

冠状病毒RNA聚合酶抑制剂——利巴韦林的构效关系分析

冯穗芬¹, 魏毅^{1*}, 刘建辉²

(1.广东省第二中医院 药学部, 广州 510095; 2.大连理工大学 精细化工国家重点实验室, 辽宁 大连 116024)

【摘要】 本文从已知抗冠状病毒药物的结构、作用靶点等环节出发, 结合冠状病毒RNA聚合酶和RNA病毒链相对稳定及冠状病毒表面神经氨酸酶不稳定的特性, 提出以下观点: 抗新型冠状病毒药物选择的重点方向应是作用于冠状病毒RNA聚合酶和RNA病毒链的药物, 这些药物可直接掺入病毒RNA链发挥作用, 终止病毒复制和扩散传播, 如利巴韦林和正在进行临床研究的瑞德西韦(remdesivir)。从已知的作用环节和方便易得角度来看, 利巴韦林具有抗新型冠状病毒作用的重要潜力, 利巴韦林口服制剂也方便用于感染初期患者和疑似患者。

【关键词】 利巴韦林; 新型冠状病毒; 核苷酸类药物; 冠状病毒RNA聚合酶抑制剂; 神经氨酸酶抑制剂

【中图分类号】 R978.7

【文献标识码】 B

【文章编号】 1672-3384(2020)02-0046-04

Doi: 10.3969/j.issn.1672-3384.2020.02.010

Analysis on structure-activity relationship of corona virus RNA polymerase inhibitor: ribavirin

FENG Sui-fen¹, WEI Yi^{1*}, LIU Jian-hui²

(1. Department of Pharmacy, Guangdong Second Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China; 2. State Key Laboratory of Fine Chemicals, Dalian University of Technology, Liaoning Dalian 116024, China)

新型冠状病毒感染疫情形势严峻, 前方医务人员的努力付出是战胜疫情的根本, 选择好正确的治疗药物也很重要。抗冠状病毒药物最核心的结构特征要素是什么? 新型冠状病毒的特性和药物治疗靶点有哪些? 针对这些问题, 兰州大学药学79级中美同学组进行了分析与讨论, 现将结果与观点进行综述。

1 抗冠状病毒药物的分类

将抗冠状病毒药物从药物构效关系和作用靶点进行对比分析, 发现一些规律: 根据药物是否能掺入病毒RNA链, 分成抗病毒药物(核苷类药物)和干扰病毒药物(非核苷类药物)2大类。抗病毒药物如利巴韦林、瑞德西韦(remdesivir), 可直接掺入病毒复制后的RNA链, 阻断病毒再复制和扩散^[1-3]; 干扰病毒药物如奥司他韦、阿比多尔、达芦那韦、洛匹那韦/利托那韦、氯喹、干扰素、抗病毒中药等, 不能掺入病毒RNA链, 不能阻止病毒再复制、扩散传播, 不能降低病毒致

病性和易传染性。

笔者认为冠状病毒RNA聚合酶(RdRp)和RNA病毒链是药物作用的核心靶点^[4], 冠状病毒表面神经氨酸酶很不稳定, 极易发生改变。因此神经氨酸酶抑制剂难以发挥稳定的疗效。抗病毒药物选择的重点方向应该是作用于冠状病毒RNA聚合酶和RNA病毒链的药物。利巴韦林是这一类核苷酸类药物, 已上市多年, 药品资源丰富, 建议推荐为抗新型冠状病毒的重要药物。

2 核苷类抗冠状病毒药物的化学结构与作用靶点

2.1 核苷类抗冠状病毒药物的化学结构

核苷类抗冠状病毒药物的结构特征: 具有核苷酸母核结构, 见图1。代表药物有利巴韦林、瑞德西韦。利巴韦林是第一代的冠状病毒RNA聚合酶抑制剂, 瑞德西韦是第二代。此类药物可直接阻止新型冠状

