

文章编号:1673-9469(2020)01-0109-04

doi: 10.3969/j.issn.1673-9469.2020.01.018

新型冠状病毒(COVID-19)精准药物设计 ——基于病毒感染人体细胞进程的初步探讨

王敬章¹,张瑞英²,白净²,张玉华³,张向阳¹,刘睿¹

(1. 河北工程大学 医学院,河北 邯郸 056038;2. 河北工程大学 附属医院,河北 邯郸 056002;
3. 河北工程大学 图书馆,河北 邯郸 056038)

摘要: 针对新型冠状病毒(COVID-19)精准药物研发问题,围绕 COVID-19 感染人体细胞的基本步骤,如病毒表面蛋白结合人体细胞受体、病毒穿透细胞膜、病毒脱壳、病毒核酸释放与复制、病毒蛋白表达与成熟、新病毒装配等,预测针对这些环节设计小分子化合物、抗体或反义 RNA 片段等,进而抑制病毒关键分子如 Spike 蛋白、RdRp 聚合酶、3CL 水解酶及多种关键的 RNA 基因序列,最终达到精准治疗新型冠状病毒感染的目的。

关键词: 新型冠状病毒;精准药物;蛋白质;抗体;抑制剂

中图分类号:R45;F763

文献标识码:A

Precise Drug Design for the Novel Coronavirus (COVID-19): A Preliminary Prediction on the Process of Virus Infection in Human Cells

WANG Jingzhang¹, ZHANG Ruiying², BAI Jing², ZHANG Yuhua³, ZHANG Xiangyang¹, LIU Rui¹

(1. College of Medicine, Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056038, China;
2. Affiliated Hospital, Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056002, China;
3. Library, Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056038, China)

Abstract: In view of promoting the research and development of precision drugs for the novel coronavirus COVID-19, this paper focuses on the basic steps of COVID-19 infection in human cells, such as viral surface protein binding to human cell receptor, viral penetration into cell membrane, viral uncoating, release and replication of viral nucleic acids, expression and maturation of viral proteins, new virus assembly. Based on these steps, it is expected that small molecule compounds, antibodies or antisense RNA fragments could be designed to prevent the key viral molecules such as Spike protein, RdRp polymerase, 3CL hydrolase and a variety of key RNA genes, so as to achieve the goal of accurate treatment of COVID-19 infection.

Key words: novel coronavirus; precise drugs; proteins; antibodies; inhibitors

在过去 20 年间,冠状病毒 SARS 和 MERS 引起的非典型肺炎和中东呼吸综合征给人们健康带来了严重威胁。2020 年初春,一场突如其来的新型冠状病毒肺炎疫情席卷而来,直接影响人民生命安全和身体健康。2020 年 2 月 11 日,世卫组织将之命名为 Corona Virus Disease 2019,简称 COVID-19。简言之,COVID-19 是新型冠状病毒,可引

起患者严重呼吸障碍,并导致多脏器衰竭甚至死亡^[1]。目前,学术界对于 COVID-19 的研究十分匮乏,尚无疗效确切的精准治疗药物。

笔者近几年来进行过一些病毒学研究^[2-3],认识到病毒入侵人体过程的一些相似之处。本文将依据病毒感染细胞的一般过程,浅析 COVID-19 精准药物设计的主要技术思路。

收稿日期:2020-02-15

基金项目:河北省社会科学基金项目一般项目(HB19SH020)

作者简介:王敬章(1980-),男,河北邯郸人,博士,副教授,从事病毒和免疫相关疾病精准治疗研究。

1 COVID-19 精准药物设计的基本前提

目前对于 COVID-19 的研究,至少三个方面取得重要成果:第一,在流行病学方面,认识到 COVID-19 引起的典型临床症状包括发烧、干咳、呼吸困难、头痛、肺炎等,肺泡损伤可导致呼吸衰竭甚至死亡,并逐步阐明 COVID-19 的流行趋势、人际传播规律、传播途径等^[1, 4-7];第二,在病毒形态方面,获取了 COVID-19 高清电子显微图片,确认其冠状病毒特性,认识了 COVID-19 与以往病毒的相似和差别之处^[6-7];第三,在病毒基因分析方面,利用 pan-CoV 聚合酶链反应(PCR)和基因测序技术准确识别了 COVID-19 的“核酸序列”(GI-SAID 编号 EPI_ISL_402124),并开发出基于 spike 基因受体结合域的 qPCR 检测方法^[4, 7-9]。

不过,上述成果的临床应用一般局限于检测 COVID-19 病毒和确诊患者,并不能直接作为治疗手段杀灭病毒或治疗患者。在此基础上,新的 COVID-19 治疗药物可以尝试抑制“病毒核酸序列”的最终产物——即病毒的各种蛋白质,未来此类抑制 COVID-19 特定蛋白质的药物可统称为 COVID-19 精准治疗药物。

