

· 药咖论坛 ·

流感病毒抑制剂的进展

黎敏科, 杨博尧, 吴益喜, 徐畅, 梁欢欢*

(中山大学药学院(深圳), 广东 深圳 518107)

[摘要] 流感病毒可引起季节性流感及流感大流行, 严重危害人类健康。抗流感病毒药物在控制流感爆发及流行中发挥重要作用。然而, 当前可使用的抗流感病毒药物种类过少, 且流感病毒极易突变, 耐药病毒株不断增长, 因此开发可抑制耐药病毒株的新药, 以及开发具有全新抗病毒机制的抗流感病毒药物十分必要。通过对靶向流感病毒成分的抗流感病毒药物的研究进展进行综述, 重点介绍各靶点药物的种类、作用机制、耐药产生情况以及如何针对耐药靶点进行“老药改造”和新靶点药物的开发, 同时也对抗流感病毒药物的未来发展进行讨论, 以期流感病毒感染的治疗及药物研发提供参考。

[关键词] 流感病毒; 抗病毒药物; 耐药病毒株; 新靶点

[中图分类号] R978.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2024) 05-0350-13

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.2024.05.004

Advances in Influenza Virus Inhibitors

LI Minke, YANG Boyao, WU Yixi, XU Chang, LIANG Huanhuan

(School of Pharmaceutical Sciences (Shenzhen), Sun Yat-sen University, Shenzhen 518107, China)

[Abstract] Influenza viruses cause seasonal influenza and influenza pandemics, which pose a serious threat to human health. Anti-influenza virus drugs are crucial in controlling the outbreak and spread of influenza. However, there are currently limited options of anti-influenza virus drugs in clinical practice. Additionally, influenza viruses are highly prone to mutation, leading to an increase in drug-resistant virus strains. Therefore, it is necessary to develop new drugs that can inhibit drug-resistant strains of the virus with novel antiviral mechanisms. This paper summarizes the research progress of anti-influenza virus drugs that target influenza virus components. It focuses on the types of drugs, their mechanisms of action, the occurrence of drug resistance, the transformation of old drugs and the development of new target drugs for drug resistance targets, as well as the future development of anti-influenza virus drugs, with the aim of providing some reference for therapy and the research and development of drugs against influenza virus infections.

[Key words] influenza virus; antiviral drug; drug-resistant virus strain; new target

甲型流感病毒, 作为呼吸道急性感染的主导病原体, 不仅会引发季节性的流感疫情, 还具备引发全球范围内流感大流行的能力, 对人类健康构成了不容忽视的威胁。过去的 100 多年里, 世界上主要发生了 4 次流感大流行^[1], 其中 1918—1919 年发生的“西班牙大流感”造成全球约 5 000 万人死亡, 相当于当时全世界人口的 2.68%^[2]。季节性流感每年同样会造成上百万人群的感染。有报道显示, 仅在 2019 年 10 月至 2020 年 4 月之间发生在美国的季节性流感, 就已导致 3 900~5 600 万人感染, 其中死亡人数约 24 万~62 万^[3]。随着全球人口的增长与

迁移, 以及与野生禽类的接触过多, 流感大流行发生的风险越来越高, 人类应该考虑为以后的流感大流行做好准备, 包括预警、医疗系统、疫苗和药物, 其中疫苗和抗病毒药物是主要手段^[4]。

目前防治流感的主要措施是接种疫苗和使用抗病毒药物。作为预防措施, 接种疫苗是防止流感病毒感染最佳策略。然而, 由于病毒抗原持续漂移^[5], 疫苗株与流行毒株匹配程度低, 疫苗的生产周期长等诸多因素的影响, 仅使用疫苗难以避免流感的大暴发。在此情况下, 应用抗流感病毒药物对病毒流行的控制至关重要。至今, 被批准用于治疗甲型流感病毒感染的抗病毒药物主要有跨膜蛋白 M2 离子通道抑制剂、神经氨酸酶 (neuraminidase, NA) 抑制剂和聚合酶抑制剂 3 类^[6]。此外, 更多靶点及全新作用机制的抗流感病毒药物也处于开发中。本文将根据作用靶点的不同, 对已上市的和处于研究阶

接受日期: 2024-03-15

* 通信作者: 梁欢欢, 教授;

研究方向: 病毒关键蛋白的结构与功能; 感染与自身免疫性疾病的发病机制; 新的药物靶标的发现, 验证及药物研发;

E-mail: lianghh26@mail.sysu.edu.cn

段的主要抗流感病毒药物进行介绍。

1 流感病毒及其生命周期

流感病毒是一类基因组分节段的单链负义 RNA 病毒, 其结构可分为 3 部分: 位于病毒表面的包膜层 (envelope)、紧贴包膜的基质层 (matrix, M) 以及病毒的核心——核糖核蛋白复合物 (ribonucleoproteins, RNPs)。流感病毒包膜上存在 2 种关键的糖蛋白成分: 血凝素 (haemagglutinin, HA) 和 NA, 其中 HA 的亚型有 16 种 (H1~H16), NA 的亚型有 9 种 (N1~N9)^[7]。根据包膜上 HA 和 NA 的不同可将流感病毒分为不同亚型, 如流感病毒 H5N1 的 HA 为 H5 亚型, NA 为 N1 亚型。此外, 包膜上还有跨膜蛋白 M2, 它是一种离子通道蛋白。包膜下面是由 M1 蛋白组成的基质层, 包裹着病毒核心 RNP。RNP 是流感病毒基因组复制的基本单元, 由流感病毒聚合酶、病毒 RNA 及包裹在 RNA 上的核蛋白 (nucleoprotein, NP) 组成。其中, 流感病毒聚合酶是 RNA 依赖的 RNA 聚合酶 (RNA-dependent RNA polymerase, RdRP), 为流感病毒复制的核心单元, 负责病毒基因组的转录和复制^[8]。上述病毒蛋白在病毒生命周期中的不同阶段发挥着关键作用, 也是目前抗流感病毒的主要靶点。

流感病毒感染宿主细胞的过程大致为: 流感病毒通过 HA 结合宿主细胞表面的唾液酸并借助胞吞作用进入细胞^[9-10], 随后 M2 离子通道蛋白打开, 允许内吞体中的 H⁺ 进入病毒颗粒^[11], 造成病毒内部酸化。低 pH 环境一方面可诱导 HA 发生构象改变, 促使病毒包膜与内吞体膜发生膜融合^[12]; 另一方面可破坏 RNP 与 M1 蛋白的相互作用, 导致 RNP 从 M1 基质蛋白上释放并进入细胞质^[13-14]。RNP 具有核定位信号 (nuclear localization signal, NLS), 借助宿主细胞核转运系统进入细胞核^[15], 开始病毒基因组的转录和复制。流感病毒聚合酶由聚合酶酸性蛋白 (polymerase acidic protein, PA)、聚合酶碱性蛋白 1 (polymerase basic protein 1, PB1) 和聚合酶碱性蛋白 2 (polymerase basic protein 2, PB2) 3 个亚基组成, 在细胞核中先通过病毒基因组的转录合成一定量的新生病毒蛋白后, 接着通过基因组的

复制合成子代病毒 RNA, 并与相关新生病毒蛋白组装成新的 RNP^[16-17]。病毒 HA、NA 和 M2 蛋白表达后会通过顶端分选信号富集在细胞膜的顶端^[18-19], 也即病毒组装部位。新合成的 RNP 在病毒 M1、核输出蛋白 (nuclear export protein, NEP) 和宿主染色体维持蛋白 1 (chromosome region maintenance 1, CRM1) 等的帮助下出核并靠近组装部位^[20], 最终组装成子代病毒, 通过出芽的方式进行释放。子代病毒出芽的最后阶段, NA 发挥其活性, 破坏 HA 与细胞膜表面唾液酸连接, 促进病毒粒子释放。至此, 流感病毒完成从感染到子代病毒释放的全过程^[21]。

2 靶向流感病毒生命周期的抗病毒药物

2.1 M2 离子通道抑制剂

流感病毒 M2 离子通道蛋白是分布于病毒包膜上的跨膜蛋白, 由 M2 蛋白同源四聚体组成, 具有质子 (H⁺) 选择性, 在酸性环境下 (pH < 6) 被激活打开, 定向介导 H⁺ 进入病毒颗粒, 导致病毒内部 pH 值下降, 诱导 M1 蛋白构象改变并释放与其连接的 RNPs。此过程是病毒遗传物质进入宿主细胞质的关键, 因此 M2 也成为早期抗流感病毒药物的主要靶点。