作者简介: 冯穗芬, 主管药师; 研究方向: 临床药学; E-mail: 15902025335@163.com

*通信作者: 魏毅, 博士, 副教授; 研究方向: 药物制剂研发; E-mail: weiyi9@163.com

病毒 m7G cap 与 eIF4e 结合, 抑制病毒组装并直接掺入病毒 RNA 链, 形成大量无致病活性“假病毒”, 阻止复制传播。

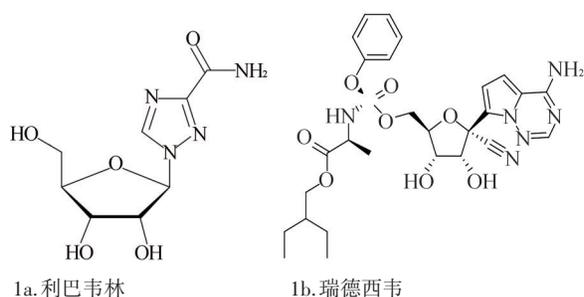


图1 核苷酸类药物化学结构比较图

2.2 核苷类抗冠状病毒药物的作用机制

2.2.1 核苷类抗冠状病毒药物的作用靶点

核苷酸类抗冠状病毒药物主要抑制冠状病毒 RNA 聚合酶, 是一种特异性抑制。核苷类药物在冠状病毒复制时, 在 RNA 病毒聚合酶的帮助下, 直接掺入病毒 RNA 链中, 形成药物-RNA 的“假病毒”链。当药物的分子数远大于病毒个数时, 药物有竞争性掺入病毒 RNA 链优势。药物的浓度越大, 竞争掺入病毒 RNA 链的能力越强, 形成的“假病毒”比例就越大, 抗病毒作用也就越强。因此, 高峰浓度对此类药物发挥作用具有重要意义。

2.2.2 病毒致病性

在大量核苷类药物分子存在的条件下, 病毒复制越快, 产生的“假病毒”链越多, 病毒 RNA 链所占比例越来越少, 病毒的整体致病效能就会大幅度下降, 少量的病毒 RNA 链也容易被机体的免疫机能消除。

2.2.3 病毒再复制与传播

核苷类药物治疗后, 病毒复制大量“假病毒”, 药物-RNA“假病毒”链因自然界中缺少了药物分子, 而无法完成再复制, 进而无法在自然界进行传播。

冠状病毒 RNA 聚合酶和 RNA 病毒链是比较稳定的作用靶点, 据此推测, 作用于冠状病毒 RNA 聚合酶和 RNA 病毒链比较稳定的位点的药物, 在新型冠状病毒疫情中应有稳定疗效。

2.3 利巴韦林与瑞德西韦的构效关系分析

2.3.1 抗病毒活性母核

①核苷母体结构是抗病毒活性的核心结构; ②3'、4' 位的 2 个游离的羟基是掺入病毒 RNA 必需的基团; ③5' 位的不饱和杂环是必

需的结构; ④与 C5' 相连基团构成的稳定的空间构型是必需的; ⑤2' 位羟基是必需的, 可以被酯化, 酯基结构可能影响体内药动学参数。

2.3.2 利巴韦林与瑞德西韦的构效关系

C5' 位的氨基和杂环取代基结构组成的构型, 在构型稳定性方面, 瑞德西韦比利巴韦林更稳定; 推测瑞德西韦的抗病毒作用更强, 使用剂量也较利巴韦林更小。利巴韦林若要发挥相同的抗病毒作用, 其剂量大于瑞德西韦。2' 位苷键连接基团: 瑞德西韦具有磷酸酯结构, 推测其进入细胞的能力较强, 因此抗新型冠状病毒的作用比利巴韦林要强。

3 非核苷类抗病毒药物的化学结构与作用靶点

3.1 非核苷类抗病毒药物的化学结构

结构特征: 没有核苷酸母核结构, 代表药物有病毒神经氨酸酶抑制剂、干扰素等。第一代病毒神经氨酸酶抑制剂有吗啉胍、金刚烷胺等; 第二代病毒神经氨酸酶抑制剂有奥司他韦、阿比多尔、达芦那韦、利托那韦/洛匹那韦等。其他类有氯喹^[5]。化学结构见图 2。

神经氨酸酶是一种病毒颗粒表面糖蛋白, 可促使病毒颗粒从感染细胞释放^[6]。神经氨酸酶抑制剂就是抑制这个过程, 但细胞死亡仍会释出全部病毒。在抗病毒作用环节上, 此类药物处于次要地位。

