦酸结合到 PA 内切酶结构域,并抑制 PA 对 RNA 的切割。巴洛韦酸与 IAV 的 A20, Y24, K34, A37 和 I38 或与 IBV 的 T20, F24, M34, N37 和 I38 在 PA 内切酶结构域形成范德华作用。巴洛沙韦的主要优点是只需 1 次给药,增加了依从性。以减轻症状的时间来衡量,巴洛沙韦似乎比奥司他韦无明显的临床优势,但其在治疗后 24 h 内减少病毒载量的能力使其在预防病毒传播方面更有优势。在严重并发症流感病例中,快速减少病毒载量可能会减轻病毒导致的炎症和对肺组织的损害,从而产生更好的临床效果^[38]。Koshimichi 等^[39]报道,不论流感高危并发症患者或其他流感患者的暴露水平如何,给予巴洛沙韦 (体重 < 80 kg 患者 40 mg 和体重 ≥ 80 kg 患者 80 mg), 均可缩短流感症状时间,降低 IAV 和 IBV 病毒滴度。

3.2 AL-794

AL-794 (ALS-033794/JNJ-64155806) 是一种

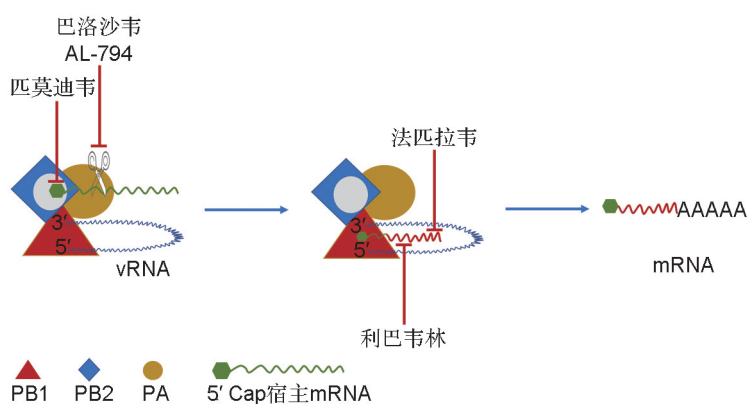


图 2 流感病毒基因组病毒 RNA 转录过程及潜在的抗流感病毒药物。

表 3 靶向 RNA 依赖性 RNA 聚合酶的主要抗流感病毒药物

种类	活性形式	作用靶点	抑制流感病毒类型	用法
巴洛沙韦	巴洛韦酸	PA	IAV, IBV, ICV, IDV	po, 单次给药
法匹拉韦	法匹拉韦-RTP	PB1	IAV, IBV, ICV, IDV	po, 每天 2 次, 连续 5 d
匹莫迪韦	-	PB2	IAV	po, 每天 2 次, 连续 5 d
AL-794	-	PA	IAV, IBV	-

RTP: 核呋喃糖基-5'-三磷酸; IAV, IBV, ICV 和 IDV: 甲型、乙型、丙型和丁型流感病毒; -: 未知。

口服有活性的 ALS-033719 的异丁酸酯前药, 选择性地结合于 PA 内切酶结构域, 有效抑制内切酶活性。ALS-033719 对 29 株 IAV 和 IBV 均有抑制作用, 90% 有效浓度 (EC_{90}) 为 2.3 ~ 267 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对健康成人单次或多次递增剂量给予 AL-794, 评价其安全性及药动学。结果表明, ALS-033719 的血浆浓度按递增剂量比例增加, 最高可达 150 mg, 但 >150 mg 时则不按比例增加; AL-794 200 mg, 每天 2 次, 可达到 ALS-033719 暴露剂量, 预期有效且普遍耐受^[40]。在一项 I 期临床研究中, 健康受试者经鼻接种 A/Perth/16/2009 H3N2, 12 h 后 *po* AL-794 50 或 150 mg, 每天 2 次, 连续给药 5 d。结果显示, AL-794 具有明显抗病毒活性, 150 mg 剂量组病毒载量、症状和黏液重量与 50 mg 剂量组相比明显降低, 且无安全问题^[41]。患者可耐受 AL-974, 无严重不良事件, 最常见的不良反应为轻度头痛和头痛。2017 年 5 月完成了在健康志愿者中 AL-794 与奥司他韦和匹莫迪韦 (pimodivir, JNJ63623872, VX-787) 药动学相互作用的 I 期临床评估 (NCT02888327)^[42]。但 2018 年 4 月在健康志愿者中评估其重复给药方案的安全性、耐受性和药动学的临床研究被终止 (NCT03411421)^[43]。