早期已上市的靶向 M2 离子通道的药物主要有 2 种: 金刚烷胺 (amantadine) (见图 1A、1B) 和金刚乙胺 (rimantadine)^[22] (见图 1C)。M2 离子通道蛋白的跨膜区发生突变可导致病毒对金刚烷胺和金刚乙胺的耐药性。自 2004—2005 年流感季以来, 金刚烷胺耐药毒株已经广泛扩散, 当前流行的所有季节性流感病毒均对金刚烷类药物耐受^[23-24], 而且金刚烷类药物会对中枢神经系统产生不良反应, 因此, 这类药物已不再被推荐使用。

为了克服 M2 突变耐药性, 正在开发能够同时抑制野生型和耐药毒株的金刚烷类似物。Davidson 等^[26] 发现名为 M2WJ332 的芳基甲基金刚烷胺衍生物对 S31N 突变的流感病毒具有很好的抑制作用 (见图 1D), 其半数有效浓度 (half-maximal effective concentration, EC₅₀) 为 153 nmol·L⁻¹; 金刚烷胺对野生型流感病毒的 EC₅₀ 为 328 nmol·L⁻¹。此外,

一些非金刚烷类化合物, 如螺金刚烷胺盐酸盐 (spiro-adamantyl amine), 也被发现具有抑制 M2 离子通道蛋白的作用^[25] (见图 1E)。目前, 部分

非金刚烷类化合物已作为 M2 离子通道蛋白抑制剂进入动物实验和临床前评估, 显示出卓越的抗流感疗效。

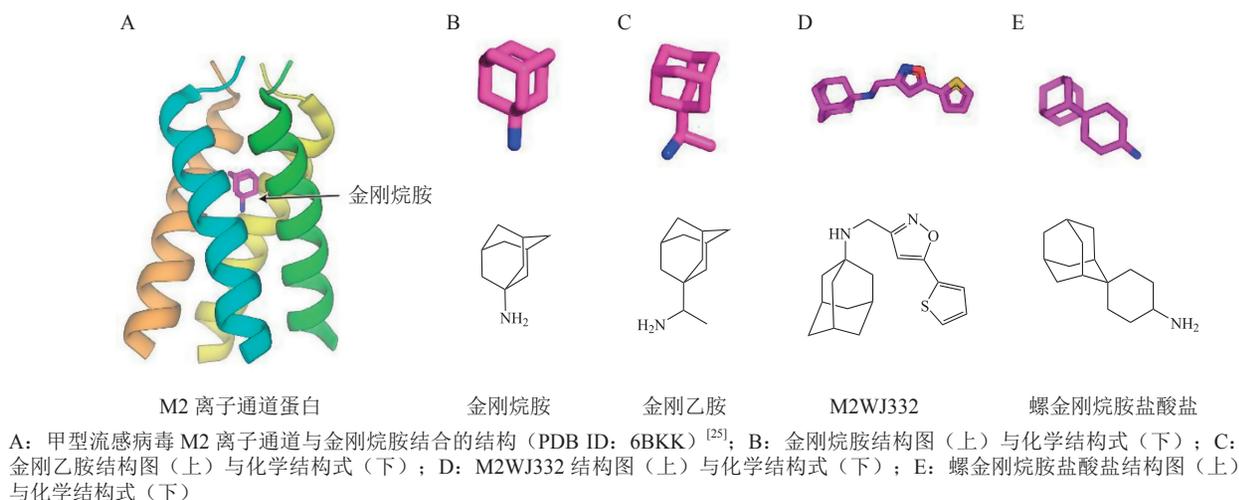


图 1 流感病毒 M2 离子通道蛋白及其抑制剂

Figure 1 The M2 ion channel protein and its inhibitors of influenza virus

2.2 神经氨酸酶抑制剂

NA 抑制剂是宿主细胞表面唾液酸的竞争性类似物, 通过结合 NA 活性区域的保守位点, 干扰 NA 的唾液酸水解酶活性, 阻止新生病毒粒子的释放。目前临床上主流抗流感病毒药物为 NA 抑制剂^[26], 包括扎那米韦 (zanamivir)、奥司他韦 (oseltamivir)、拉尼米韦 (laninamivir) 和帕拉米韦 (peramivir) 等 (见图 2)。

Zanamivir 于 1993 年被发现并由葛兰素史克制药公司进行开发, 于 1999 年被批准用于临床。Zanamivir 能够有效抑制 A 型和 B 型流感病毒, 且毒性很低, 但其亲水性较强, 易通过肾脏系统排出, 导致口服生物利用度较低 (< 5%), 临床上给药方式为鼻腔给药^[27]。

Oseltamivir 是目前使用最为广泛的 NA 抑制剂, 同样于 1999 年获批用于治疗流感病毒感染。它由 zanamivir 改造而来, 实现了最佳的疏水性相互作用。改造后的 oseltamivir 在保持抑制 A 型和 B 型流感病毒有效性的同时, 药代动力学特性也得到了很大的改善, 使其能够被制成口服药物^[28]。

Laninamivir 是 zanamivir 的 C7-甲氧基类似物, 其抗病毒活性与 zanamivir 类似, 于 2010 年在日本

被批准用于治疗 and 预防 A 型和 B 型流感病毒感染。由于其结构与 zanamivir 类似, 因此也被制成药粉吸入剂^[29]。

Peramivir 是研究人员对流感病毒 NA 的三维结构进行构效关系分析并开发出的新型 NA 抑制剂, 其抑制流感病毒的效果与 zanamivir 和 oseltamivir 相当^[30-31]。Peramivir 于 2014 年在中国、日本、韩国以及美国被获批用于 A 型和 B 型流感病毒感染的治疗。Peramivir 安全性较好, 但其口服生物利用度比较低, 临床上以静脉滴注的形式给药, 适合那些无法进行口服和吸入的患者的治疗。

值得警惕的是, 随着 NA 抑制剂药物的广泛使用, 耐药毒株也开始出现^[32]。在 2007—2009 年的季节性流感期间, 针对 oseltamivir 的耐药毒株从小于 1% 飙升到大于 90%^[33]。造成耐药现象产生的原因主要是 NA 的活性部位或者其周围的氨基酸产生了突变, 导致活性催化位点的结构发生改变, 降低了 NA 抑制剂对 NA 的亲合力。目前已有多种突变被报道, 包括 H274Y 和 N294S 突变 (H1N1 及 H5N1)^[34]、E119V 和 R292K 突变 (H3N2)^[35]、R294K 突变 (H7N9)^[36]。

为了抵抗突变引起的耐药性激增, 研究人员对现有 NA 抑制剂进行结构修饰, 以期开发新的 NA

抑制剂。比如, 利用生物电子等排体 (比如磷酸酯和磺酸酯) 替代 oseltamivir、zanamivir 和 peramivir 的羧酸根基团, 可使药物获得与流感病毒 NA 更高的结合强度; 通过将羧酸转化为酯, 使其成为具有更好的亲脂性和生物利用度的酯前药^[37]。AV5080 是由俄罗斯 ChemRar 公司研制的一种新型口服流感病毒 NA 抑制剂^[38], 其结构与 oseltamivir 类似。临

床前研究表明其具有显著的体外抗病毒活性, 并且对多种 oseltamivir 耐药病毒株具有良好的抑制作用。研发人员开发的 NA 二聚体抑制剂被证明具有更高的 NA 抑制活性^[39], 其合成的二聚 zanamivir 缀合物, 显示出了广谱的抗流感病毒活性, 并且效力比 zanamivir 高出 10~1 000 倍。因此, 此类化合物也有望成为一种新的抗流感病毒临床治疗药物。