2 以“病毒感染细胞进程”为线索的 COVID-19 精准药物设计思路

鉴于 COVID-19 与 SARS-CoV、MERS-CoV、HIV-1 等病毒的结构、性质及感染过程类似之处,本文参照相关抗病毒药物的研究,为基于细胞感染进程的 COVID-19 精准治疗药物设计提供一些研究思路,聚焦细胞受体结合、细胞入侵、病毒脱壳、RNA 转录或逆转录、蛋白质翻译、新病毒组装等关键环节,研判 COVID-19 精准药物的设计方向。

2.1 开发适合 COVID-19 的广谱抗病毒药物

广谱抗病毒药物意指该药物可对多种现有病毒和新病毒起到抑制效果^[10-11]。然而,病毒结构过于简单,仅具有核糖核酸(RNA)或脱氧核糖核酸(DNA)的核心结构和蛋白质外壳结构,因此病毒本身可供攻击的靶点分子非常少,这给抗病毒药物研发造成了困难。再者,病毒的基因序列变异性强,导致各种病毒结构功能差异较大,因此很难获得对抗所有病毒的药物分子。

目前较公认的广谱抗病毒药如利巴韦林、干扰素等,具有阻碍病毒核酸和蛋白合成、抑制病毒生

长、调节人体免疫力等作用,它们能否对 COVID-19 起到抑制效果需要详细的临床疗效确认。最近,一些基于 Benzoxazine、Labyrinthopeptin、DABMA 以及天然产物的小分子化合物显示出较强的广泛抗病毒活性,期待它们能成为抗 COVID-19 精准药物的候选分子^[10-13]。另外,必须充分认识 COVID-19 与其它病毒结构、功能的相似之处,才可能开发出某些新的广谱抗病毒药物,并取得较好的临床治疗效果。

2.2 COVID-19 弱毒株制备疫苗——预防病毒入侵人体

疫苗在全面防控 COVID-19 疫情过程中将起到重要作用。典型的疫苗制备原理是将减毒处理的病毒部分成分注射于人体,使人体获得免疫记忆,增强未来对病毒的免疫识别力。目前 COVID-19 疫苗正在研发中,多家单位已获得毒性较弱 COVID-19 病毒,但疫苗研发需要病毒灭活处理、细胞实验、动物实验、人体测试、申报审批等多个环节,一般需要几年时间才能完成。目前疫情急需的情况下,有望大大加快审批和生产步伐。据了解,李兰娟院士、陈薇院士等研究团队制备若干适合做疫苗的 COVID-19 毒株或腺病毒载体疫苗,国外科研院所也投入巨资推动 COVID-19 疫苗研发,多个国家、地区和企业的通力合作有望大力推动 COVID-19 的疫苗研发进程。

2.3 COVID-19 痊愈患者的血清抗体——早期疫苗替代物

接种疫苗的主要目的是为了让人产生针对 COVID-19 的血清“中和抗体”,在人体遇到病毒时起免疫防御作用。为了快速缓解当前治疗压力,临床正在尝试利用 COVID-19 患者康复后捐献的血浆制备成抗病毒生物制品,其中包含大量的 COVID-19 中和抗体,注射到重症患者体内可诱导强烈的免疫反应,加快病毒清除速度,其临床疗效理论上与注射疫苗后所产生抗体效力相当,目前正在做初步临床观察。在疗效更加确切的精准药物获批之前,痊愈患者的血清抗体将为危重患者提供新的治愈希望。

2.4 靶向 COVID-19 表面蛋白的单克隆抗体——特异阻断病毒进入人体细胞

通过对比冠状病毒分类的 7 个保守复制酶结构域,COVID-19 与 SARS-CoV 有较高的相似度,

意味着二者在毒性机理和预防治疗方面存在共通之处^[7, 14]。经过对 COVID-19 的保守蛋白序列分析表明, COVID-19 属于严重急性呼吸综合征相关的冠状病毒(SARS-CoV), 并与 SARS-CoV 一样均利用血管紧张素转换酶 ACE2 受体进入人体细胞^[7]。一个关键之处在于, 冠状病毒表面的 Spike 蛋白可与人体细胞受体 ACE2 结合, 在病毒识别并吸附人体细胞表面、穿过细胞膜进入细胞的过程中起重要作用, 因此 Spike 蛋白经常成为抗病毒药物研发的靶标分子^[4, 8, 14-16]。预测利用免疫学技术设计针对 COVID-19 表面分子如 Spike 蛋白的中和抗体, 或者利用基因工程、蛋白质工程技术生产适合的 ACE2 片段多肽, 有可能特异结合 Spike 等蛋白并封闭其与细胞受体结合活性, 阻断它们通过 ACE2 受体感染人体细胞的入侵途径, 从而降低 COVID-19 病毒的人群传播^[5, 8, 14, 17]。在这些情况下, 即使少量 COVID-19 病毒进入人类呼吸道, 但由于病毒表面分子已经被抗体药物阻遏, 就无法再结合人体细胞表面受体, 也就不能进入人体细胞, 那么病毒无法实现自我复制、滞留于细胞外、逐渐丧失活性乃至最终死亡。

