

# 抗 SARS 药物的作用靶点和药物研究

杜冠华\* , 王 伟 , 程克棣 , 曹立莉 , 杨秀颖 , 朱 平

(中国医学科学院,中国协和医科大学 药物研究所,北京 100050)

关键词: 严重急性呼吸综合征; 抗 SARS 药物; 药物靶点

中图分类号: R978.7 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2004)03 - 0236 - 05

## Targets and studies on anti-SARS drugs

DU Guanhua\* , WANG Wei , CHENG Ke-di , CAO Li-li , YANG Xiu-ying , ZHU Ping

(Institute of Materia Medica , Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College , Beijing 100050 , China)

**Key words:** severe acute respiratory syndrome (SARS) ; anti-SARS drug ; target of drug

严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)是21世纪出现的一种新的由冠状病毒引起的传染性疾病,从2002年底到2003年,全世界总计发病人数达到8 437人,因病死亡813人(2003年7月28日资料),严重威胁人类的健康,影响着社会发展和经济建设的正常进行。对SARS的预防、诊断、治疗成为医药学界紧急而重要的任务。

抗SARS药物是预防和治疗的重要武器,从SARS开始出现,人们就开始寻找防治SARS的药物。但是,由于人们对SARS的病因、病理、传播方式、病理发展过程以及分子机制了解甚少,药物的研究也处于的探索过程。随着对SARS疾病的认识及对冠状病毒和SARS病理过程的认识不断深入,对SARS治疗药物的研究策略也逐渐形成。本文根据当前对SARS的研究进展和药物研究的趋势,进行简单的讨论,提供药物研究的信息。

### 1 抗 SARS 药物研究的基本策略

抗SARS药物的研究基础是根据疾病的病因病理和生理变化的机制,选择能够阻止、逆转病情发展的环节,以适当的药物进行干预,或通过调节机体的抗病机制,促进病理变化的减退和生理过程的恢复,

实现治疗疾病的目的。

但是,面对新出现的SARS疾病,人们对其病因病理过程了解甚少,使药物研究处于盲目状态。在这种情况下,只能通过已有的经验和知识,结合新发现的信息资料,制订药物研究的策略和方案。值得庆幸的是,科学技术的发展为认识疾病的发病机理提供了强有力的工具和条件。在SARS出现的数月内,人们就认识到引起SARS的病原体为冠状病毒,被命名为SARS相关冠状病毒(SARS related coronavirus, SARS-CoV),而且在短时间内就完成了病毒基因序列的测定,并采用生物信息学技术对冠状病毒的特征进行了预测性分析,为深入认识SARS的病理机制提供了重要的资料<sup>[1,2]</sup>。同时,临床资料也不断积累,使人们对SARS的病理变化过程有了认识,为抗SARS药物研究提供了可以参考的信息和资料<sup>[3,4]</sup>。

根据SARS病因病理的分析,综合人类与疾病斗争的经验,研究抗SARS药物的策略可以归纳为针对病毒的药物、针对SARS-CoV致病机理的药物、针对病理变化发挥作用的药物、促进机体恢复的药物、提高机体抗病能力的药物及其他药物。这些药物可以作用于不同病理环节,根据病人的具体情况,选择适当的药物,同时与各种积极的防护措施相结合,就可达到预防和治疗SARS的目的,彻底控制SARS的流行和危害。

收稿日期: 2003-10-08.

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(2003AA2082033, 2002AA2Z343B).

\* 通讯作者 Tel: 86 - 10 - 63165184, E-mail: dugh@imm.ac.cn

## 2 针对病毒发挥作用的药物

针对病毒发挥作用的药物主要是指能够在体内外清除病毒,或在体内防止病毒入侵,阻止病毒复制,控制病毒扩散的药物。在确定了 SARS 的病原体是冠状病毒以后,人们的注意力就集中在研究针对病毒的药物方面,并采用多种技术手段进行了大量研究工作,希望获得有效的药物,其中包括针对病毒的疫苗研究。

### 2.1 传统抗病毒药物的筛选

由于 SARS 是新的传染性疾病,而且来势迅速,在寻找抗病毒药物方面,人们摆脱了常规的研究方法,采用了多种有效的手段,希望能够在有限的时间内,发现可以用于临床的抗病毒药物。首先是在目前临床应用的大量抗病毒药物中,筛选对 SARS-CoV 有效的药物。这项工作受到大批科学家的重视,在多个国家开展了这项研究,美国军方研究机构也参与了筛选。