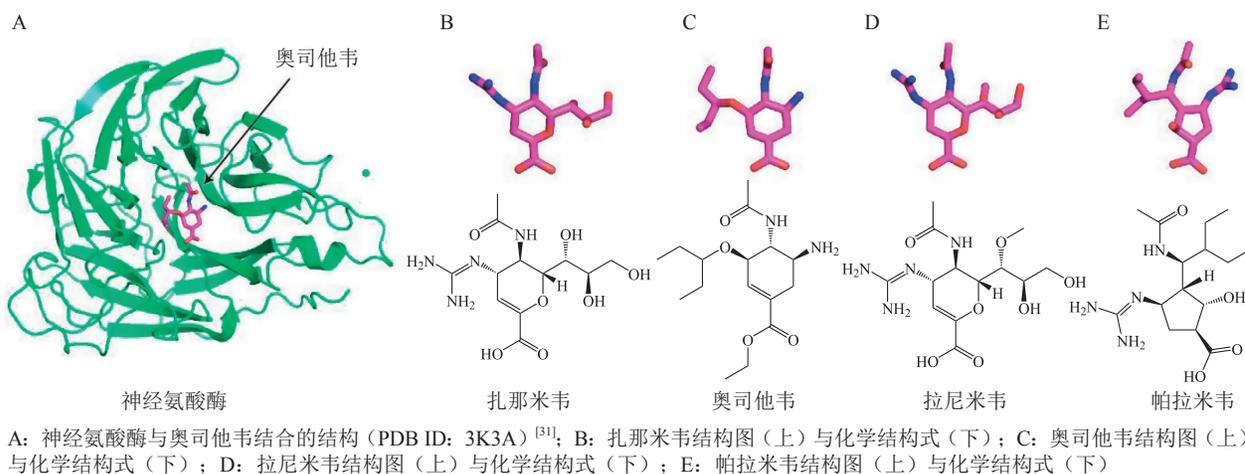


图 2 流感病毒神经氨酸酶及其抑制剂

Figure 2 The neuraminidase and its inhibitors of influenza virus

2.3 流感病毒聚合酶抑制剂

流感病毒聚合酶是一个异源三聚体复合物, 由 PA、PB1 和 PB2 3 种亚基构成。近十几年来, 流感病毒聚合酶结构不断被解析, 病毒基因组转录和复制的分子机制也不断被揭示^[40]。转录阶段, 聚合酶 PB2 亚基的 cap-binding 结构域结合宿主 Pol II 上新生的 mRNA 的帽子结构 (m^7GpppN), PA 亚基 N 端核酸内切酶活性结构域切割捕获的 mRNA 产生 10~14 nt 的含帽子结构的 RNA 片段。PB2 亚基随后发生构象改变, 将 RNA 片段伸入 PB1 亚基催化活性区域, 作为引物启动转录反应。复制阶段, 聚合酶采用从头合成的策略合成完整互补的 RNA (complementary RNA, cRNA), 并以 cRNA 为模板合成子代病毒 RNA (viral RNA, vRNA)。

作为病毒复制的核心机器, 流感病毒聚合酶在病毒进化中高度保守, 被认为是目前最有前途的抗流感药物靶标。研究人员针对聚合酶不同亚基都进行了大量的抑制剂开发工作, 其中, 靶向 PA 亚基核酸内切酶的药物已获批上市^[41]。此外, 已有多个小分

子药物处于临床前和临床研究中。

2.3.1 聚合酶酸性蛋白核酸内切酶抑制剂 2009 年, 中国科学家首次解析了 PA 亚基氨基端 (PA-N) 的高分辨率晶体结构, 并清晰地揭示了 PA 蛋白具有核酸内切酶功能^[42-43] (见图 3A)。这为靶向流感病毒聚合酶的抑制剂研发提供了一个全新靶点和机制, 加快了靶向聚合酶的药物研发进程。

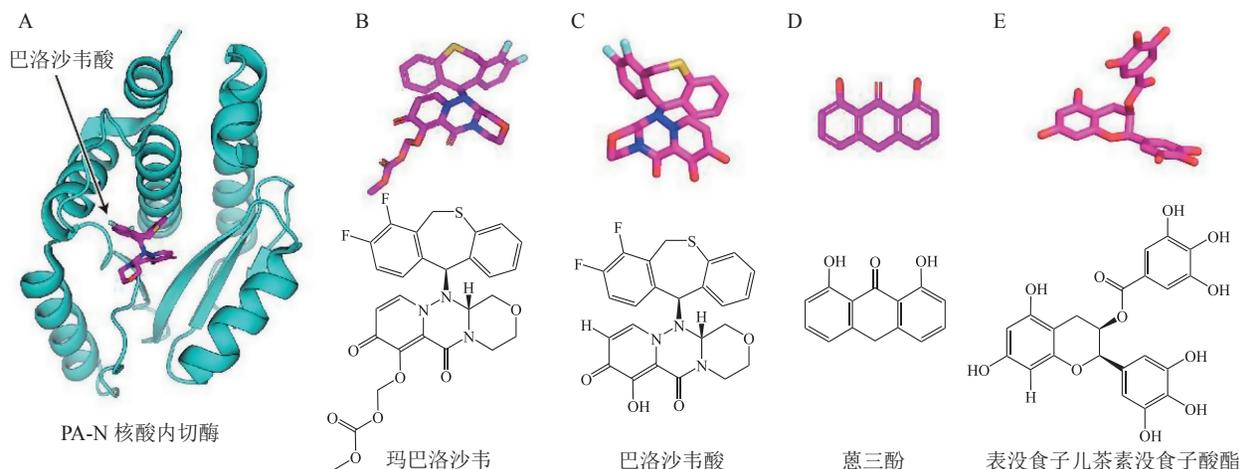
玛巴洛沙韦 (baloxavir marboxil) 由日本盐野义制药与罗氏合作合作开发的新型抗流感药物, 其商品名称为 Xofluza (见图 3B)。玛巴洛沙韦 (baloxavir marboxil) 是巴洛沙韦酸 (baloxavir acid) (S-033447) 的前药^[44] (见图 3C)。Baloxavir marboxil 口服进入人体后, 被芳基乙酰胺脱乙酰酶迅速水解成 baloxavir acid, 能够特异性结合流感病毒聚合酶 PA-N 核酸内切酶活性区域, 从而抑制宿主 mRNA 被 PA 切割, 阻断流感病毒基因组的转录。临床前研究表明, 单剂量的巴洛沙韦可显著降低病毒载量并显著提高小鼠的存活率, 对暴露于致死剂量的小鼠, 甚至在病毒感染 24~96 h 后给药, 都能显示极

显著的抗病毒作用。此外, 该前药在临床阶段评估中显示出对多种流感病毒的疗效 (包括 oseltamivir 耐药株)。单剂量的巴洛沙韦对人体没有明显的安全问题, 显示出较长的血浆消除半衰期 (49~91 h), 在给药 1 d 后可显著降低患者体内的病毒载量, 其效果优于 oseltamivir 和安慰剂^[45]。

然而, 一些临床试验表明, 对于一些易感人群, 包括儿童、青少年和老年人, 巴洛沙韦的疗效并不是很好, 并不能缩短流感病程^[45-46]。此外, 目前已有巴洛沙韦耐药株的出现。在一项 III 期临床试验中, 在 9.7% 接受巴洛沙韦治疗的患者中发现病毒在 PA 核酸内切酶活性位点发生 I38T/M/F 突变^[45], 使得突变病毒对巴洛沙韦的敏感性下降 11~57 倍。另外, 服用巴洛沙韦的一些不良反应, 如便血等也被报道^[47]。

因此, 开发新的抗流感病毒药物是有必要的。

目前, 一些天然化合物也被报道通过抑制 PA 亚基核酸内切酶功能发挥抗流感病毒作用。蒽三酚 (Anthralin), 是一种合成的天然化合物, 在体内外具有抑制流感病毒感染的活性^[48], 其发挥抗流感病毒的作用机制为抑制 PA 核酸内切酶活性以及 PB2 帽结合活性, 因此有望被开发成靶向聚合酶双功能的抗流感病毒药物 (见图 3D)。表没食子儿茶素没食子酸酯 [(-)-epigallocatechin-3-gallate, EGCG] 主要从茶叶中分离提纯, 是一种儿茶素类的单体, 具有独特的化学结构和生物活性^[49]。(见图 3E)。其发挥抗病毒的作用机制多样, 可通过抑制流感病毒 PA 亚基的核酸内切酶活性来发挥抗病毒效果。



A: PA-N 亚基结合巴洛沙韦的结构 (PDB ID: 6FSS)^[31]; B: 玛巴洛沙韦结构图 (上) 与化学结构式 (下); C: 巴洛沙韦结构图 (上) 与化学结构式 (下); D: 蒽三酚结构图 (上) 与化学结构式 (下); E: 表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 结构图 (上) 与化学结构式 (下)