3.2 非核苷类抗病毒药物的作用靶点

非核苷类抗病毒药物主要作用于病毒的神经氨酸酶等蛋白酶, 能干扰病毒的复制, 对病毒有一定的抑制作用, 称为干扰病毒药物。但这类药物不能掺入 RNA 病毒链, 不能作用于病毒组装环节, 对冠状病毒 RNA 聚合酶(RdRp)无抑制作用, 因此这类药物对病毒的致病性无影响, 对病毒再复制传播无作用, 但有干扰病毒复制的辅助作用。

4 冠状病毒的特性和抗冠状病毒药物的作用环节

4.1 冠状病毒的特性

冠状病毒属的病毒是具外套膜(envelope)的正链单股 RNA 病毒, 感染人、鼠、猪、猫、犬、狼、鸡、牛、

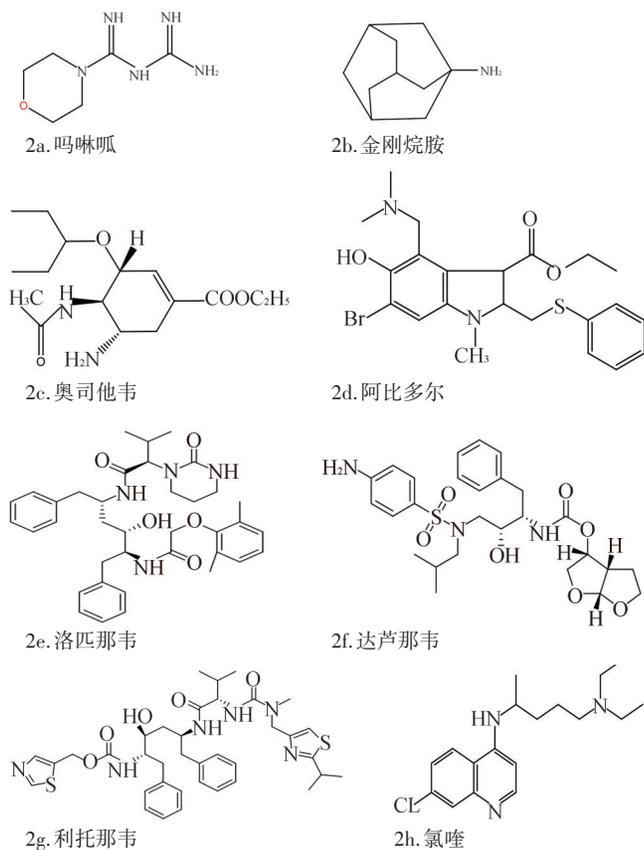


图2 非核苷酸类抗病毒药物的化学结构图

禽类脊椎动物。冠状病毒成熟粒子中并不存在RNA病毒复制所需的RNA聚合酶,病毒进入宿主细胞后,直接以其RNA为翻译模板,表达出病毒RNA聚合酶。再利用这个酶完成负链亚基因组RNA(sub-genomic RNA)的转录合成、各种结构蛋白mRNA的合成,以及病毒基因组RNA的复制。冠状病毒各个结构蛋白成

熟的mRNA合成,不存在转录后的修饰剪切过程,而是直接通过RNA聚合酶和一些转录因子,以一种不连续转录的机制,通过识别特定的转录调控序列(transcription regulating sequence, NRS),有选择性的从负链RNA上一次性转录得到构成一个成熟mRNA的全部组成部分。结构蛋白和基因组RNA复制完成后,将在宿主细胞内质网处装配(assembly)生成新的冠状病毒颗粒,并通过高尔基体分泌至细胞外,完成其生命周期。

冠状病毒的RNA和RNA之间重组率非常高,病毒出现变异正是由于这种高重组率。重组后, RNA序列发生了变化,由此核酸编码的氨基酸序列发生改变,氨基酸构成的蛋白质随之发生变化,使其抗原性发生变化,其结果是导致原有疫苗失效,免疫失败。冠状病毒颗粒表面的蛋白质极易发生变化,因此,作用于冠状病毒表面神经氨酸酶位点的药物难以有稳定良好的疗效。