3.3 法匹拉韦

法匹拉韦是一种取代吡嗪化合物, 在细胞中磷酸化代谢成其活性形式法匹拉韦-核呋喃糖基-5'-三磷酸 (ribofuranosyl-5'-triphosphate, RTP)。法匹拉韦-RTP 以浓度依赖和 GTP 竞争的方式抑制流感病毒 RNA 聚合酶活性^[44]。法匹拉韦被 RdRp 识别为嘌呤类似物, 并作为鸟苷和腺苷模拟物有效地合并到新生 RNA 链中, 阻止 GTP 和 ATP 竞争性结合, 并抑制 RNA 延伸, 阻止病毒复制和转录。此外, 法匹拉韦通过增加 G→A 和 C→U 突变频率, 导致致命的突变, 产生不可存活的子代病毒^[45]。因此, 法匹拉韦具有新生 RNA 链终止剂或诱变剂的作用, 对 RNA 病毒 (包括流感病毒、鼻病毒和呼吸道合胞病毒) 具有广谱抗病毒活性, 但对 DNA 病毒无效。法匹拉韦治疗流感比奥司他韦有更好的疗效^[46], 其在治疗致病性禽流感 H5N1 和对奥司他韦耐药病毒方面的疗效也已通过动物实验得到验证^[47]。2014 年, 法匹拉韦在日本被批准用于治疗新型或再次流行的流感病毒, 由于其潜在的不良反应, 由政府指导用药, 且被其作为储备药物用于应对严重流感治疗^[11]。在日本, 除流感外, 法匹拉韦已被提交用于重症发热伴血小板减少综合征的附加适应证^[48]。法匹拉韦与奥司他韦联合治疗严重流感患者的临

床试验结果显示, 奥司他韦 75 mg, 每天 2 次, 连续给药 10 d; 法匹拉韦第 1 天给药 1600 mg, 第 2 ~ 10 天 600 mg, 均每天 2 次; 与奥司他韦单药治疗相比, 两者联合治疗可促进严重流感患者临床康复^[49]。在病毒复制期间停止用药或出现耐药株时, 病毒复制和发热将复发。由于季节性流感病毒的复制周期为 6 d 或更长, 因此严重流感或新型流感治疗可能需要连续给药 10 d^[50]。

3.4 利巴韦林

利巴韦林 (ribavirin, Virazole) 合成于 1970 年, 在红细胞中磷酸化, 生成三氮唑核苷单磷酸、二磷酸及三磷酸, 具有广谱抗 DNA 和 RNA 病毒活性, 包括 IAV、IBV、呼吸道合胞病毒、丙型肝炎病毒和仙台病毒等^[51-52]。利巴韦林可通过抑制肌苷单磷酸脱氢酶 (inosine monophosphate dehydrogenase, IMPDH) 降低细胞内 GTP, 抑制 mRNA 5' Cap 形成, 以及通过其与腺苷或鸟苷的相似性增加 RNA 复制中的突变, 发挥抗病毒作用^[53]。单磷酸利巴韦林抑制细胞内 IMPDH; 三磷酸利巴韦林 (ribavirin 5'-triphosphate, RBV-TP) 选择性抑制流感病毒的 RNA 聚合酶。利巴韦林被批准用于治疗呼吸道合胞病毒, 并与干扰素或聚干扰素联合用于治疗丙型肝炎病毒。尽管利巴韦林潜在的致畸不良反应限制了其在临床中的应用, 但其成功应用于流感的治疗, 且未表现出耐药性的迹象^[54]。利巴韦林衍生物 LY217896 (1, 3, 4-thiadiazol-2-ylcyanamide) 及其钠盐在体内外均能抗 IAV 和 IBV。塔利韦林 (viramidine) 是利巴韦林的 3-羧脒衍生物, 抗病毒疗效与利巴韦林相似, 但毒性较小, 未来有可能用于抗流感治疗^[55]。在一项比较奥司他韦、金刚烷胺和利巴韦林联合给药与奥司他韦单药治疗的随机、双盲、多中心 II 期临床试验中, 奥司他韦 (75 mg)、金刚烷胺 (100 mg) 和利巴韦林 (600 mg) 联合给药或奥司他韦单药治疗, 每天 2 次, 连续 5 d, 并对患者进行 28 d 的随访。结果显示, 与单药治疗相比, 联合用药虽在第 3 天显著降低病毒复制, 但该差异与改善的临床受益无关^[56]。

法匹拉韦和利巴韦林均为嘌呤伪碱, 但它们对流感病毒的抗病毒和致突变的作用机制却不同。利巴韦林抗流感病毒作用是基于抑制 IMPDH 导致 GTP 快速消耗和核苷酸池的不平衡, 而法匹拉韦被病毒聚合酶识别作为 GTP 竞争抑制剂阻止病毒复制和转录。在被病毒感染的细胞内, 法匹拉韦或利巴韦林 $\geq 50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时病毒 RNA 合成被完全抑制; 而暴露在低药物浓度时则诱导非传染性病毒颗粒的形