图 3 流感病毒聚合酶 PA-N 结构域及其抑制剂

Figure 3 The PA-N domain and its inhibitors of influenza virus

2.3.2 PB2 帽结合域抑制剂 流感病毒聚合酶通过“抢帽” (cap-snatching) 机制起始转录, 此过程中 PB2 亚基的帽结合域可结合宿主细胞 Pol II 上新生成 mRNA 的 5' 端帽子结构 (m^7GpppN), 被捕获的宿主细胞 mRNA 再经 PA-N 切割后用于病毒 mRNA 的转录^[50-52]。PB2 亚基的帽结合域在不同亚型的流感病毒中高度保守, 是一个理想的抗流感病毒靶点 (见图 4A)。目前已有多种靶向该位点的小分子抑制剂处于临床前和临床研究阶段。

吡莫地韦 (pimodivir), 又名 VX-787 (JNJ-

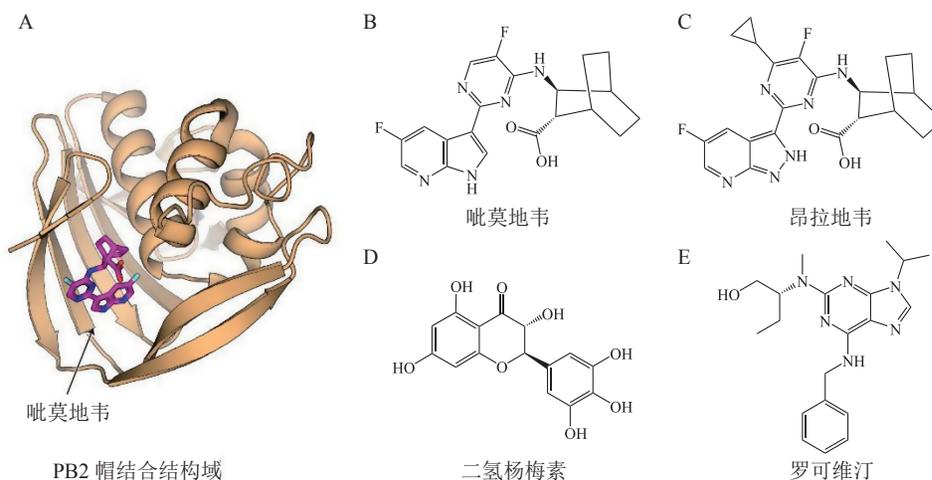
63623872), 是一种环己基羧酸类似物 (见图 4B)。Pimodivir 能占据 PB2 的帽结合区域, 与 PB2 的 E361 和 K376 氨基酸残基形成氢键, 抑制 PB2 结合宿主 mRNA 的 m^7G 帽子结构, 从而有效抑制 A 型流感病毒的活性^[52], 包括 M2 离子通道抑制剂耐药株和 NA 抑制剂耐药株, 其 EC_{50} 范围在纳摩尔级别。但其对 B 型流感病毒的抑制效果很微弱, 主要原因在于 B 型流感病毒 PB2 帽结合域中的氨基酸存在差异, 导致 pimodivir 结合亲和力下降^[53]。此外, pimodivir 易引起 PB2 帽结合域突变。一项 IIa 临床试

验中, 9.7% 的志愿者在接受 pimodivir 治疗的 3~7 d 后可分离出 PB2 突变病毒, 包括 S324C、K376R、M431L/R/V 等^[54]。在 7 名志愿者中有 4 名中检测到 PB2 M431I 突变, 并且使聚合酶对 pimodivir 的敏感性降低了 57 倍之多。遗憾的是, III 期临床试验结果显示, 与单用标准护理 (standard-of-care, SOC) 相比, pimodivir 联合 SOC 并没有超过现有护理标准的益处。2020 年 9 月, 强生旗下的杨森制药宣布停止开发 pimodivir^[55]。

昂拉地韦 (onradivir), 又名 ZSP1273, 是在 VX-787 的结构基础上改造而来, 提高了与 PB2 帽结合域亲合力^[56], 成为国内首个获批临床试验用于治疗 A 型流感病毒, 作用于 PB2 蛋白的小分子抑制剂 (见图 4C)。

临床前研究结果表明, onradivir 对包括 oseltamivir 耐药病毒株、玛巴洛沙韦耐药病毒株和高致病性禽流感病毒株在内的多种不同亚型流感病毒株均具有很强的抑制作用, 抗病毒效果显著高于 pimodivir 和 oseltamivir。Onradivir 目前已完成临床试验, 正在申请上市。

此外, 还有多种 PB2 帽结合抑制剂被报道。二氢杨梅素 (dihydromyricetin) 被报道通过竞争性占据 PB2 帽结合域, 可抑制多种甲型流感病毒株的复制^[57] (见图 4D); 罗可维汀 (roscovitine), 一种细胞周期蛋白 B 激酶的抑制剂, 也被报道可特异性结合 PB2 帽结合域, 对多种流感病毒株具有抑制作用, 包括 H1N1、H3N2 等^[58] (见图 4E)。



A: PB2 帽结合结构域结合吡莫地韦的结构 (PDB ID: 7AS0)^[55]; B: 吡莫地韦化学结构式; C: 昂拉地韦化学结构式; D: 二氢杨梅素化学结构式; E: 罗可维汀化学结构式

图 4 流感病毒聚合酶 PB2 帽结合结构域及其抑制剂

Figure 4 The PB2 cap-binding domain and its inhibitors of influenza virus

2.3.3 PB1 RNA 合成抑制剂 流感病毒聚合酶催化反应中心位于 PB1 亚基内部, 负责催化并将核苷酸添加至 RNA 产物链上。通过干扰 PB1 亚基合成病毒 RNA, 从而抑制病毒基因组转录和复制 (见图 5A)。

法匹拉韦 (favipiravir), 也称 T-705, 是由日本制药企业对具有抗流感病毒活性的先导化合物 T-1105 进行优化而来^[59] (见图 5B)。Favipiravir 对包括 A 型、B 型和 C 型流感病毒在内的多种流感毒株, 以及金刚烷类药物耐药毒株、NA 抑制剂类耐药毒株均具有抑制作用, 其 EC₅₀ 为 0.014~0.55 μg·ml⁻¹。研究表明, favipiravir 可作为嘌呤类似物竞争性抑制病毒 RNA

的合成。Favipiravir 是一种前药, 其在细胞中被磷酸化成为活性的核糖核酸三磷酸盐 (ribonucleoside triphosphate, RTP), favipiravir-RTP 可掺入新生病毒 RNA 链中阻止 RNA 链的进一步延伸^[60]。

2014 年, favipiravir 在日本获批上市, 用于治疗成人新发或复发型流感。鉴于在动物安全试验中发现 favipiravir 可能导致胎儿畸形, 以及肝功能损害等, 日本政府要求, 只有在日本国内发生新型流感, 而国家判定其他药物无法有效对抗时, 该药才可被允许生产。因此, favipiravir 在日本被作为防备新型流感和禽流感的战略储备药物。2020 年 2 月,

favipiravir 在中国获批上市, 在其他药物治疗效果不佳时, 可用于治疗成人的流感病毒感染。

利巴韦林 (ribavirin), 又名病毒唑 (virazole), 也是一种合成的核苷类似物, 被报道具有广谱抗 RNA 病毒的活性 (见图 5C), 包括抗丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV)、呼吸道合胞体病毒 (respiratory syncytial virus, RSV)、流感病毒 (influenza virus)、登革病毒 (dengue virus)、诺如病毒 (norovirus) 及马尔堡病毒 (marburg virus) 等^[61]。利巴韦林可通过抑制流感病毒聚合酶的 RNA 合成活性来实现对流感病毒的抑制效果。利巴韦林进入细胞后, 会被磷酸化为 RTP。细胞内不断积累的 RTP 作为三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 和三磷酸鸟苷 (guanosine triphosphate, GTP) 的结构类似物, 可竞争性结合病毒的 RNA 聚合酶, 插入 RNA 产物链中, 导致产物链延伸的终止, 或者诱发灾难性的突变^[62]。

除了上面提到的 2 种已上市药物外, 还有一些处于早期研究中的核苷类似物以及非核苷类似物抑制剂也被报道可作为 RNA 聚合酶复合物的底物从而抑制流感病毒的活性。Kumaki 等^[63]证明了氟代脱氧核糖核苷 (2'-deoxy-2'-fluorocytidine, 2'-FdC) 是一种潜在的流感病毒聚合酶抑制剂 (见图 5D)。该化合物能够抑制包括低致病性和高致病性的禽流感 H5N1 病毒、H1N1 大流行毒株、耐 oseltamivir H1N1 大流行毒株, 以及季节性流感病毒如 H3N2、H1N1 及 B 型流感病毒等多种流感病毒毒株, 为开发抑制包括高致病性禽流感 H5N1 在内的流感病毒药物提供研究基础^[64]。

