

## HIV蛋白酶抑制剂在冠状病毒感染中应用的研究进展

宋智慧<sup>1</sup>,白玉涵<sup>1,2</sup>,邵晓霞<sup>3</sup>,徐姗姗<sup>1</sup>,韩芙蓉<sup>1</sup>,张弢<sup>1\*</sup>

1. 首都医科大学附属北京同仁医院 药学部,北京 100730;2. 内蒙古民族大学附属医院 药剂科,内蒙古 通辽 028007;3. 曲靖市第二人民医院 药学部,云南 曲靖 655000

**【摘要】** 新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)疫情发生以来,建议的治疗方案在持续更新中。目前没有特效药物,很多药物仅仅是推荐试用,也有一些新药在开展临床研究,如瑞德西韦。相对于新药,开发已上市药物新的适应证在安全性方面更有优势,如人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)蛋白酶抑制剂(protease inhibitors, PIs)。此类药物目前为HIV感染治疗的二线用药,但曾被推荐用于严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)、中东呼吸综合征(Middle East respiratory syndrome, MERS)以及COVID-19。本文拟对HIV PIs在冠状病毒(coronavirus, CoV)感染中应用的研究情况进行综述,以期为HIV PIs用于COVID-19治疗的可行性研究提供参考。

**【关键词】** 冠状病毒;严重急性呼吸综合征冠状病毒;中东呼吸综合征冠状病毒;HIV蛋白酶抑制剂

**【中图分类号】** R978.7

**【文献标识码】** B

**【文章编号】** 1672-3384(2020)04-0009-06

**Doi:** 10.3969/j.issn.1672-3384.2020.04.003

### Research progress on HIV protease inhibitors for coronavirus infection

SONG Zhi-hui<sup>1</sup>, BAI Yu-han<sup>1,2</sup>, SHAO Xiao-xia<sup>3</sup>, XU Shan-shan<sup>1</sup>, HAN Fu-rong<sup>1</sup>, ZHANG Chao<sup>1\*</sup>

1. Department of Pharmacy, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100730, China; 2. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Inner Mongolia University for the Nationalities, Inner Mongolia Tongliao 028007, China; 3. Department of Pharmacy, Qujing Second People's Hospital, Yunnan Qujing 655000, China

冠状病毒(coronavirus, CoV)是一类广泛存在的、对人及家畜具有潜在威胁的病原体。CoV是一种有包膜的正单链RNA病毒,其包膜有特有的太阳帽状刺突。冠状病毒分为 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 和 $\delta$ 四个属,中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)、严重急性呼吸综合征冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)以及新型冠状病毒即严重急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)均属于 $\beta$ 属冠状病毒。在SARS流行之前,已知仅有的两种人类致病性CoV是HCoV-229E和HCoV-OC43,而这两种病毒通常仅导致上呼吸道的自我限制性感染,当突如其来的SARS病毒肆虐时,才开始引起学者对抗冠状病毒

毒药物更多的关注<sup>[1]</sup>。

迄今为止,尚未批准任何用于治疗CoV相关疾病的药物上市。虽然MERS-CoV(C亚群)和SARS-CoV(B亚群)都属于 $\beta$ 冠状病毒属,但是MERS-CoV与靶细胞结合是由人二肽基肽酶4受体介导,而SARS-CoV-2与SARS-CoV则是利用血管紧张素转换酶2受体介导<sup>[2-3]</sup>。全基因组测序结果显示SARS-CoV-2与SARS-CoV保持了约80%核苷酸同源性,同时,作为CoV中产生的最丰富的蛋白质——核衣壳蛋白, SARS-CoV-2有90%氨基酸与SARS-CoV相同<sup>[4]</sup>。因此,研究者们推测用于SARS-CoV相关疾病的药物可能对SARS-CoV-2同样有效,人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)蛋白酶抑制剂(protease inhibitors, PIs)即为其中的一类。