2.5 COVID-19 核酸聚合酶抑制剂——阻断病毒核酸在人体细胞内复制

除 Spike 蛋白外, RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RdRp, RNA-dependent RNA polymerase)是另一个可能具有抗冠状病毒效果的目标分子^[5, 17]。在 COVID-19 的全长基因组序列中, 存在编码 RdRp 的基因序列区, 它在病毒核酸复制及病毒繁殖过程中起关键作用, 因此 RdRp 属于一种潜在的抗病毒药物针对的关键酶^[5, 7, 17]。COVID-19 等病毒感染人体细胞后, 必须经过病毒脱壳、核酸释放、核酸合成等步骤, 才能增加病毒核酸的数量, 完成病毒复制的基础准备工作。在此过程中, 首先需要聚合酶 RdRp 按照病毒的核酸序列进行新的 RNA 合成, 这对于 COVID-19 的早期蛋白生产、结构蛋白成熟、子代病毒组装都至关重要^[5, 7, 17]。因此, 参照以往病毒抑制相关研究^[18-19], COVID-19 的 RdRp 酶抑制剂可能是精准治疗药物的一个重要方向, 通过抑制 RdRp 活性可阻止病毒核酸复制, 缺少核酸作为模板时, 下游蛋白质合成就会终止, 病毒生长繁殖就会被显著抑制。

2.6 COVID-19 反义核酸链(RNAi 技术)——阻断病毒蛋白质(或多肽链)合成

COVID-19 病毒核酸 RNA 是指导其蛋白质大

量合成的必需模板, 可以尝试通过 RNAi 技术抑制病毒 RNA 的功能。反义核酸链(miRNA 或 siRNA)是一类短小的人工合成 RNA 片段, 它们是按照病毒自身 RNA 序列特别设计的, 可以与特异的病毒 RNA 结合形成互补双链; 由于病毒蛋白质合成需要单链的 RNA 模板, 因此与 miRNA 或 siRNA 形成双链的病毒 RNA 就会丧失指导蛋白质合成的功能, 缺少蛋白质来源的病毒即无法持续存活或扩增^[20-21]。未来可以尝试针对 COVID-19 的关键基因如 Spike、RdRp、3CL 水解酶、E 基因等设计精确的抑制性 RNAi 片段, 阻断 COVID-19 关键基因的功能和关键蛋白质的合成, 起到必要的抗病毒疗效。

2.7 COVID-19 关键水解酶的抑制剂——阻断病毒蛋白成熟、新病毒颗粒组装

病毒核酸片段很短, 其合成的较长多肽链往往需要经过蛋白酶的水解, 才能产生具有活性和功能的多种蛋白质。冠状病毒 3CL 水解酶(Mpro) 又称主蛋白酶, 是病毒蛋白水解并成熟所必需的一种催化酶^[5, 22-23]。COVID-19 疫情发生后, 上海科技大学饶子和、杨海涛团队仅用一周时间就测定出 COVID-19 最重要的 3CL 水解酶(Mpro) 的高分辨率晶体结构, 并登录在蛋白质结构数据库(Protein Data Bank, PDB, 编号 6LU7)。这项工作使科学界进一步认清 COVID-19 病毒的结构特点, 未来可以尝试充分利用生物信息学、结构生物学、基因技术、蛋白质工程等设计开发多肽类或小分子化合物, 特异抑制 COVID-19 的 3CL 水解酶活性, 这样便可阻止病毒蛋白的裂解和成熟, 使得 COVID-19 大量蛋白质处于无活性、无功能的原始状态, 从而阻止新病毒颗粒的组装、成熟和细胞外释放, 减缓或阻止 COVID-19 感染在人体内细胞和组织间的传播。

3 结论

通过设计小分子化合物、多肽片段、抗体或反义 RNA 链等, 可能阻断 COVID-19 感染人体细胞基本过程的一个或几个关键环节, 有望达到精准防治 COVID-19 病毒的目的, 为彻底战胜该新型冠状病毒奠定一些临床基础。

参考文献:

[1] WANG F S, ZHANG C. What to do next to Control the

- 2019-nCoV Epidemic? [J]. *Lancet*, 2020, 395(10222): 391-393.
- [2] LIU Z J, BAI J, LIU F L, et al. Focus on the Therapeutic Efficacy of 3BNC117 against HIV-1: In Vitro Studies, in Vivo Studies, Clinical Trials and Challenges [J]. *International Immunopharmacology*, 2017, 52: 44-50.
- [3] HOU H, WANG J Z, LIU B G, et al. Pin1 Liberates the Human Immunodeficiency Virus Type-1 (HIV-1): Must we Stop it? [J]. *Gene*, 2015, 565(1): 9-14.
- [4] PARASKEVIS D, KOSTAKI E G, MAGIORKINIS G, et al. Full-Genome Evolutionary Analysis of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Rejects the Hypothesis of Emergence as a Result of a Recent Recombination Event [J]. *Infect Genet Evol*, 2020, 79: 104212.
- [5] MORSE J S, LALONDE T, XU S, et al. Learning from the Past: Possible Urgent Prevention and Treatment Options for Severe Acute Respiratory Infections Caused by 2019-nCoV [J]. *Chembiochem*, 2020, 21(5): 730-738.
- [6] CHEN J. Pathogenicity and Transmissibility of 2019-nCoV-A Quick Overview and Comparison with other Emerging Viruses [J]. *Microbes Infect*, 2020, 22(2): 69-71.
- [7] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A Pneumonia Outbreak Associated with a New Coronavirus of Probable Bat Origin [J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 270-273.
- [8] CHAN J F, KOK K H, ZHU Z, et al. Genomic Characterization of the 2019 Novel Human-Pathogenic Coronavirus Isolated from a Patient with Atypical Pneumonia after Visiting Wuhan [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 221-236.
- [9] CHEN Y, LIU Q, GUO D. Emerging Coronaviruses: Genome Structure, Replication, and Pathogenesis [J]. *J Med Virol*, 2020, 92(4): 418-423.
- [10] PROCHNOW H, ROX K, BIRUDUKOTA N V S, et al. Labyrinthopeptins Exert Broad-Spectrum Antiviral Activity through Lipid-Binding-Mediated Virolysis [J]. *Journal of Virology*, 2020, 94(2): e01471-01419.
- [11] HUANG S M, GU J J, YE J, et al. Benzoxazine Monomer Derived Carbon Dots as a Broad-Spectrum Agent to Block Viral Infectivity [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2019, 542: 198-206.
- [12] GAO Y N, TAI W B, WANG N, et al. Identification of Novel Natural Products as Effective and Broad-Spectrum Anti-Zika Virus Inhibitors [J]. *Viruses-Basel*, 2019, 11(11): 1019.
- [13] WU Y, PONS V, NOEL R, et al. DABMA: A Derivative of ABMA with Improved Broad-Spectrum Inhibitory Activity of Toxins and Viruses [J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2019, 10(8): 1140-1147.
- [14] DU L Y, HE Y X, ZHOU Y S, et al. The Spike Protein of SARS-CoV - a Target for Vaccine and Therapeutic Development [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7(3): 226-236.
- [15] YU P, HU B, SHI Z L, et al. Geographical Structure of Bat SARS-related Coronaviruses [J]. *Infection Genetics and Evolution*, 2019, 69: 224-229.
- [16] JI W, WANG W, ZHAO X, et al. Cross-species Transmission of the Newly Identified Coronavirus 2019-nCoV [J]. *J Med Virol*, 2020, 92(4): 433-440.
- [17] CHEN L, LIU W, ZHANG Q, et al. RNA based mNGS Approach Identifies a Novel Human Coronavirus from two Individual Pneumonia Cases in 2019 Wuhan Outbreak [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 313-319.
- [18] MADHVI A, HINGANE S, SRIVASTAV R, et al. A Screen for Novel Hepatitis C Virus RdRp Inhibitor Identifies a Broad-Spectrum Antiviral Compound [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 5816.
- [19] YAO X G, GUO S X, WU W Y, et al. Q63, a Novel DENV2 RdRp Non-Nucleoside Inhibitor, Inhibited DENV2 Replication and Infection [J]. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2018, 138(4): 247-256.
- [20] RITTENHOUSE K D, JOHNSON T R, VICINI P, et al. RTP801 Gene Expression Is Differentially Upregulated in Retinopathy and Is Silenced by PF-04523655, a 19-Mer siRNA Directed Against RTP801 [J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2014, 55(3): 1232-1240.
- [21] NUR S M, HASAN M A, AL AMIN M, et al. Design of Potential RNAi (miRNA and siRNA) Molecules for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) Gene Silencing by Computational Method [J]. *Interdisciplinary Sciences-Computational Life Sciences*, 2015, 7(3): 257-265.
- [22] JO S, KIM S, SHIN D H, et al. Inhibition of SARS-CoV 3CL Protease by flavonoids [J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2020, 35(1): 145-151.
- [23] YOSHIZAWA S, HATTORI Y, KOBAYASHI K, et al. Evaluation of an Octahydroisochromene Scaffold used as a Novel SARS 3CL Protease Inhibitor [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2020, 28(4): 115273.

(责任编辑 王利君)