2.3.4 蛋白-蛋白相互作用抑制剂 通过干扰流感病毒聚合酶亚基之间的蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 以开发高耐药性的化合物是一种新兴的方法和方向。目前针对流感病毒聚合酶 PPI 的药物靶点主要有 PA-PB1 和 PB1-PB2 相互作用界面, 其中 PA-PB1 界面具有疏水性、空间相对较小和包含高度保守的氨基酸残基的特点, 是研究和开发最多的抑制剂靶点^[65] (见图 5E)。

Watanabe 等^[66]于 2017 年采用高通量虚拟筛选技术筛选获得小分子抑制剂 PA-49 (见图 5F)。PA-49 可以抑制 PA-PB1 相互作用, 阻碍

PA 的核内易位, 从而抑制新生病毒核蛋白 (viral ribonucleoprotein, vRNP) 的组装。PA-49 对包括 A 型流感病毒 (H1N1、H3N2 等) 及 B 型流感病毒在内的多种流感病毒株均有抑制作用, 其中对 A/Puerto Rico/8/34(H1N1) 毒株的 EC_{50} 为 $(0.53 \pm 0.01) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。通过计算机模拟技术发现, PA-49 与流感病毒 PA 蛋白结合, 其结合部位位于 PA 与 PB1 结合区域^[66]。2017 年, Reuther 等^[67]通过体外活性体系筛选获得多个 PB1-PB2 相互作用抑制剂, 且具有抗甲型流感病毒活性, 其 EC_{50} 为 $1.4 \sim 4.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

目前针对流感病毒聚合酶相互作用的小分子抑制剂还没有表现出理想的流感病毒抑制活性, 且不具备成药性, 需要更多的改造与优化工作。

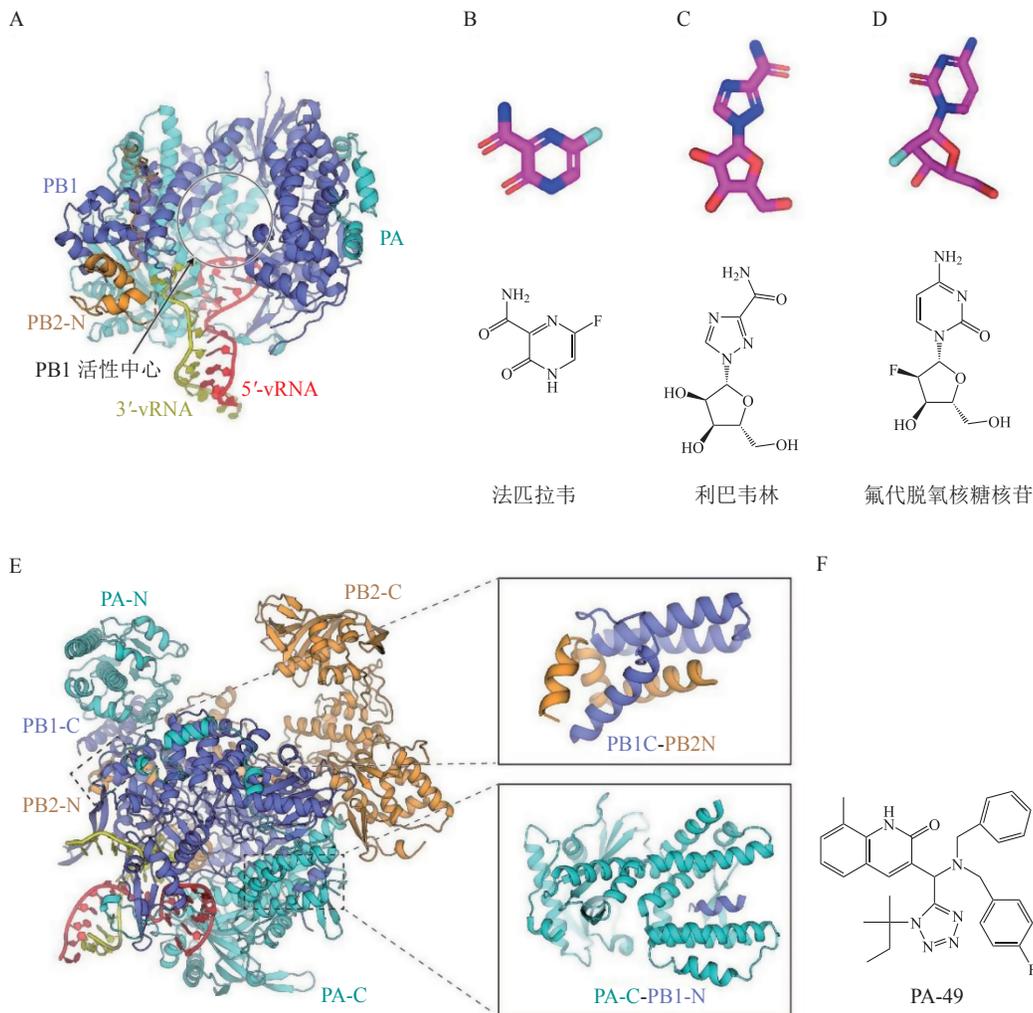
2.4 核蛋白抑制剂

流感病毒 NP 是 vRNP 复合体的关键组成部分, 在 RNA 组装、核运输以及 vRNA 转录复制过程中发挥重要作用。NP 功能多样, 其结构在不同亚型流感病毒株中高度保守, 是抗流感病毒药物的热门靶点之一 (见图 6A)。

Kao 等^[68]于 2010 年通过高通量虚拟筛选发现的针对流感病毒 NP 蛋白的小分子抑制剂 nucleozin (见图 6B)。其能诱导 NP 蛋白聚集, 阻碍 NP 蛋白入核, 从而阻断病毒 RNP 的形成, 导致病毒转录复制停止。该化合物体内活性高, 能够抑制多种 A 型流感病毒株 (H1N1, H3N2 和 H5N1 等), 其 EC_{50} 为 $10 \sim 70 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。此外, 目前已有针对 nucleozin 改造的研究报道^[69], nucleozin 衍生物的抗病毒活性得到进一步提升, 有望开发成一种具有全新作用机制的抗流感病毒药物。

S119, 双(4-t-丁基苯基)甲酰胺类对苯二胺, 是 White 等^[70]通过高通量筛选发现的一种新型 NP 抑制剂, 能够促进 NP 蛋白异常寡聚化、抑制下游 mRNA 合成, 具有抗 A 型流感病毒活性的作用 (见图 6C)。S119-8 为 S119 类似物, 其广谱抗病毒活性获得增强, 具有抗多种乙型流感病毒和耐 oseltamivir 甲型流感病毒的活性, 其半数抑制浓度 (half-maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 为 $1.43 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。此外, 研究发现 S119-8 与

oseltamivir 之间具有协同作用, 二者联合应用能够增强 oseltamivir 的疗效、减少耐药性^[70]。



A: 流感病毒聚合酶转录起始结构模式图 (PDB ID: 8H69)^[64]; B: 法匹拉韦结构图(上)与化学结构式(下); C: 利巴韦林结构图(上)与化学结构式(下); D: 氟代脱氧核糖核苷(2'-FdC)结构图(上)与化学结构式(下); E: 聚合酶蛋白的结构 (PDB ID: 8H69) (左), 其中 PA 亚基以青色表示, PB1 亚基以蓝色表示, PB2 亚基以橙色表示, 图中右侧分别展示了 PB1-PB2 和 PA-PB1 相互作用界面。F: PA-49 的化学结构式

图 5 流感病毒聚合酶及蛋白-蛋白相互作用界面

Figure 5 The influenza polymerase and its protein-protein interaction interface

萘普生 (naproxen) 属于非甾体抗炎药, 除抗炎作用外, 它还可以与 NP 蛋白结合, 抑制 CRM1 介导的 NP 出核, 阻断流感病毒的复制^[71-72] (见图 6D)。Naproxen 与 B 型流感病毒的 NP 结合能力更强, 故相较于甲型流感病毒, naproxen 抗乙型流感病毒活性更强, 是有前景的抗乙型流感病毒药物^[73]。