从现有药物中发现有效药物是一个非常有效的策略,通过这种策略,一旦发现有效的药物,就可以直接应用于临床治疗。因为这些药物的药学资料、毒理学资料和其他相关资料都已经完备,无须耗用大量的时间进行全面的药学研究,能够适应临床的需要。但是,由于抗病毒药物多数具有很强的选择性和特异性,虽然对大量已知具有抗病毒作用的药物进行了筛选,仍没有得到理想的结果。

### 2.2 新型抗 SARS-CoV 药物的研究

根据病毒感染后在宿主内的活动过程,可以针对不同机制设计和研究相应的药物,用于治疗病毒引起的病变过程,抑制病毒在宿主体内的复制和增殖。

阻断病毒与宿主细胞膜的融合,导致病毒进入宿主细胞,可用中和性抗体消灭病毒,或用结合位点(受体)拮抗剂,阻断这一过程。目前针对 S 蛋白的研究,目的是要发现有拮抗作用的药物。

病毒与宿主细胞的结合主要部位是表面的 S 蛋白(spike),在该蛋白表面有与宿主细胞表面相结合的特定部位,而宿主细胞表面也有特定蛋白结构,称为陷窝蛋白(caveolin),二者有特异的结合能力,是病毒进入宿主细胞的初始过程。研究人员用计算机模拟方法,根据二者的结构,对大量化合物进行了虚拟筛选,希望发现能与特定部位结合的化合物,阻断病毒与宿主细胞的结合。也有人设计了能与相应结构相互作用的多肽类化合物,应用细胞模型进行生物活性筛选。这些方法在理论上都是可行的,也是

药物研究中的重要理论之一,具有重要的价值,但真正发现可以应用于临床的药物,还需要进行多方面的工作对其疗效进行评价,证实其生物学活性和药理学意义<sup>[5,6]</sup>。

病毒进入宿主细胞,在细胞质内释放和病毒脱壳,这一过程是病毒进入宿主细胞后的重要变化过程,但由于其机制不明确,还没有作用于这个过程药物可以应用,也没有适当方法可以用于发现这类药物。

病毒在细胞内的反转录是病毒复制重要阶段,抑制病毒的反转录酶活性是抗 RNA 病毒药物的重要靶点之一;RNA 复制过程中,内在核糖体入侵位点(IRES)和螺旋酶都发挥重要作用,IRES 和螺旋酶抑制剂都可发挥抑制病毒的复制作用。抑制反转录过程的另一种策略是采用 RNA 干扰技术(RNA interference, RNAi),在抗 SARS 药物研究中,针对病毒结构,设计合成了一些小干预 RNA (small interfering RNA, siRNA)用于体外研究,并证明有一定效果。

病毒颗粒的装配过程是一个综合过程,需要多种酶的参与,包括一些蛋白水解酶、整合酶等。蛋白水解酶抑制剂可以干扰病毒蛋白的加工,影响病毒的装配过程。此外,也可以使用干扰肽类物质,干扰这一过程的进行。病毒颗粒的成熟过程需要  $\alpha$  糖苷酶参与,抑制  $\alpha$  糖苷酶的药物也具有良好的抗病毒作用。在酶抑制剂的研究方面,生物信息学的介入使工作有了良好的开端,可以加快药物作用靶点的研究进度,并可以根据靶点的研究结构,有目的的设计药物,减少随机筛选所需要的时间和耗费。如目前受到研究人员重视的 3CL<sup>pro</sup>,就被认为是有药物开发价值的重要靶点<sup>[7]</sup>,基于该靶点的结构,已有研究人员利用计算机分子设计的方法设计了一些化合物,但其效果还需要进一步研究。

成熟病毒颗粒的释放是病毒在宿主细胞间扩散的重要步骤,目前对病毒颗粒的释放过程还不清楚,研究抑制病毒释放的药物,需要在病毒颗粒释放机制和技术方法方面进行研究。

在上述病毒宿主内不同活动环节开发药物,可以在不同环节抑制病毒的复制过程,减少感染病人体内的病毒,降低病毒对机体产生的危害,实现对 SARS 的预防和治疗。

### 2.3 针对病毒的其他药物

疫苗是预防病毒性疾病最有效的工具,针对 SARS 病毒,科学家采用多种方法设计、制备、研究了

抗 SARS-CoV 疫苗,取得了良好的进展。但是,由于疫苗的研究需要对病毒的特性有比较全面的认识,而且需要大量复杂的实验研究和验证,虽然已有可以借鉴的经验,但仍需要进行大量严谨科学的基础研究。

针对病毒的另一类药物是抗体,特别是能够在体内中和病毒的抗体,对于治疗 SARS 有重要意义,是值得重视的研究方向。临床证明恢复期病人血清有较好的治疗作用,提示抗体在治疗过程中将发挥一定作用。但是由于抗体研究过程更为复杂,需要借助多种技术力量的合作,研究任务异常艰巨。