成以及病毒基因组中随机点突变的累积;法匹拉韦的诱变效应是利巴韦林的 2 倍^[55]。RBV-TP 直接靶向病毒基因组,被病毒聚合酶作为底物掺入到延长的 RNA 链中,导致多个碱基不匹配,从而导致致命突变^[57]。而法匹拉韦-RTP 被病毒聚合酶识别作为替代底物,使其不能识别 GTP 和 ATP。单个法匹拉韦-核呋喃糖基-5'-单磷酸与 vRNA 的结合减慢但未停止 vRNA 的延伸,连续 2 个法匹拉韦-核呋喃糖基-5'-单磷酸的结合事件可阻止 vRNA 的进一步延伸^[58]。

3.5 匹莫迪韦

匹莫迪韦是一种环己基羧酸类似物,在“抢帽反应”中,PB2 结合到宿主 mRNA 的 m⁷G Cap 结构上。匹莫迪韦占据 PB2 的 Cap 结合区域,抑制 RNA 结合。匹莫迪韦与 PB2 Cap 结合区域的 E361 和 K376 形成氢键,其氮杂吡啶环夹在 H357 和 F404 之间,而嘧啶环与 F323 相互作用。匹莫迪韦的羧酸通过水介导与 R355, H357 和 Q406 相互作用^[59]。匹莫迪韦可抑制 IAV,包括对 M2 离子通道抑制剂耐药和 NA 抑制剂(NA inhibitor, NAI)耐药的病毒,但对 IBV 无效。这可能是由于 IAV 和 IBV 的 PB2 Cap 结合结构域的几个关键氨基酸存在差异,IBV Cap 结合结构域的一些残基可对匹莫迪韦产生空间阻碍^[60]。此外,IBV 的 Cap 结合亲和力和特异性与 IAV 不同,IBV Cap 结合亲和力弱于 IAV; IAV 对 m⁷G Cap 结构有严格的特异性,而 IBV 识别未甲基化 Cap 结构^[61]。对感染 IAV 住院的老年患者(65~85 岁)和非老年患者(18~64 岁)进行匹莫迪韦联合奥司他韦的 II b 期临床研究,住院患者被随机分为匹莫迪韦 600 mg 和奥司他韦 75 mg 组,每天服药 2 次,连续 7 d。结果显示,匹莫迪韦在老年和非老年患者中的药动学参数相似;匹莫迪韦缓解流感症状的时间(72.45 h)比安慰剂的时间(94.15 h)短;与安慰剂组(15.6%)相比,匹莫迪韦组流感相关并发症发生率(7.9%)较低;治疗耐受性一般良好^[62]。

4 靶向神经氨酸酶的抗流感病毒药物

NA 是同源四聚体 II 型糖蛋白,嵌于流感病毒包膜表面,每个单体亚基折叠成 4 个不同的结构域:胞浆尾部、跨膜区、茎状区和催化头区域。在所有 IAV 中,胞浆尾部的序列几乎 100% 保守,在 NA 转运和合并过程中发挥关键作用^[63]。但 N 端疏水跨膜结构域包含 1 个跨越残基(7~29 的可变氨基酸序列),并提供转位到顶膜和脂质筏结合的信号。不同 NA 亚型的茎部结构域在氨基酸残基的数量和序

列上有相当大的差异,影响 NA 酶活性和毒力。催化头区域具有从附近膜糖蛋白上裂解 SA 的能力,以防止病毒结合^[64]。NA 在流感感染过程中具有多个功能:① NA 具有 SA 酶活性,裂解细胞表面 SA,释放新形成的子代病毒颗粒,使其继续感染宿主细胞并传播感染。② NA 对病毒在呼吸道黏液中的移动非常重要,可水解呼吸道中的 SA,使呼吸道黏膜表面黏液降低,病毒更易感染底层上皮细胞^[65]。③ NA 在病毒粒子进入宿主细胞过程中也发挥重要作用。首先,NA 除拥有与 SA 及其类似物结合的催化位点外,还有第 2 个受体结合位点,可能在直接受体结合中发挥作用,与 HA 的受体结合功能互补;其次,NA 可能有助于释放与唾液化“诱饵”受体结合的病毒粒子,促进病毒在细胞表面移动,从而使 HA 能够与受体表达的 SA 接触,进而发生内吞作用^[66]。