除上述药物外, 一种已经在俄罗斯上市的药物英格韦林 (ingavirin) 具有广谱抗病毒活性, 对流感病毒、副流感病毒、人体腺病毒等均有抑制活性^[74] (见图 6E)。研究发现, ingavirin 与流感病毒 NP

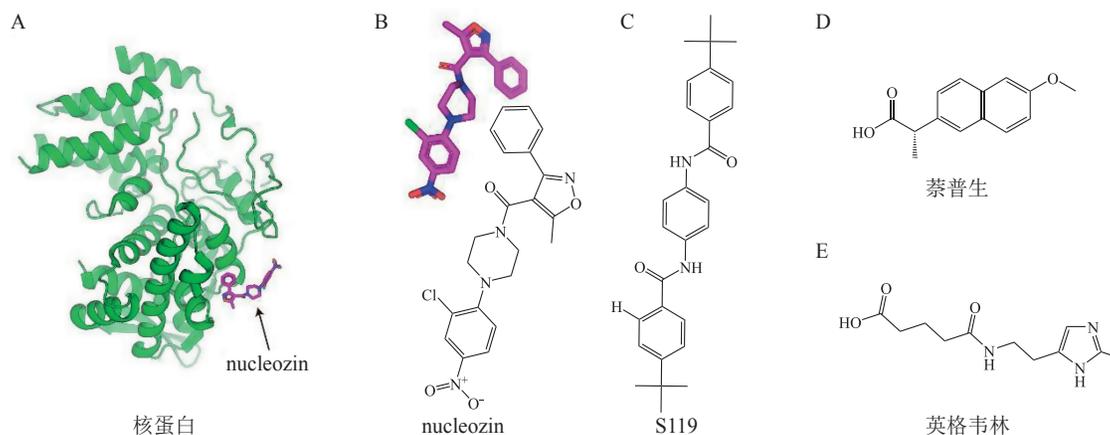
蛋白存在相互作用, 阻止病毒复制所需的 NP 寡聚化。

2.5 包膜糖蛋白血凝素抑制剂

流感病毒包膜糖蛋白 HA 是介导病毒入侵宿主细胞的关键蛋白, 在病毒吸附、膜融合等过程中起着关键作用。HA 由 HA1 和 HA2 亚单位组成, 以三聚体的形式分布于病毒囊膜表面。HA 三聚体从结构上可分为头部和茎部两部分, 其球状头部主要由 HA1 的结构域构成, 包含 HA 受体结合位点; 杆状茎部主要由三聚体 HA2 亚基胞外区构成, HA2 的 N 端前 23 个残基是融合功能肽, 被 HA1 亚基的 N、

C 端形成的疏水结构包裹^[75]。内吞体的酸化作用可诱导 HA1 重排, 导致 HA2 融合功能肽从疏水结构中释放出来并被低 pH 环境诱导发生不可逆重构^[76]。重构的融合功能肽伸出并插入胞内体膜中, 然后将

病毒包膜与内吞体膜融合在一起, 使得 RNP 释放到细胞质中。靶向 HA 的抑制剂可以阻断病毒生命周期的早期阶段。



A: 核蛋白结合小分子 nucleozin 的结构 (PDB ID: 5B7B)^[71]; B: nucleozin 结构图 (紫色) 与化学结构式; C: S119 化学结构式; D: 萘普生化学结构式; E: 英格韦林化学结构式

图 6 流感病毒核蛋白及其抑制剂

Figure 6 The nucleoprotein and its inhibitors of influenza virus

阿比多儿 (arbidol) 是非核苷类抗病毒药物, 于 1993 年在俄罗斯首次上市 (见图 7A)。Arbidol 具有广谱抗病毒活性, 对包括流感病毒、疱疹病毒、汉坦病毒、呼吸道合胞病毒等多种 RNA 病毒、DNA 病毒、包膜病毒和无包膜病毒均具有抑制作用^[77]。Arbidol 可作为膜融合抑制剂发挥抗流感病毒作用, 其可结合在 HA 的疏水孔隙中, 发挥分子胶的作用, 稳定 HA 的构象, 防止酸诱导的 HA2 重构, 从而抑制 HA 参与的膜融合过程 (见图 7B)。然而, 病毒对 Arbidol 的敏感程度与 HA 融合功能肽的稳定性密切相关^[78]。

靶向 HA 的单克隆中和性抗体可识别和清除入侵的病毒。筛选得到具有广泛中和作用的 HA 单克隆抗体对流感病毒具有重大意义。CR6261 是从接种季节性流感疫苗的人体内分离得到的一株中和性抗体^[79], 其表现出对 H1、H2、H5、H6、H8 和 H9 流感亚型广谱中和活性, 可保护小鼠免受致命的 H1N1 或 H5N1 的威胁 (见图 7C)。CR6261 的 Fab 段分别与 H1N1 和 H5N1 的 HAs 共结晶结构表明该抗体可以结合 HA2 茎部近膜区高度保守的 α -helix (残基 38~58), 因此能稳定 HA2 构象, 阻止病毒

融合。VIS410 是另一种靶向 HA 茎部的单克隆抗体, 是一株广谱的甲型流感病毒抗体, 用于治疗感染甲型流感的住院患者^[80]。目前 CR626 和 VIS410 等都已进入临床研究评估阶段, 但疗效并不理想, 有待进一步探索。

3 结语与展望

20 世纪以来, 新发突发高致病性和高传染性病原层出不穷, 传播速度快、危害大、范围广, 严重威胁人类生命安全。我国虽已具备流感疫苗、药物等抗流感的初步手段, 但仍然有所欠缺。另一方面, 病毒突变和由药物滥用导致的病毒耐药性越来越严重, 使得临床治疗手段受限。因此, 研发新靶点、新结构、新作用机制的抗病毒药物具有重要意义。

流感病毒作为代表性高致病性病原, 对于我们开展病原体变异规律、致病机制、机体防疫机制等基础研究, 及病毒疫苗、抗病毒药物等防治病毒的应用研究都是极为重要的。相信通过对流感病毒的不断深入的研究, 可为下一次的流感暴发提供包括抗病毒药物在内的多种应对措施。此外, 也为应对新发突发病原的防控做好资源储备。

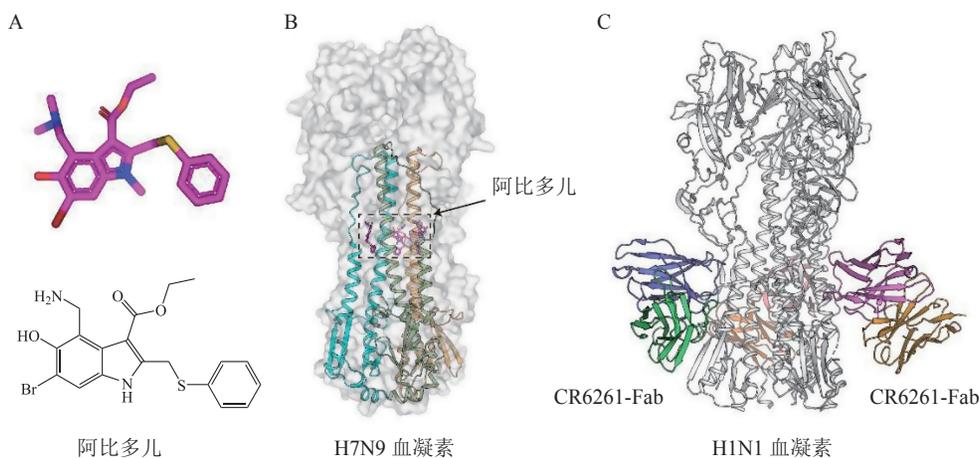


图 7 流感病毒血凝素及其抑制剂

Figure 7 The haemagglutinin and its inhibitors of influenza virus

[参考文献]