针对病毒的药物还有一类是体外清除病毒的药物,由于病毒在体外环境中毒性维持时间比较有限,而且多种消毒剂均有效,在用于控制流行,环境消毒方面发挥了重要作用。但是,由于用于环境消毒用量大,人员接触广,研制针对性强,对环境无影响的高效清洁消毒剂仍然是非常重要的(本文不作详细讨论)。

自从证明 SARS 的病原体是冠状病毒以,抗 SARS 药物的研究主要集中在抗冠状病毒方面。实际上,抗病毒药物仅仅是治疗 SARS 的一个方面,甚至是一个并非主要的方面。研究抗 SARS 药物,并不等于抗 SARS-CoV 药物,其他方面的研究可能更为重要。有证据表明,在病人出现临床症状后,血清中的病毒量已开始下降,有些病人体内的病毒量已经很少<sup>[8]</sup>。因此,根据 SARS 疾病的病理变化规律,探讨更有效的药物研究策略是非常重要的。

### 3 针对 SARS-CoV 致病机理的药物研究

针对病毒的致病机理研究药物,可以通过阻断病毒致病的过程,保护机体免受病毒的侵害,使机体在感染病毒后不出现病理变化,是治疗 SARS 的重要途径。但是,对 SARS 疾病的治疗,消灭病毒并非是治疗的唯一途径,由于有些病毒在宿主内存在并不产生疾病,就单纯的病毒而言,如果能够解除其致病作用,就可以达到治疗目的。因此,研究病毒的致病机理,寻找抑制病毒致病过程的药物对于临床治疗更为重要。

必须承认,对于病毒导致宿主细胞损伤或死亡的机理,目前还没有完全认识。在目前认识的冠状病毒中,致病能力差异很大,有些冠状病毒并不引起人类的重要疾病;在致病的冠状病毒中,引起的疾病也是各不相同,而这些病毒都要经过入侵、复制、释放等共同的过程。这说明,病毒在体内的侵入、复制、释放等全部活动过程,并不是导致宿主细胞损伤

和破坏,引起疾病的直接原因。根据现有文献分析,病毒的致病过程必然存在着另外的机制,而且这种机制决定了不同的冠状病毒产生疾病的特点不同。因此,研究病毒致病机理,是目前的重要任务之一,是开发抗 SARS 药物的重要研究内容。

#### 3.1 抑制病毒对细胞损伤作用的研究

研究抗病毒的药物,重要的技术环节是要有符合病毒致病机理的实验模型。由于对冠状病毒的认识还不深入,其发病机理也没有阐明,特别是冠状病毒致病的特异性,使制备冠状病毒感染性 SARS 模型困难重重,至今没有典型的动物模型可以用于药物研究。

目前可用于药物研究的 SARS-CoV 致病模型是建立在细胞水平的病毒损伤模型,用从 SARS 病人分离的冠状病毒于非洲绿猴肾细胞 Vero 共同培养 72 h 可以造成细胞显著损伤和死亡。用这种方法,德国科学家发现甘草中的甘草甜素在大于  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时,可以对病毒感染细胞产生良好的保护作用,为筛选新药提供了新途径,也是目前筛选抗 SARS 药物使用的主要方法<sup>[9]</sup>。

用 SARS-CoV 感染制备的细胞模型进行药物筛选,虽然不能说明药物是通过抑制病毒复制或抑制细胞损伤发挥作用,但在评价药物对细胞的保护作用方面可以提供重要的资料和数据。研究者认为,在该模型上能够对损伤细胞产生保护作用的药物,是通过抑制病毒的复制发挥作用的,这种结论还有待研究证实,因为不影响病毒复制过程的药物,也可能发挥保护细胞的作用。

由于该模型使用的绿猴肾细胞,其生理特点和病理特点都与人类疾病有一定的差距,特别是与 SARS 疾病的差异更大;另外,由于该模型使用的是致病性冠状病毒,需要比较严格的实验条件,限制了该方法的广泛使用和深入研究。因此,建立新的筛选模型仍然是非常重要的研究课题。

#### 3.2 病毒致病因子的研究和药物筛选模型的建立

为建立能够反映药物作用机理的筛选模型,作者根据最初公布的 SARS-CoV 基因组序列<sup>[10-12]</sup>,对 SARS-CoV 复制过程中可能产生的物质进行了分析,于 2003 年 4 月开始研究冠状病毒对人肺细胞的损伤机理。结果表明,人肺细胞在没有 SARS-CoV 存在的条件下,病毒在复制过程中产生的某些蛋白质可以导致人肺细胞损伤,这说明人肺细胞在感染 SARS-CoV 以后,由于在宿主细胞内产生了可以导致肺细胞损伤的蛋白质,诱导产生了 SARS 病的发作。