\*通信作者:张弢, E-mail: laural.zhang@yahoo.com

HIV有1型和2型两种亚型,1型是目前全球流行的主要毒株,2型只在西非流行,所以目前研究最多的主要为HIV-1 PIs。沙奎那韦是获得美国食品药品监督管理局批准上市的第一个HIV PIs,之后陆续有利托那韦、茚地那韦和奈非那韦等相继上市<sup>[5]</sup>。此类药物的应用极大促进了获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)治疗的发展,但同时也存在一些缺点如生物利用度偏低、耐受性差、需要多频次给药等。随着此类药物广泛应用,研究者发现低剂量利托那韦可以作为其他PIs的激动剂。因利托那韦为CYP3A4强效抑制剂,与其他药物联合使用,可提升其他PIs浓度,延长药物作用时间,从而减少其他PIs单一用药的剂量及频次。世界卫生组织以及欧洲、美国的指南中均将增强型PIs作为成人及青少年AIDS治疗的二线方案,但某些特殊情况下的初始治疗推荐增强型PIs,美国推荐药物为阿扎那韦/利托那韦、阿扎那韦/考比西坦、达芦那韦/考比西坦、达芦那韦/利托那韦。我国目前推荐的增强型PIs主要为洛匹那韦/利托那韦、达芦那韦/考比西坦。

## 1 SARS与PIs

Báez-Santos等<sup>[2]</sup>研究认为CoV蛋白酶在病毒基因表达和复制过程中起着关键作用,它是一个高度复杂的级联反应,涉及复制酶多蛋白的蛋白水解过程。SARS-CoV基因组的2/3基因负责编码病毒复制酶,该基因被翻译成两个重叠的复制酶多蛋白。这些多蛋白随后被两种病毒蛋白酶即3C样蛋白酶(3C-like protease, 3CLpro)和木瓜样蛋白酶(papain-like protease, PLpro)切割,产生病毒复制所必需的非结构蛋白。其余1/3基因负责编码病毒的结构蛋白,即刺突蛋白(spike, S)、包膜蛋白(envelope, E)、膜蛋白(membrane, M)和核衣壳蛋白(nucleocapsid, N)。SARS-CoV复制过程中必不可少的酶包括3CLpro、PLpro、解旋酶和RNA依赖的RNA聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)。由于PLpro、3CLpro在病毒的生命周期中发挥了重要的作用,因此这些酶是抗SARS药物设计的理想靶标。有研究认为SARS-CoV的3CLpro(也称为SARS-CoV主要蛋白

酶)是感染后表达的分子之一,在病毒复制过程中起重要作用<sup>[6-7]</sup>,Wu等<sup>[8]</sup>发现HIV蛋白酶抑制剂可以阻断3CLpro,于是HIV PIs用于SARS-CoV的研究引起更多关注。

### 1.1 体外研究

关于HIV PIs对CoV的作用是否有效的体外研究结果存在争议。Chen等<sup>[9]</sup>筛选了不同的抗病毒化合物对10种SARS-CoV临床分离株的作用。这些化合物包括核苷类逆转录酶抑制剂(nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTIs)齐多夫定和司他夫定,非核苷类逆转录酶抑制剂(non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTIs)奈韦拉平,以及PIs类的利托那韦和洛匹那韦。研究结果表明,在fRHK-4细胞系中,洛匹那韦可产生针对SARS-CoV的抑制作用,而利托那韦则没有活性。Chu等<sup>[10]</sup>在体外研究中将SARS-CoV原型病毒分离,洛匹那韦(4  $\mu\text{g/mL}$ )和利巴韦林(50  $\mu\text{g/mL}$ )孵育48 h后表现出抗SARS-CoV的体外活性,但96 h后抑制作用逐渐消失。分子动力学模拟结果表明,当洛匹那韦和利托那韦结合SARS-CoV 3CLpro的活性位点时,可清楚地观察到皮瓣关闭,但二者对SARS-CoV 3CLpro的结合亲和力没有显著差异,提示洛匹那韦和利托那韦均可能对SARS-CoV有类似的抑制作用<sup>[11]</sup>。另一项分子对接实验的数据表明,HIV-1 PIs对SARS-CoV蛋白酶的抑制作用强度依次为:洛匹那韦>利托那韦>安普那韦>替普那韦>沙奎那韦<sup>[12]</sup>。以上研究均提示洛匹那韦可能通过抑制3CLpro对SARS-CoV产生抑制作用。