- [1] Harrington W N, Kackos C M, Webby R J. The evolution and future of influenza pandemic preparedness[J]. *Exp Mol Med*, 2021, 53(5): 737-749.
- [2] Johnson N P, Mueller J. Updating the accounts: global mortality of the 1918-1920 "Spanish" influenza pandemic[J]. *Bull Hist Med*, 2002, 76(1): 105-115.
- [3] Wormser G P. COVID-19 versus seasonal influenza 2019-2020: USA[J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2020, 132(13/14): 387-389.
- [4] Kain T, Fowler R. Preparing intensive care for the next pandemic influenza[J/OL]. *Crit Care*, 2019, 23(1): 337[2024-03-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6819413/>. DOI: 10.1186/s13054-019-2616-1.
- [5] Weber F, Elliott R M. Antigenic drift, antigenic shift and interferon antagonists: how bunyaviruses counteract the immune system[J]. *Virus Res*, 2002, 88(1/2): 129-136.
- [6] Swierczynska M, Mirowska-Guzel D M, Pindelska E. Antiviral drugs in influenza[J/OL]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(5): 3018[2024-03-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8910682/>. DOI: 10.3390/ijerph19053018.
- [7] Fouchier R A, Munster V, Wallensten A, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls[J]. *J Virol*, 2005, 79(5): 2814-2822.
- [8] Bouvier N M, Palese P. The biology of influenza viruses[J]. *Vaccine*, 2008, 26(Suppl 4): 49-53.
- [9] Couceiro J N, Paulson J C, Baum L G. Influenza virus strains selectively recognize sialyloligosaccharides on human respiratory epithelium; the role of the host cell in selection of hemagglutinin receptor specificity[J]. *Virus Res*, 1993, 29(2): 155-165.
- [10] Lakadamyali M, Rust M J, Zhuang X. Endocytosis of influenza viruses[J]. *Microbes Infect*, 2004, 6(10): 929-936.
- [11] Schnell J R, Chou J J. Structure and mechanism of the M2 proton channel of influenza A virus[J]. *Nature*, 2008, 451(7178): 591-595.
- [12] Gao J J, Gui M, Xiang Y. Structural intermediates in the low pH-induced transition of influenza hemagglutinin[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(11): e1009062[2024-03-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7728236/>. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009062.
- [13] Martin K, Helenius A. Transport of incoming influenza virus nucleocapsids into the nucleus[J]. *J Virol*, 1991, 65(1): 232-244.
- [14] Bui M, Whittaker G, Helenius A. Effect of M1 protein and low pH on nuclear transport of influenza virus ribonucleoproteins[J]. *J Virol*, 1996, 70(12): 8391-8401.
- [15] Hutchinson E C, Fodor E. Nuclear import of the influenza A virus transcriptional machinery[J]. *Vaccine*, 2012, 30(51): 7353-7358.
- [16] Taylor J M, Illmensee R, Litwin S, et al. Use of specific radioactive

- probes to study transcription and replication of the influenza virus genome[J]. *J Virol*, 1977, 21(2): 530–540.
- [17] Hatada E, M. H, Mukaigawa J, *et al.* Control of influenza virus gene expression: quantitative analysis of each viral RNA species in infected cells[J]. *J Biochem.*, 1989, 105(4): 537–546.
- [18] Nayak D P, Hui E K, Barman S. Assembly and budding of influenza virus[J]. *Virus Res*, 2004, 106(2): 147–165.
- [19] Wandinger-Ness A, Bennett M K, Antony C, *et al.* Distinct transport vesicles mediate the delivery of plasma membrane proteins to the apical and basolateral domains of MDCK cells[J]. *J Cell Biol*, 1990, 111(3): 987–1000.
- [20] Elton D, Simpson-Holley M, Archer K, *et al.* Interaction of the influenza virus nucleoprotein with the cellular CRM1-mediated nuclear export pathway[J]. *J Virol*, 2001, 75(1): 408–419.
- [21] Zhang J, Hu Y, Musharrafieh R, *et al.* Focusing on the influenza virus polymerase complex: recent progress in drug discovery and assay development[J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(13): 2243–2263.
- [22] Galvão M G A, Santos M A R C, Alves Da Cunha A J L. Amantadine and rimantadine for influenza A in children and the elderly[J/OL]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, 2014(11): CD002745[2024-03-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7093890/>. DOI: 10.1002/14651858.CD002745.pub4.
- [23] Dong G Y, Peng C, Luo J, *et al.* Adamantane-resistant influenza A viruses in the world (1902-2013): frequency and distribution of M2 gene mutations[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0119115[2024-03-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119115>.
- [24] Bright R A, Medina M J, Xu X, *et al.* Incidence of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses isolated worldwide from 1994 to 2005: a cause for concern[J]. *Lancet*, 2005, 366(9492): 1175–1181.
- [25] Thomaston J L, Polizzi N F, Konstantinidi A, *et al.* Inhibitors of the M2 proton channel engage and disrupt transmembrane networks of hydrogen-bonded waters[J]. *J Am Chem Soc*, 2018, 140(45): 15219–15226.
- [26] Davidson S. Treating Influenza infection, from now and into the future[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 10(9): 1946[2024-03-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6139312/>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01946.eCollection 2018.
- [27] Freund B, Gravenstein S, Elliott M, *et al.* Zanamivir: a review of clinical safety[J]. *Drug Saf*, 1999, 21(4): 267–281.
- [28] Doucette K E, Aoki F Y. Oseltamivir: a clinical and pharmacological perspective[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2001, 2(10): 1671–1683.
- [29] Yamashita M. Laninamivir and its prodrug, CS-8958: long-acting neuraminidase inhibitors for the treatment of influenza[J]. *Antivir Chem Chemother*, 2010, 21(2): 71–84.
- [30] Sidwell R W, Smee D F. Peramivir (BCX-1812, RWJ-270201): potential new therapy for influenza[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2002, 11(6): 859–869.
- [31] Oakley A J, Barrett S, Peat T S, *et al.* Structural and functional basis of resistance to neuraminidase inhibitors of influenza B viruses[J]. *J Med Chem*, 2010, 53(17): 6421–6431.
- [32] Samson M, Pizzorno A, Abed Y, *et al.* Influenza virus resistance to neuraminidase inhibitors[J]. *Antiviral Res*, 2013, 98(2): 174–185.
- [33] Agrawal A S, Sarkar M, Ghosh S, *et al.* Genetic characterization of circulating seasonal influenza A viruses (2005-2009) revealed introduction of oseltamivir resistant H1N1 strains during 2009 in eastern India[J]. *Infect Genet Evol*, 2010, 10(8): 1188–1198.
- [34] Abed Y, Baz M, Boivin G. Impact of neuraminidase mutations conferring influenza resistance to neuraminidase inhibitors in the N1 and N2 genetic backgrounds[J]. *Antivir Ther*, 2006, 11(8): 971–976.
- [35] Burnham A J, Baranovich T, Marathe B M, *et al.* Fitness costs for Influenza B viruses carrying neuraminidase inhibitor-resistant substitutions: underscoring the importance of E119A and H274Y[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(5): 2718–2730.
- [36] He J Y, Li C, Wu G. Discovery of potential drugs for human-infecting H7N9 virus containing R294K mutation[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 1(8): 2377–2390.
- [37] Varghese J N, Smith P W, Sollis S L, *et al.* Drug design against a shifting target: a structural basis for resistance to inhibitors in a variant of influenza virus neuraminidase[J]. *Structure*, 1998, 6(6): 735–746.
- [38] Ivachtchenko A V, Ivanenkov Y A, Mitkin O D, *et al.* Novel oral anti-influenza drug candidate AV5080[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69(7): 1892–1902.
- [39] Macdonald S J, Watson K G, Cameron R, *et al.* Potent and long-acting dimeric inhibitors of influenza virus neuraminidase are effective at a once-weekly dosing regimen[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(12): 4542–4549.
- [40] Stevaert A, Naesens L. The influenza virus polymerase complex: an