进一步研究表明,由 SARS-CoV 产生的这种细胞损伤因子,具有明显的种属选择性,对其他动物如大鼠、小鼠的肺细胞,没有明显的损伤作用,但是可以导致非洲绿猴肾细胞 Vero 细胞的损伤。

这种细胞损伤模型的建立,可以解释临床病情的发展与病毒复制和病毒数量不一致的现象。由于这种细胞损伤因子可以不依赖于病毒的存在而独立发挥作用,可以认为在体内的病毒减少或被机体消灭以后,肺损伤仍然继续发展可能是由于这种损伤因子导致的结果。

应用这种细胞损伤因子制备的细胞模型,可以筛选抑制 SARS 的发病过程、保护肺细胞的药物。在临床上应用具有这种作用的药物,不仅在病毒复制过程中可以保护肺细胞,而且在病毒诱发肺损伤以后,也可以抑制病情的发展。

该模型的建立和应用可以在普通实验室中进行,不需要严格的防护条件,为开展大规模药物筛选创造了条件。应用该模型筛选的药物,可以初步说明其作用机理,由利于指导临床用药。该模型正在应用于药物筛选,同时作者正在利用研究的结果,建立可以反映药效的动物模型(实验数据另外报道)。

#### 4 针对病理变化发挥作用的药物

临床研究结果显示,SARS 病人肺细胞破损,出现严重的渗出,形成透明膜和局部炎症反应,最终导致肺功能严重的损伤。根据肺组织的病变表现,可以采用对证治疗的方法,解除 SARS 的临床症状,减缓或逆转病理变化过程,保护病人的肺功能,促进疾病的治疗过程。根据这种策略,国家科技部启动了中药筛选的项目,针对 SARS 的不同症状,应用多种不同机理的肺损伤动物模型,对临床正在使用的中药制剂进行筛选,推荐用于 SARS 治疗的药物。经过大量研究,从 40 余种中药复方制剂中,筛选出 8 中有效药物,推荐给临床医生用于治疗 SARS 病人,并取得较好的疗效,证明这种药物筛选策略是有效的。

##### 4.1 对证治疗药物的筛选

临床观察表明,SARS 病人的主要症状表现为发烧、咳嗽、肺组织炎症、肺损伤、换气障碍以及肺纤维化等表现。根据临床症状,在筛选针对症状的治疗药物时用了多种模型,主要有:(1) 急性肺损伤模型,包括内毒素损伤、化学损伤等;(2) 镇咳动物模型,选用小鼠氨水引咳法、豚鼠氨水引咳法;(3) 解热动物模型,如内毒素致热法、异物蛋白致热法;(4) 镇痛药物筛选模型,选用小鼠化学刺激疼痛法

和物理刺激(热灼法);(5) 筛选具有抗炎作用的药物,使用多种急性、亚急性炎症动物模型,如大鼠角叉菜胶性关节炎肿模型、大鼠白细胞游走模型、小鼠棉球肉芽肿模型、大鼠佐剂型关节炎模型(免疫性炎症)以及反映血管通透性的大鼠 I 型变态反应模型;应用免疫调节剂筛选模型,分别筛选药物对细胞炎症介质的影响,对体液免疫、细胞免疫的影响等;(6) 肺纤维化动物模型,采用博来霉素或其他因素制备大(小)鼠肺纤维化模型。

在上述模型的基础上,对根据已有资料选择的药物进行筛选,将多种模型的筛选结果进行比较和综合分析,筛选出可能对 SARS 具有治疗作用的药物。

##### 4.2 减轻肺损伤的药物

对于一般急性肺损伤,其发生的机理与中性粒细胞弹性蛋白酶分泌增加有关,而在 SARS 病理过程中,肺部的病变和损伤实际上与普通的急性肺损伤基本上是一致的,特别是与全身性炎症反应综合征(systemic inflammatory reaction syndrome, SIRS)的临床表现极为相似,都是以呼吸功能的丧失为主要特征。全身性炎症反应综合征引起的肺损伤与中性粒细胞产生的弹性蛋白酶有关,因而认为,在 SARS 发病过程中,也可能存在弹性蛋白酶的作用。因此,将治疗全身性炎症反应综合征的药物西维来司钠试用于治疗 SARS,有一定的理论基础。