Yamamoto等<sup>[13]</sup>证实洛匹那韦和利托那韦对SARS-CoV均无作用,而奈非那韦可抑制Vero E6细胞中的SARS-CoV(FKM-1株)复制, $\text{EC}_{50}$ 为0.048  $\mu\text{mol/L}$ 。进一步的研究提示,奈非那韦可能是通过与主要蛋白酶以外的某些分子相互作用达到完全抑制SARS-CoV的复制。显然,这与前面大多数研究结果并不相同,但作者并未进一步对这种争议进行讨论。

基于以上研究结果,虽然洛匹那韦/利托那韦对于SARS-CoV是否有抑制作用存在一定争议,但大多数研究结果还是支持其具有一定的体外活性,并且是通过抑制3CLpro而实现对SARS-CoV抑制。

## 1.2 临床研究

HIV PIs的抗HIV-1活性基于对HIV-1天冬氨酸蛋白酶的抑制作用,该酶负责裂解包含主要病毒酶和结构病毒核心蛋白的Gag/Pol多肽,从而抑制病毒复制。一项观察性研究中发现,与SARS患者密切接触的HIV-1感染患者并未感染SARS病毒,考虑可能与HIV-1感染患者中的大多数正在接受鸡尾酒疗法有关<sup>[14]</sup>。

中国香港地区的一项回顾性研究中,在初始治疗时,与接受利巴韦林和皮质类固醇的标准治疗的对照组相比,在标准治疗基础上联合洛匹那韦/利托那韦(400 mg/100 mg, q 12 h, 疗程为10~14 d)的治疗组患者总死亡率(2.3% vs. 15.6%)和插管率(0% vs. 11.0%)均显著降低( $P<0.05$ );甲泼尼龙平均使用剂量更低(1.6 g vs. 3.0 g,  $P<0.05$ )。但对于抢救治疗的患者,在标准治疗基础上联合洛匹那韦/利托那韦的治疗组,与标准治疗的对照组相比,在总死亡率、氧饱和度改善和插管率差异无统计学意义,且平均甲泼尼龙的使用剂量更高。这表明SARS一经诊断,即开始应用洛匹那韦/利托那韦效果更好<sup>[15]</sup>。Peiris等<sup>[16]</sup>开展的一项前瞻性研究结果也证实接受洛匹那韦/利托那韦作为初始治疗的患者似乎病程较轻,病毒载量减少。因此,现有证据表明,早期应用HIV PIs可能有助于降低SARS的传染以及延缓病程的进展。

## 2 MERS与PIs

MERS-CoV是一类具有包膜的单股正链RNA病毒,属于冠状病毒 $\beta$ 种属C亚群,于2012年6月首次从沙特阿拉伯Bisha地区一名商人的呼吸道中分离出来,该商人随后死于肺炎和肾功能衰竭<sup>[17]</sup>。与SARS相比,感染MERS的患者病情恶化以及死亡发生更快,且病死率高达34.5%,为所有人类CoV感染中最高<sup>[18]</sup>。

### 2.1 体外和体内研究

MERS与SARS均为CoV感染,多种HIV PIs类药物如奈非那韦和洛匹那韦等被认为可以抑制SARS-CoV,故此类药物是否可以用于MERS-CoV备受关注。Falzarano等<sup>[19]</sup>发现洛匹那韦/利托那韦在体外对MERS-CoV没有活性。随后Chan等<sup>[20]</sup>在细胞病变抑