早在 1948 年就提出了 NAI 的概念,NAI 抑制病毒 NA,导致病毒复制和传播受阻。目前为止,已上市 NAI 包括奥司他韦、扎那米韦、拉尼米韦和帕拉米韦。除拉尼米韦只在日本获得许可外,其他 3 种在世界范围内获得了治疗和预防流感感染的许可^[14]。拉尼米韦是一次性吸入给药,因此可能具有较高的依从性,然而儿童,特别是 <3 岁的儿童,吸入给药可能有困难^[67]。帕拉米韦应静脉滴注 >15 min,通常用于治疗住院流感患者。奥司他韦和扎那米韦的用药时间比拉尼米韦和帕拉米韦更长,患者需连续给药 5 d,且不能过早或当患者开始感觉好转时立即停止用药。Tochino 等^[68]在日本大阪进行了一项为期 8 年的调查,评价 4 种 NAI 对流感的治疗效果,结果显示,拉尼米韦最常用于年龄 ≥10 岁的患者,而奥司他韦最常用于年龄 <10 岁的患者;使用 4 种 NAI 具有类似作用,IAV 患者均比 IBV 患者退热早,年龄较大患者更易发生低热(<38℃)。

IAV 具有高度的遗传变异性,其通过突变逃避宿主免疫反应,有时 1 个点突变就能产生对某些抗病毒药物的耐药性,且这种突变每时每刻都在发生。因此,需要持续监测和评估耐药病毒株的病毒适应度和传播能力。Lee 等^[69]报道,对于季节性流感病毒,NAI 耐药率报道较少(奥司他韦 <3.5%,扎那米韦 <1.0%);在幼儿(<5 岁)、免疫功能低下者和预防给药个人中,IAV(H1N1)病毒的耐药性风险略高于 IAV(H3N2)和 IBV。H275Y IAV(H1N1)突变株显示出高水平奥司他韦耐药,能够引起流感暴发;而且 NAI 对 R294K IAV(H7N9)突变株抑制作用减弱。Mawatari 等^[70]评价 4 种 NAI 对 IAV(H1N1 pdm09 和 H3N2)和 IBV 的临床有效性。结果显示,

拉尼米韦治疗表现出较长的发热持续时间;感染 H275Y IAV(H1N1) pdm09 突变株的儿童患者接受奥司他韦治疗,发热持续时间延长。

WHO 流感参考和研究合作中心在 2014 年 5 月-2015 年 5 月期间检测了 WHO 认可的国家流感中心收集的 13 312 种病毒,以确定 4 种 NAI 的 50% 抑制浓度(IC₅₀)。结果显示,约有 0.5% 的病毒对 4 种 NAI 中至少一种表现出高度降低抑制(highly reduced inhibition, HRI) ($n=68$) 或降低抑制(reduced inhibition, RI) ($n=56$)。在 12 种 HRI 病毒中,6 种为 IAV(H1N1) pdm09 病毒,3 种为 IAV(H3N2) 病毒,3 种为 IBV/Yamagata-lineage 病毒。对 NAI 具有 RI 或 HRI 的病毒的发生率低于 2013-2014 年观察到的 1.9%,但与 2012-2013 年期间的 0.6% 相似。根据目前的分析,虽然出现了一些耐药病毒株,但 NAI 仍然是治疗和预防流感病毒感染的有效选择^[71]。

5 结语

流感的防治仍然是一个挑战。NAI 和聚合酶抑制剂等抗病毒药物虽然为治疗流感患者提供了选择,但均有局限性。由于 IAV M2 蛋白中氨基酸位点的突变,导致金刚烷胺存在耐药性,且临床安全性不佳,需关注胃肠道不良事件和中枢神经系统毒性,已不被用于治疗流感。NAI 是最常用的抗流感处方药物,可缩短流感病程,减轻流感相关并发症,降低死亡率。但流感病毒可通过在 NA 催化位点或 HA 受体结合位点获得突变而产生对 NAI 的耐药性,并且耐药率在全球逐渐增加,出现了 NAI 耐药病毒株的季节性暴发。NAI 耐药性主要出现在长时间药物接触或亚治疗剂量药物治疗后,特别是儿童、免疫缺陷患者和预防服药者。在危重患者和需要住院治疗的重症患者中,即使早期使用了 NAI,流感导致的发病率和死亡率仍然很高。RdRp 对流感病毒转录、蛋白合成以及基因组复制等病毒复制周期至关重要,而且参与 RNA 结合、裂解和延伸作用的聚合酶活性位点保守,因此聚合酶抑制剂不易产生耐药性。法匹拉韦和巴洛沙韦可用于对金刚烷胺和 NAI 具有耐药性的病毒株。法匹拉韦作为广谱抗病毒药物已在我国上市,巴洛沙韦尚处于新药上市审评阶段。另外,将抗病毒药物与其他免疫调节药物如大环内酯、*N*-乙酰半胱氨酸、他汀类药物、非甾体抗炎药物和类固醇等联用,可能是治疗流感重症患者的有效策略之一。

参考文献:

- [1] Sullivan S. Challenges in reducing influenza-associated mortality[J]. *Lancet*, 2018, 391(10127): 1242-1244.
- [2] World Health Organization. WHO launches new global influenza strategy[EB/OL]. (2019-03-11)[2020-12-12]. <https://www.who.int/news-room/detail/11-03-2019-who-launches-new-global-influenza-strategy>.
- [3] Shaw ML. The next wave of influenza drugs[J]. *ACS Infect Dis*, 2017, 3(10): 691-694.
- [4] Gasparini R, Amicizia D, Lai PL, et al. Compounds with anti-influenza activity: present and future of strategies for the optimal treatment and management of influenza. Part I : influenza life-cycle and currently available drugs[J]. *J Prev Med Hyg*, 2014, 55(3): 69-85.
- [5] Ma W, Garcia-Sastre A, Schwemmle M. Expected and unexpected features of the newly discovered bat influenza A-like viruses[J / OL]. *PLoS Pathog*, 2015, 11(6): e1004819 (2015-06-04) [2020-12-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26042416>. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004819.
- [6] Gaitonde DY, Moore FC, Morgan MK. Influenza: diagnosis and treatment[J]. *Am Fam Physician*, 2019, 100(12):751-758.
- [7] Shiraki K, Daikoku T. Favipiravir, an anti-influenza drug against life-threatening RNA virus infections[J / OL]. *Pharmacol Ther*, 2020(209): 107512 (2020-02-22) [2020-12-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32097670>. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107512.
- [8] Centers for Disease Control and Prevention. Influenza antiviral medications: summary for clinicians[EB/OL]. (2020-08-31) [2020-12-12]. <https://www.cdc.gov/flu/professionals/antivirals/summary-clinicians.htm>.
- [9] The medical letter on drugs and therapeutics. Antiviral drugs for influenza[EB/OL]. (2020-01-13) [2020-12-12]. <https://secure.medicalletter.org/w1589a>.
- [10] Zaraket H, Saito R. Japanese surveillance systems and treatment for influenza[J]. *Curr Treat Options Infect Dis*, 2016, 8(4): 311-328.
- [11] Wilson IA, Skehel JJ, Wiley DC. Structure of the haemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus at 3 Å resolution[J]. *Nature*, 1981, 289(5796): 366-373.
- [12] Weis W, Brown JH, Cusack S, et al. Structure of the influenza virus haemagglutinin complexed with its receptor, sialic acid[J]. *Nature*, 1988, 333(6172): 426-431.

- [13] Danieli T, Pelletier SL, Henis YI, *et al.* Membrane fusion mediated by the influenza virus hemagglutinin requires the concerted action of at least three hemagglutinin trimers[J]. *J Cell Biol*, 1996, 133(3): 559-569.
- [14] Rossignol JF. Nitazoxanide: a first-in-class broad-spectrum antiviral agent[J]. *Antiviral Res*, 2014 (110): 94-103.
- [15] NIH U.S. National Library of Medicine. A phase III, randomized, double-blind, placebo controlled trial to evaluate the efficacy and safety of nitazoxanide in the treatment of uncomplicated influenza[EB/OL]. (2020-05-18) [2020-12-12]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03336619?cond=influenza&draw=2&rank=8>.
- [16] Krol E, Wandzik I, Gromadzka B, *et al.* Anti-influenza A virus activity of uridine derivatives of 2-deoxy sugars [J]. *Antiviral Res*, 2013, 100(1): 90-97.
- [17] Zhirnov OP, Klenk HD, Wright PF. Aprotinin and similar protease inhibitors as drugs against influenza [J]. *Antiviral Res*, 2011, 92(1): 27-36.
- [18] Zhirnov OP, Ikizler MR, Wright PF. Cleavage of influenza A virus hemagglutinin in human respiratory epithelium is cell associated and sensitive to exogenous antiproteases[J]. *J Virol*, 2002, 76(17): 8682-8689.
- [19] Yamaya M, Shimotai Y, Hatachi Y, *et al.* The serine protease inhibitor camostat inhibits influenza virus replication and cytokine production in primary cultures of human tracheal epithelial cells[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2015(33): 66-74.
- [20] Uno Y. Camostat mesilate therapy for COVID-19[J]. *Intern Emerg Med*, 2020, 15(8): 1577-1578.
- [21] Zhirnov OP, Ovcharenko AV, Bukrinskaia AG, *et al.* Antiviral and therapeutic action of protease inhibitors in viral infections: experimental and clinical observations[J]. *Vopr Virusol*, 1984, 29(4): 491-497.
- [22] Mehta K, Goneau LW, Wong J, *et al.* Zoonotic influenza and human health-part 2: clinical features, diagnosis, treatment, and prevention strategies[J/OL]. *Curr Infect Dis Rep*, 2018, 20(10): 38 (2018-08-01) [2020-12-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30069787>. DOI: 10.1007/s11908-018-0643-8.
- [23] Basu A, Komazin-Meredith G, McCarthy C, *et al.* Molecular mechanism underlying the action of influenza A virus fusion inhibitor MBX2546[J]. *ACS Infect Dis*, 2017, 3(5): 330-335.
- [24] Luo G, Torri A, Harte WE, *et al.* Molecular mechanism underlying the action of a novel fusion inhibitor of influenza A virus[J]. *J Virol*, 1997, 71(5): 4062-4070.
- [25] Blaising J, Polyak SJ, Pécheur EI. Arbidol as a broad-spectrum antiviral: an update[J]. *Antiviral Res*, 2014(107): 84-94.
- [26] NIH U.S. National Library of Medicine. Severe influenza trial of arbidol[EB/OL]. (2019-01-18) [2020-09-21]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03787459?cond=influenza&draw=6&rank=3>.
- [27] Bodian DL, Yamasaki RB, Buswell RL, *et al.* Inhibition of the fusion-inducing conformational change of influenza hemagglutinin by benzoquinones and hydroquinones[J]. *Biochemistry*, 1993, 32(12): 2967-2978.
- [28] Yoshimoto J, Kakui M, Iwasaki H, *et al.* Identification of amino acids of influenza virus HA responsible for resistance to a fusion inhibitor, Stachyflin[J]. *Microbiol Immunol*, 2013, 44(8): 677-685.
- [29] Ma C, Wang J. Functional studies reveal the similarities and differences between AM2 and BM2 proton channels from influenza viruses[J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2018, 1860(2): 272-280.
- [30] Schnell JR, Chou JJ. Structure and mechanism of the M2 proton channel of influenza A virus[J]. *Nature*, 2008, 451(7178): 591-595.
- [31] Cady SD, Mishanina TV, Hong M. Structure of amantadine-bound M2 transmembrane peptide of influenza A in lipid bilayers from magic-angle-spinning solid-state NMR: the role of Ser31 in amantadine binding[J]. *J Mol Biol*, 2009, 385(4): 1127-1141.
- [32] Hurt AC. The epidemiology and spread of drug resistant human influenza viruses[J]. *Curr Opin Virol*, 2014(8): 22-29.
- [33] Lin TI, Heider H, Schroeder C. Different modes of inhibition by adamantane amine derivatives and natural polyamines of the functionally reconstituted influenza virus M2 proton channel protein[J]. *J Gen Virol*, 1997, 78(Pt 4): 767-774.
- [34] Brownlee GG, Sharps JL. The RNA polymerase of influenza A virus is stabilized by interaction with its viral RNA promoter[J]. *J Virol*, 2002, 76(14): 7103-7113.
- [35] Dias A, Bouvier D, Crepin T, *et al.* The cap-snatching endonuclease of influenza virus polymerase resides in the PA subunit[J]. *Nature*, 2009, 458(7240): 914-918.
- [36] NIH U.S. National Library of Medicine. Study to assess the pharmacokinetics, safety and tolerability of baloxavir marboxil in healthy Chinese participants