4.2 抗冠状病毒药物类型与作用环节

抗冠状病毒药物种类、作用环节详见表1。

由表1可知,核苷类药物可以掺入冠状病毒RNA链,降低其致病性、阻断病毒再复制和传播,抑制冠状病毒的组装,还对其他环节有效,但对病毒表面蛋白酶无作用。而非核苷类药物神经氨酸酶抑制剂、干扰素都对冠状病毒的RNA链无作用,因而不能降低病毒的致病性、不能阻断病毒再复制与传播。干扰素、中药抗病毒汤剂在其他多环节干扰病毒复制。中药

表1 抗冠状病毒药物类型与作用环节

作用环节	抗病毒药物 (核苷类)	干扰病毒药物			
		神经氨酸酶抑制剂	氯喹	干扰素	抗病毒中药
RNA病毒链复制	掺入、假病毒	无	无	无	无
病毒致病性	降低	无	无	无	无
病毒再复制	阻断	无	无	无	无
病毒传播	阻断	无	无	无	无
病毒组装RNA聚合酶	抑制	无	无	无	无
病毒表面神经氨酸酶	无	抑制	无	无	无
病毒其他环节	有	有	有	有	有
人体内自由基	无	无	无	无	清除
人体免疫功能	无	无	抑制	有	调节

汤剂还具有较强清除自由基,减少机体损伤的作用。可用于新型冠状病毒疫情的辅助治疗。

由于核苷类药物的重要作用途径是掺入RNA病毒链,形成药物-RNA“假病毒”。病毒复制速度越快,形成的“假病毒”越多,形成的“假病毒”失去再复制能力,从而使整体的病毒RNA总量快速下降,疗效就越好。核苷类药物利巴韦林是上市多年的药品,资源丰富、作用机制清楚,应尽快使用,关注给药方法、合理使用。瑞德西韦从化学结构和美国的1例患者试用显示可能是抗新型冠状病毒的重要药物,期待临床研究结果。

5 使用利巴韦林抗病毒治疗的4个注意点

5.1 给药途径

对确诊患者建议优选肌内注射;口服适用于感染初期的确诊或疑似患者,次之;静脉推注不良反应大,慎用,仅限于局部血循环障碍的重症患者,在密切观察下使用;静脉滴注液体量大、时间长,药物代谢快,难以达到有效峰浓度,疗效差,且易导致血细胞内药物浓度蓄积,引起较大的不良反应,不宜使用。

5.2 给药剂量

每次7~8 mg/kg,每8~12 h一次,每天2~3次,症状基本正常后停药,改用其他方案继续治疗,以避免利巴韦林不良反应的产生。

5.3 机体免疫能力

影响机体免疫力的药物如激素等会抑制机体的

免疫功能,导致免疫功能低下,降低药物疗效,应该尽量不用,除非在有生命危象的重症时。

5.4 合并用药时间

干扰病毒复制药物会降低病毒的复制效率,所以,利巴韦林不要与干扰病毒复制的药物在同一个时间点合用。如需合用宜间隔1.5~2 h后用药为宜。

致谢:本文经过兰州大学药学79级中美同学组的多次讨论,对完善本文的内容提出了建设性意见,特此感谢!

【参考文献】

- [1] Cameron C E, 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.
- [2] Kristina N, Jesper W, Ka-Wei T, et al. Ribavirin: pharmacology, multiple modes of action and possible future perspectives [J]. *Future Virol*, 2019, 14(3): 153-160.
- [3] Maria L, Agostini a Erica L, Andres b Amy C, et al. Graham Coronavirus Susceptibility to the Antiviral Remdesivir (GS-5734) Is Mediated by the Viral Polymerase and the Proofreading Exoribonuclease [J]. *Mbil*, 2018, 9 (2): 221-228.
- [4] 王承忠, 戚正武. 冠状病毒复制所必需的酶有RNA聚合酶(polymerase)和解旋酶(helicase) [J]. *生物化学与生物物理学报*, 2003, 35(6): 495-502.
- [5] 陈新谦, 金有豫. 新编药理学[M]. 18版. 北京: 人民卫生出版社, 2017.
- [6] 文文, 刘玮, 赖国祥. 神经氨酸酶抑制剂的研究进展 [J]. *国际呼吸杂志*, 2016, 36(14): 1109-1116.

收稿日期: 2020-02-08

本文编辑: 杨昕