制实验中,也观察到奈非那韦和洛匹那韦并没表现出抗Vero细胞中的MERS-CoV活性。在抗MERS-CoV活性药物筛选中,却发现洛匹那韦在Vero E6和Huh-7细胞中可以抑制MERS-CoV,  $EC_{50}=8 \mu\text{mol/L}$ , 低于单次口服洛匹那韦/利托那韦(商品名克力芝, 400 mg 洛匹那韦/100 mg 利托那韦)的 $C_{\max}$ ,提示此类药物对MERS-CoV可能有效<sup>[21]</sup>。一项在感染了MERS的普通狨(栖于中南美洲的小长尾猴)中进行的研究发现,与未给予任何药物治疗的对照组相比,给予洛匹那韦/利托那韦和干扰素 $\beta$ -1b的治疗组临床症状评分更高,体重减轻更少,肺浸润更少,病毒载量和死亡率更低<sup>[22]</sup>。一项关于瑞德西韦、洛匹那韦、利托那韦和干扰素 $\beta$ 联合治疗抗MERS-CoV疗效比较的体内研究表明,应用感染MERS-CoV的小鼠,预防性使用洛匹那韦/利托那韦和干扰素 $\beta$ 仅略微降低了病毒载量,并未影响其他疾病参数,且治疗剂量虽一定程度改善了肺功能,但未能改善体重减轻、病毒复制或严重的肺部病理。而瑞德西韦显示出对MERS-CoV复制的有效抑制,  $EC_{50}$ 为 $0.09 \mu\text{mol/L}$ ,洛匹那韦和利托那韦 $EC_{50}$ 分别为 $11.6$ 、 $24.9 \mu\text{mol/L}$ ,表明无抑制作用<sup>[23]</sup>。

以上研究发现无论从体外研究还是动物体内研究角度,HIV PIs药物对MERS-CoV的作用并不统一,其原因可能与细胞实验类型、病毒亚型的选择有关,但多数研究结果倾向于对MERS-CoV无效,结论尚需要更多的临床研究进一步检验。

### 2.2 临床研究

鉴于PIs对MERS-CoV的体外及动物体内研究结果存在争议,相应的临床研究也相对较少,仅有个案报道。一名确诊为MERS-CoV感染的64岁男性患者,入院第4天开始给予洛匹那韦/利托那韦、利巴韦林和聚乙二醇化干扰素 $\alpha$ -2a(仅用1 d),总疗程为7 d,治疗第2天即开始退热,治疗6d后痰液中病毒检测转阴,提示以洛匹那韦/利托那韦为基础的三联抗病毒疗法可能用于某些MERS-CoV感染患者的治疗<sup>[24]</sup>。为此,沙特阿拉伯于2016年启动了一项随机对照试验(MIRACLE),目的是最终确定洛匹那韦/利托那韦和重组干扰素 $\beta$ -1b的联合治疗是否能改善患者的临床结果,迄今已纳入76例患者<sup>[25]</sup>。

SARS-CoV与MERS-CoV之间显然存在差异,并



且可能无法将 SARS-CoV 临床研究数据直接外推至 MERS-CoV 感染患者。关于 PIs 用于 MERS-CoV 的治疗经验仅依赖于有限的病例报告和观察性病例。Al-Tawfiq 等<sup>[26]</sup>认为这些研究本质上是非均质的,无法获得一个共同的结论,也就无法在临床实践中对于该类药物的使用提出更可靠的建议。

### 3 SARS-CoV-2 与 PIs

Pradhan 等<sup>[27]</sup>对 SARS-CoV-2 的全基因组特征研究显示, SARS-CoV-2 基因组与 SARS-CoV 具有 80% 相似性。最新研究表明, SARS-CoV-2 的 S 蛋白(刺突蛋白)中发现了 4 个插入片段,这 4 个片段是 SARS-CoV-2 所独有的,其他 CoV 中没有这些插入片段。但此文刊登后争议较多, Xiao 等<sup>[28]</sup>对 SARS-CoV-2、其他 CoV 和 HIV-1 的序列以及 GenBank 数据库进行了仔细的核对。结果表明,没有证据表明 SARS-CoV-2 中的这 4 个插入序列是 HIV-1 特异性的或 SARS-CoV-2 是从 HIV-1 获得这些插入序列,即 HIV-1 与 SARS-CoV-2 基因组无关。虽然 HIV-1 与 SARS-CoV-2 并无关联,但由于 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV、MERS-CoV 基因序列的高度相似性, HIV PIs 药物也曾用于后两者的治疗,因此推测 PIs 药物也可用于 SARS-CoV-2 的治疗。