- [EB/OL]. (2020-08-11) [2020-09-21]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03959332?cond=baloxavir+marboxil&cntry=CN&draw=2&rank=1>.
- [37] Koshimichi H, Tsuda Y, Ishibashi T, *et al*. Population pharmacokinetic and exposure-response analyses of baloxavir marboxil in adults and adolescents including patients with influenza[J]. *J Pharm Sci*, 2019, 108(5): 1896-1904.
- [38] O'Hanlon R, Shaw ML. Baloxavir marboxil: the new influenza drug on the market[J]. *Curr Opin Virol*, 2019(35): 14-18.
- [39] Koshimichi H, Retout S, Cosson V, *et al*. Population pharmacokinetics and exposure-response relationships of baloxavir marboxil in influenza patients at high risk of complications[J/OL]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 64(7): e00119-20 (2020-06-23) [2020-12-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32312784>. DOI: 10.1128/AAC.00119-20.
- [40] Kakuda TN, Yogaratnam J, Rito J, *et al*. Phase I study on safety and pharmacokinetics of a novel influenza endonuclease inhibitor, AL-794 (JNJ-64155806), following single- and multiple-ascending doses in healthy adults[J]. *Antivir Ther*, 2018, 23(7): 555-566.
- [41] Yogaratnam J, Rito J, Kakuda TN, *et al*. Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics of AL-794, a novel oral influenza endonuclease inhibitor: results of an influenza human challenge study[J]. *J Infect Dis*, 2019, 219(2): 177-185.
- [42] NIH U.S. National Library of Medicine. A drug-drug interaction study to evaluate the effect of AL-794 on the pharmacokinetics of oseltamivir and JNJ-63623 872[EB/OL]. (2018-06-15) [2020-09-21]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02888327>.
- [43] NIH U.S. National Library of Medicine. A study to assess the safety, tolerability and pharmacokinetics of repeated dosing regimens of AL-794 in healthy volunteers[EB/OL]. (2018-06-06) [2020-09-21]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03411421?cond=AL-794&draw=2&rank=2>.
- [44] Furuta Y, Takahashi K, Kuno-Maekawa M, *et al*. Mechanism of action of T-705 against influenza virus [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(3): 981-986.
- [45] Baranovich T, Wong SS, Armstrong J, *et al*. T-705 (favipiravir) induces lethal mutagenesis in influenza A H1N1 viruses *in vitro*[J]. *J Virol*, 2013, 87(7): 3741-3751.
- [46] Tanaka T, Kamiyama T, Daikoku T, *et al*. T-705 (favipiravir) suppresses tumor necrosis factor α production in response to influenza virus infection: a beneficial feature of T-705 as an anti-influenza drug [J]. *Acta Virol*, 2017, 61(1): 48-55.
- [47] Kiso M, Takahashi K, Sakai-Tagawa Y, *et al*. T-705 (favipiravir) activity against lethal H5N1 influenza A viruses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(2): 882-887.
- [48] Saijo M. Recent topics in the research field of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS)[J]. *Uirusu*, 2018, 68(1): 41-50.
- [49] Wang Y, Fan G, Salam A, *et al*. Comparative effectiveness of combined favipiravir and oseltamivir therapy versus oseltamivir monotherapy in critically ill patients with influenza virus infection[J]. *J Infect Dis*, 2020, 221(10): 1688-1698.
- [50] Lina B, Boucher C, Osterhaus A, *et al*. Five years of monitoring for the emergence of oseltamivir resistance in patients with influenza A infections in the influenza resistance information study[J]. *Influenza Other Respir Viruses*, 2018, 12(2): 267-278.
- [51] Wray SK, Gilbert BE, Knight V. Effect of ribavirin triphosphate on primer generation and elongation during influenza virus transcription *in vitro*[J]. *Antiviral Res*, 1985, 5(1): 39-48.
- [52] Cameron CE, Castro C. The mechanism of action of ribavirin: lethal mutagenesis of RNA virus genomes mediated by the viral RNA-dependent RNA polymerase[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2001, 14(6): 757-764.
- [53] Rowe T, Banner D, Farooqui A, *et al*. *In vivo* ribavirin activity against severe pandemic H1N1 Influenza A/Mexico/4108/2009[J]. *J Gen Virol*, 2010, 91(Pt 12): 2898-2906.
- [54] Liao SH, Li Y, Lai YN, *et al*. Ribavirin attenuates the respiratory immune responses to influenza viral infection in mice[J]. *Arch Virol*, 2017, 162(6): 1661-1669.
- [55] Vanderlinden E, Vrancken B, Van Houdt J, *et al*. Distinct effects of T-705 (favipiravir) and ribavirin on influenza virus replication and viral RNA synthesis [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(11): 6679-6691.
- [56] Beigel JH, Bao Y, Beeler J, *et al*. Oseltamivir, amantadine, and ribavirin combination antiviral therapy versus oseltamivir monotherapy for the treatment of influenza: a multicentre, double-blind, randomised phase 2 trial[J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17(12): 1255-1265.
- [57] Vignuzzi M, Stone JK, Andino R. Ribavirin and lethal