- update on its structure, functions, and significance for antiviral drug design[J]. *Med Res Rev*, 2016, 36(6): 1127–1173.
- [41] Fujita J. Introducing the new anti-influenza drug, baloxavir marboxil[J]. *Respir Investig*, 2020, 58(1): 1–3.
- [42] He X, Zhou J, Bartlam M, *et al.* Crystal structure of the polymerase PA(C)-PB1(N) complex from an avian influenza H5N1 virus[J]. *Nature*, 2008, 454(7208): 1123–1126.
- [43] Yuan P, Bartlam M, Lou Z, *et al.* Crystal structure of an avian influenza polymerase PA(N) reveals an endonuclease active site[J]. *Nature*, 2009, 458(7240): 909–913.
- [44] Abraham G M, Morton J B, Saravolatz L D. Baloxavir: a novel antiviral agent in the treatment of influenza[J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(7): 1790–1794.
- [45] Hayden F G, Sugaya N, Hirotsu N, *et al.* Baloxavir marboxil for uncomplicated influenza in adults and adolescents[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(10): 913–923.
- [46] 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]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 64(7): 119–120.
- [47] Kanai N, Hashimoto T, Fukuda M, *et al.* Acute ischemic colitis with hematochezia related to baloxavir marboxil treatment for influenza A[J]. *J Infect Chemother*, 2019, 25(12): 1040–1042.
- [48] Hu A, Li J, Tang W, *et al.* Anthralin suppresses the proliferation of influenza virus by inhibiting the cap-binding and endonuclease activity of viral RNA polymerase[J/OL]. *Front Microbiol*, 2020, 18(11): 178[2024-03-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7040080/>. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00178.
- [49] Ide K, Kawasaki Y, Kawakami K, *et al.* Anti-influenza virus effects of catechins: a molecular and clinical review[J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(42): 4773–4783.
- [50] 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.
- [51] Severin C, Rocha De Moura T, Liu Y, *et al.* The cap-binding site of influenza virus protein PB2 as a drug target[J]. *Acta Crystallogr D Struct Biol*, 2016, 72(Pt 2): 245–253.
- [52] Clark M P, Ledebor M W, Davies I, *et al.* Discovery of a novel, first-in-class, orally bioavailable azaindole inhibitor (VX-787) of influenza PB2[J]. *J Med Chem*, 2014, 57(15): 6668–6678.
- [53] Takashita E. Influenza polymerase inhibitors: mechanisms of action and resistance[J/OL]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2021, 11(5): a038687[2024-03-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8091960/>. DOI: 10.1101/cshperspect.a038687.
- [54] Trevejo J M, Asmal M, Vingerhoets J, *et al.* Pimodivir treatment in adult volunteers experimentally inoculated with live influenza virus: a Phase IIa, randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. *Antivir Ther*, 2018, 23(4): 335–344.
- [55] Gregor J, Radilova K, Brynda J, *et al.* Structural and thermodynamic analysis of the resistance development to pimodivir (VX-787), the clinical inhibitor of cap binding to PB2 subunit of influenza a polymerase[J/OL]. *Molecules*, 2021, 26(4): 1007[2024-03-15]. <https://doi.org/10.3390/molecules26041007>.
- [56] Hu Y, Li H, Wu M, *et al.* Single and multiple dose pharmacokinetics and safety of ZSP1273, an RNA polymerase PB2 protein inhibitor of the influenza A virus: a phase 1 double-blind study in healthy subjects[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2021, 30(11): 1159–1167.
- [57] Tian Y, Sang H, Liu M, *et al.* Dihydropyrimidinone is a new inhibitor of influenza polymerase PB2 subunit and influenza-induced inflammation[J]. *Microbes Infect*, 2020, 22(6/7): 254–262.
- [58] Huang Q, Zhong Y, Li J, *et al.* Kinase inhibitor roscovitine as a PB2 cap-binding inhibitor against influenza a virus replication[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526(4): 1143–1149.
- [59] Furuta Y, Takahashi K, Shiraki K, *et al.* T-705 (favipiravir) and related compounds: novel broad-spectrum inhibitors of RNA viral infections[J]. *Antiviral Res*, 2009, 82(3): 95–102.
- [60] Furuta Y, Komeno T, Nakamura T. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase[J]. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2017, 93(7): 449–463.
- [61] De Clercq E, Li G. Approved antiviral drugs over the past 50 years[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2016, 29(3): 695–747.
- [62] Parker W B. Metabolism and antiviral activity of ribavirin[J]. *Virus Res*, 2005, 107(2): 165–171.
- [63] Kumaki Y, Day C W, Smee D F, *et al.* *In vitro* and *in vivo* efficacy of fluorodeoxycytidine analogs against highly pathogenic avian influenza H5N1, seasonal, and pandemic H1N1 virus infections[J]. *Antiviral Res*, 2011, 92(2): 329–340.
- [64] Li H, Wu Y, Li M, *et al.* An intermediate state allows influenza

- polymerase to switch smoothly between transcription and replication cycles[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2023, 30(8): 1183–1192.
- [65] Massari S, Goracci L, Desantis J, *et al*. Polymerase acidic protein–basic protein 1 (PA–PB1) protein–protein interaction as a target for next-generation anti-influenza therapeutics[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(17): 7699–7718.
- [66] Zhang J T, Hu Y M, Musharrafieh R, *et al*. Focusing on the influenza virus polymerase complex: recent progress in drug discovery and assay development[J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(13): 2243–2263.
- [67] Yuan S F, Chu H, Ye J H, *et al*. Identification of a novel small-molecule compound targeting the influenza A virus polymerase PB1–PB2 interface[J/OL]. *Antiviral Res*, 2016, 137: 58–66[2023-03-05]. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.11.005>.
- [68] Kao R Y, Yang D, Lau L-S, *et al*. Identification of influenza A nucleoprotein as an antiviral target[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(6): 600–605.
- [69] Pei S, Chen J, Yang J, *et al*. Design, synthesis and biological evaluation of nucleozin sulfonyl piperazine derivatives as anti-influenza A virus inhibitors[J]. *Lett Org Chem*, 2023, 20(6): 501–506.
- [70] White K M, Jr Abreu P, Wang H, *et al*. Broad spectrum inhibitor of influenza A and B viruses targeting the viral nucleoprotein[J]. *ACS Infect Dis*, 2018, 4(2): 146–157.
- [71] Pang B, Cheung N N, Zhang W Z, *et al*. Structural characterization of H1N1 nucleoprotein-nucleozin binding sites[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 29684[2024-03-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4939526/>. DOI: 10.1038/srep29684.
- [72] Lejal N, Tarus B, Bouguyon E, *et al*. Structure-based discovery of the novel antiviral properties of naproxen against the nucleoprotein of influenza A virus[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(5): 2231–2242.
- [73] Zheng W N, Fan W H, Zhang S, *et al*. Naproxen exhibits broad anti-influenza virus activity in mice by impeding viral nucleoprotein nuclear export[J]. *Cell Rep*, 2019, 27(6): 1875–1885.
- [74] Zarubaev V V, Garshinina A V, Kalinina N A, *et al*. Activity of Ingavirin (6-[2-(1*H*-imidazol-4-yl)ethylamino]-5-oxo-hexanoic acid) against human respiratory viruses in *in vivo* experiments[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2011, 4(12): 1518–1534.
- [75] Gamblin S J, Vachieri S G, Xiong X L, *et al*. Hemagglutinin structure and activities[J/OL]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2021, 11(10): a038638[2024-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8485738/>. DOI: 10.1101/cshperspect.a038638.
- [76] Skehel J J, Wiley D C. Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin[J/OL]. *Annu Rev Biochem*, 2000: 531–569[2024-03-15]. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.531>.
- [77] Kang Y, Shi Y, Xu S L. Arbidol: The current demand, strategies, and antiviral mechanisms[J/OL]. *Immun Inflamm Dis*, 2023, 11(8): e984[2024-03-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10461429/>. DOI: 10.1002/iid3.984.
- [78] Li Z Y, Li T, Liu M S, *et al*. Hemagglutinin stability determines influenza A virus susceptibility to a broad-spectrum fusion inhibitor arbidol[J]. *ACS Infect Dis*, 2022, 8(8): 1543–1552.
- [79] Ekiert D C, Bhabha G, Elsliger M A, *et al*. Antibody recognition of a highly conserved influenza virus epitope[J]. *Science*, 2009, 324(5924): 246–251.
- [80] Sloan S E, Szretter K J, Sundaresh B, *et al*. Clinical and virological responses to a broad-spectrum human monoclonal antibody in an influenza virus challenge study[J]. *Antiviral Res*, 2020, 184: 104763[2024-03-05]. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104763>.



【专家介绍】梁欢欢：教授，博士生导师。中山大学“百人计划”中引进的青年杰出人才，广东省杰出青年基金获得者。梁欢欢课题组主要利用免疫学和生物化学方法研究流感病毒复制及宿主免疫调控的分子机制，发现新的药物靶标并开发新型药物和诊断试剂，目前已经建立了系统全面的包括基础研究和临床应用转化在内的工作体系。曾获得国家自然科学基金、科技部重点研发计划、广东省杰出青年基金、深圳市科创委重点等项目支持，以（共同）第一或通讯作者在 *Nat Struct Mol Biol*, *Cell Rep*, *PNAS*, *Mol Cell*, *Cell Res*, *Nat Commun*, *Angew Chem Int Ed Engl* 等国际期刊发表论文 20 余篇。