#### 3.1 体外研究

现有体外研究初步表明 HIV PIs 对 SARS-CoV-2 可能有效。Lin 等<sup>[29]</sup>在 bioRxiv 发表研究,该团队通过同源建模建立了 SARS-CoV-2 内肽酶 C30(coronavirus endopeptidase C30, CEP-C30)和木瓜蛋白酶样病毒蛋白酶(papain like viral protease, PLVP)的结构模型,分别将利托那韦、洛匹那韦、达芦那韦与蛋白酶模型进行对接。在模拟中,利托那韦最适合与 CEP-C30 结合,可引起 CEP-C30 显著构象变化;洛匹那韦也可与 CEP-C30 结合,引起 CEP-C30 显著构象变化;达鲁那韦可与 PLVP 结合,但 PLVP 构象变化不大。因此该研究提示利托那韦/洛匹那韦对 COVID-19 的治疗作用可能主要是由于其对 CEP-C30 的抑制作用,利托那韦可能具有更强的疗效,达芦那韦对 SARS-CoV-2 的抑制作用及其潜在的治疗作用可能主要是由于其对 PLVP 的抑制作用。

Beck 等<sup>[30]</sup>在线发表的研究使用了基于深度学习的药物-靶向相互作用模型,称为分子转换-药物靶向相互作用(molecule transformer-drug target interaction, MT-DTI),以筛选可能对 SARS-CoV-2 病毒蛋白有效的市售药物。其中利托那韦、洛匹那韦、达芦那韦被预测能够与 SARS-CoV-2 的复制复合物成分结合,并具有抑制效力。

中国工程院院士、国家卫生健康委员会高级别专家组成员李兰娟团队研究发现,在体外细胞实验中,达芦那韦在 300 μmol/L 浓度下能显著抑制病毒复制,与未用药物处理组比较,抑制效率达 280 倍<sup>[31]</sup>。

然而,此类药物对 SARS-CoV-2 的作用机制可能与 SARS-CoV 不同。SARS 相关研究表明 HIV PIs 可能通过抑制 3CLpro 活性而达到 SARS-CoV 抑制作用,但 Chen 等<sup>[32]</sup>利用来自与 SARS-CoV 高度相似(96% 相同)的晶体结构制备了 SARS-CoV-2 3CLpro 的三维模型,虚拟筛选可能的有效药物时,洛匹那韦/利托那韦显示无效,这提示此药可能仅具体作用于 SARS-CoV 3CLpro,但对 SARS-CoV-2 的 3CLpro 没有抑制作用。

尽管上述候选药物经过体外细胞实验、计算机辅助技术初步测试等推测 HIV PIs 具有抗 SARS-CoV-2 活性,但其抗 SARS-CoV-2 的安全性和有效性还需要临床前研究和临床研究加以验证。

#### 3.2 临床研究

来自韩国一位 54 岁男性确诊为 COVID-19 后,使用洛匹那韦/利托那韦后第 2 天病毒载量降低,临床症状改善。提示洛匹那韦/利托那韦可以推荐给 COVID-19 的相对高危人群(老年患者或有基础疾病的患者)<sup>[33]</sup>。然而,最新的一项回顾性分析发现洛匹那韦/利托那韦对于 COVID-19 并无明显效果<sup>[34]</sup>。此项研究中纳入的 134 例患者均接受重组人干扰素 α-2b 喷雾治疗以及对症支持治疗,其中 52 例患者口服抗病毒药物洛匹那韦/利托那韦,34 例患者口服抗病毒药物阿比多尔,48 例患者作为对照组不服用任何抗病毒药物。比较 3 组患者治疗中位时间为 7 d 时的治疗效果。结果显示,洛匹那韦/利托那韦组和阿比多尔组在改善临床症状(如体温恢复正常)和加快病毒清除方面均未优于对照组,而洛匹那韦/利托那韦组的不良反应发生率却有高于对照组的趋势,这可能与使