- mutagenesis of poliovirus: molecular mechanisms, resistance and biological implications[J]. *Virus Res*, 2005, 107(2): 173-181.
- [58] Jin Z, Smith LK, Rajwanshi VK, *et al.* The ambiguous base-pairing and high substrate efficiency of T-705 (favipiravir) ribofuranosyl 5'-triphosphate towards influenza A virus polymerase[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8 (7): e68347 (2013-07-10) [2020-12-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23874596>. DOI: 10.1371/journal.pone.0068347.
- [59] Byrn RA, Jones SM, Bennett HB, *et al.* Preclinical activity of VX-787, a first-in-class, orally bioavailable inhibitor of the influenza virus polymerase PB2 subunit[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(3): 1569-1582.
- [60] Liu Y, Yang Y, Fan J, *et al.* The crystal structure of the PB2 cap-binding domain of influenza B virus reveals a novel cap recognition mechanism[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(14): 9141-9149.
- [61] Wakai C, Iwama M, Mizumoto K, *et al.* Recognition of cap structure by influenza B virus RNA polymerase is less dependent on the methyl residue than recognition by influenza A virus polymerase[J]. *J Virol*, 2011, 85(15): 7504-7512.
- [62] O'Neil B, Ison MG, Hallouin-Bernard MC, *et al.* A phase 2 study of pimodivir (JNJ-63623872) in combination with oseltamivir in elderly and nonelderly adults hospitalized with influenza A infection: OPAL study[J/OL]. *J Infect Dis*, 2020: jiaa376 (2020-06-30) [2020-12-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32604406>. DOI: 10.1093/infdis/jiaa376.
- [63] Barman S, Adhikary L, Chakrabarti AK, *et al.* Role of transmembrane domain and cytoplasmic tail amino acid sequences of influenza A virus neuraminidase in raft association and virus budding[J]. *J Virol*, 2004, 78(10): 5258-5269.
- [64] Matsuoka Y, Swayne DE, Thomas C, *et al.* Neuraminidase stalk length and additional glycosylation of the hemagglutinin influence the virulence of influenza H5N1 viruses for mice[J]. *J Virol*, 2009, 83(9): 4704-4708.
- [65] Yang J, Liu S, Du L, *et al.* A new role of neuraminidase (NA) in the influenza virus life cycle: implication for developing NA inhibitors with novel mechanism of action[J]. *Rev Med Virol*, 2016, 26(4): 242-250.
- [66] Wen F, Wan XF. Influenza neuraminidase: underrated role in receptor binding[J]. *Trends Microbiol*, 2019, 27(6): 477-479.
- [67] Watanabe A, Chang SC, Kim MJ, *et al.* Long-acting neuraminidase inhibitor laninamivir octanoate versus oseltamivir for treatment of influenza: a double-blind, randomized, noninferiority clinical trial[J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 51(10): 1167-1175.
- [68] Tochino Y, Yoshii N, Fujioka M, *et al.* Effect of four neuraminidase inhibitors on influenza in Osaka, Japan: an eight-year survey[J]. *J Gen Fam Med*, 2020, 21(1): 18-23.
- [69] Lee N, Hurt AC. Neuraminidase inhibitor resistance in influenza: a clinical perspective[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2018, 31(6): 520-526.
- [70] Mawatari M, Saito R, Hibino A, *et al.* Effectiveness of four types of neuraminidase inhibitors approved in Japan for the treatment of influenza[J/OL]. *PLoS One*, 2019, 14(11): e0224683 (2019-11-07) [2020-12-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31697721>. DOI: 10.1371/journal.pone.0224683.
- [71] Hurt AC, Besselaar TG, Daniels RS, *et al.* Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2014-2015[J]. *Antiviral Res*, 2016(132): 178-185.