另外,为了能够控制 SARS 病情的发展,提高治愈率,药物研究有关专家提供了多种供临床参考的建议和意见。在 SARS 治疗药物方面,有人提出使用抗氧化剂,如 melatonin<sup>[13]</sup>;也有建议使用促进微循环的药物,如 654-2;也有认为活血化瘀的药物可以产生良好效果。这些建议有些已经在临床上试用,但目前还没有临床总结资料报道。

##### 5 提高机体抗病能力的药物

临床研究发现,SARS 病人处于免疫功能低下状态,这种现象产生的原因还不明确。但是,机体的免疫功能参与了 SARS 病理变化的全过程。因此,正确使用免疫调节剂在治疗 SARS 中发挥了重要作用。

免疫抑制剂的应用,主要是指皮质激素类药物,通过抑制过强的机体免疫反应,达到保护肺组织的目的。

免疫增强剂以及细胞因子和干扰素,在 SARS 流行期间都被作为可以发挥预防作用的药物宣传,但这些药物是否对 SARS 病毒有效,或对病毒感染

有效,并没有得到实验证明。

关于调节剂的应用,存在各种观点。总而言之,使用免疫调节剂,需要十分慎重,否则将会产生严重的不良反应。

## 6 促进机体恢复的药物

SARS 病人的康复过程还没有详细的文献报道,对病人肺功能的恢复期变化特点也缺乏认识。但是,随着 SARS 发病机理的研究不断深入,人们将会重视病人的恢复过程,争取缩短病人的治疗周期。由于 SARS 病人均有明显的肺损伤病变,促进肺功能恢复是重要的措施。为了保证病人肺功能的恢复,预防肺部感染,也有利于肺功能的恢复。在病变过程中,肺细胞的大量渗出,是影响肺功能的重要原因,促进吸收即可加速肺功能的恢复。

## 7 展望

抗 SARS 药物的研究目前尚处于起步阶段,仍需要进行大量的研究工作。同时,由于 SARS 是传染性疾病,早日研制出良好治疗作用的药物将具有重要意义。因此,虽然药物研究在一般情况下需要相当长的时间,但在新的疾病面前,需要利用一切有利条件,充分发挥各种优势,争取以最短的时间,研制出安全有效的抗 SARS 药物,造福于人类和社会。

## References :

- [ 1 ] Peiris JS, Lai ST, Poon LL, *et al.* Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome [ J ]. *Lancet*, 2003, **361**(9366) :1319 - 1325 .
- [ 2 ] Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, *et al.* A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome [ J ]. *N Engl J Med*, 2003, **348**(20) :1953 - 1966 .
- [ 3 ] Nicholls JM, Poon LL, Lee KC, *et al.* Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome [ J ]. *Lancet*, 2003, **361**(9371) :1773 - 1778 .
- [ 4 ] Peiris JS, Chu CM, Cheng VC, *et al.* Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study [ J ]. *Lancet*, 2003, **361**(9371) :1767 - 1772 .
- [ 5 ] Ruan YJ, Wei CL, Ee LA, *et al.* Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection [ J ]. *Lancet*, 2003, **361**(9371) :1779 - 1785 .
- [ 6 ] Yu XJ, Luo C, Lin JC, *et al.* Putative hAPN receptor binding sites in SARS-CoV spike protein [ J ]. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, **24**(6) :481 - 488 .
- [ 7 ] Anand K, Ziebuhr J, Wadhwani P, *et al.* Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: Basis for design of anti-SARS drugs [ J ]. *Science*, 2003, **300**(5626) :1763 - 1767 .
- [ 8 ] Yang M, Hon KL, Li K, *et al.* The effect of SARS coronavirus on blood system: its clinical findings and the pathophysiologic hypothesis [ J ]. *J Exp Hematol* (中国实验血液学杂志), 2003, **11**(3) :217 - 221 .
- [ 9 ] Cinatl J, Morgenstem B, Chandra G, *et al.* Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus [ J ]. *Lancet*, 2003, **361**(9374) :2045 - 2046 .
- [ 10 ] Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, *et al.* Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome [ J ]. *Science*, 2003, **300**(5624) :1394 - 1399 .
- [ 11 ] Marra MA, Jones SJM, Astell CR, *et al.* The genome sequence of the SARS-associated coronavirus [ J ]. *Science*, 2003, **300**:1399 - 1404 .
- [ 12 ] Drosten C, Günther S, Preiser W, *et al.* Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome [ J ]. *N Engl J Med*, 2003, **348**(20) :1967 - 1976 .
- [ 13 ] Tan DX, Huo YS, Du GH, *et al.* Feasibility of treatment of severe acute respiratory syndrome with melatonin and its derivatives [ J ]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2003, **19**(7) :751 - 722 .