Research progress in anti-influenza drugs

ZHU Yan-hui, LIU Ya-lin, ZHU Xia-li, CAI Bang-rong, JIA Yong-yan

(School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: Influenza is a contagious respiratory illness caused by influenza viruses. Although vaccination is the most powerful means of mitigating the impacts of influenza epidemics, anti-influenza drugs play an important role in containing the spread of new pandemic viruses and treating hospitalized patients with complicated influenza. Current anti-influenza drugs in non-clinical and clinical phases include hemagglutinin inhibitors, matrix 2 ion channel protein inhibitors, RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) inhibitors and neuraminidase inhibitors. Based on the activity and mechanism against

influenza viruses, RdRp inhibitors may rapidly reduce viral load, have a broad spectrum of antiviral effects and rarely develop drug resistance compared with the other three inhibitors. For prevention and treatment of influenza, neuraminidase inhibitors are commonly used clinical drugs, whereas the clinical efficacy of RdRp inhibitors needs to be further evaluated. This review focuses on the mechanism of action, antiviral activity, and clinical applications of anti-influenza drugs in order to provide reference for the development of novel anti-influenza drugs with broad-spectrum activities.

Key words: influenza; virus; antiviral drugs

Foundation item: Special Project of Scientific Research on Traditional Chinese Medicine of Henan Province of China (20-21ZY2147); and Research Foundation of Henan University of Chinese Medicine (RSBSJJ2019-08)

Corresponding author: JIA Yong-yan, E-mail: hnzyjy@126.com

(收稿日期: 2021-01-31 接受日期: 2021-12-10)

(本文编辑: 齐春会)

欢迎投稿 欢迎订阅

《中国药理学与毒理学杂志》是由中国药理学会、中国毒理学会和军事医学科学院毒物药物研究所共同主办的高级学术性刊物, 1986 年创刊, 2016 年由双月刊改为月刊。被北大图书馆评为药学专业中文核心期刊(中文核心期刊要目总览), 同时还是中国核心科技期刊、中国学术核心期刊和中国生物医学核心期刊等。本刊被美国《化学文摘》(CA) 等十余家数据库收录。

《中国药理学与毒理学杂志》设有前沿论坛、论著、实验方法和综述栏目。读者对象主要为从事药理学、毒理学、药学、医学和生物基础科学研究的工作者。中英文稿件兼收, 更欢迎英文稿件。

遵照上级部门有关规定, 本刊目前暂停收稿件处理费和版面费。

本刊全年 12 期, 每期定价 20.00 元。国内外公开发行, 国内邮发代号: 82-140, 国外邮发代号: BM-1051。本刊主要通过邮局订阅, 也可以联系编辑部商谈杂志订阅事宜。

地址: 北京市海淀区太平路 27 号毒物药物研究所《中国药理学与毒理学杂志》编辑部

邮编: 100850

电话: (010)66930636, (010)66931617

E-mail: cjpt518@163.com

网址: http://202.38.153.236:81/Jweb_cjpt