用的药物剂量或疗程有关。提示洛匹那韦/利托那韦和阿比多尔对于COVID-19的治疗效果仍有待进一步评价。

一项在确诊SARS-CoV-2感染的成人住院患者中开展的随机、对照、开放标签的试验结果近日公布。研究人员将199例确诊患者以1:1的比例随机分组,对照组(100例)为常规治疗,试验组(99例)在常规治疗基础上加用每日2次口服洛匹那韦/利托那韦(400 mg/100 mg),疗程为14 d。该研究发现,试验组与对照组在临床改善时间方面无显著性差异,治疗28 d死亡率相似,在各时间点可检出病毒RNA的患者百分比相似。在改良意向治疗分析中,与对照组相比,试验组使临床状况改善的中位时间提前了1 d。不良反应方面,试验组的胃肠道不良事件发生率较高,而对照组的严重不良事件发生率较高。此外,在亚组分析中,研究团队发现患者发病12 d内使用洛匹那韦/利托那韦的获益趋势更为明显。因此,本研究的总体结论为洛匹那韦/利托那韦对重症COVID-19患者无明显疗效。目前这是首个关于COVID-19的RCT研究结果<sup>[35]</sup>。还有多项其他关于洛匹那韦/利托那韦、达芦那韦/考比司他的临床试验正在进行中。

#### 4 小结

从现有研究来看,很多HIV PIs对于CoV感染的治疗效果仍存在争议。无论SARS-CoV,还是MERS-CoV,均无明确的证据证实此类药物的有效性。但相对而言,多数研究认为PIs对于SARS-CoV有一定的抑制作用,而对MERS-CoV的研究更多倾向于无效。SARS-CoV-2与SARS-CoV有更多的基因序列同源性以及类似的病毒侵袭途径,虽然体外研究结果提示PIs对于SARS-CoV-2与SARS-CoV的作用靶点可能不尽相同,但毕竟现有的多数研究仍支持此类药物对SARS-CoV-2有效,因此笔者认为HIV PIs用于治疗COVID-19仍具有一定的可行性。目前新型冠状病毒肺炎疫情尚未结束,已有多项临床研究在中国临床试验注册中心以及ClinicalTrials网站注册。对于临床研究结果,推测HIV PIs类药物尽早用于轻症患者中有效的可能性更大,而对于重症患者可能不易得出有效性的结果,仍需进一步的临床试验结果确认。

#### 【参考文献】

- [1] Wang H, Xue S, Yang H, et al. Recent progress in the discovery of inhibitors targeting coronavirus proteases[J]. Virol Sin, 2016, 31(1): 24-30.
- [2] Báez-Santos Y M, John S E S, Mesecar A D. The SARS-coronavirus papain-like protease: structure, function and inhibition by designed antiviral compounds[J]. Antiviral Res, 2015, 115: 21-38.
- [3] Zhou P, Yang X L, Wang X G, et al. Apneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. Nature, 2020: 1-4.
- [4] Gralinski L E, Menachery V D. Return of the coronavirus: 2019-nCoV[J]. Viruses, 2020, 12(2): 135.
- [5] 申培博,韩秀珍.新型HIV-1蛋白酶抑制剂的研究进展[J].生命的化学, 2019, 39(6): 1175-1187.
- [6] 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.
- [7] Thiel V, Ivanov K A, Putics A, et al. Mechanisms and enzymes involved in SARS coronavirus genome expression[J]. J Gen Virol, 2003, 84(9): 2305-2315.
- [8] Wu C Y, Jan J T, Ma S H, et al. Small molecules targeting severe acute respiratory syndrome human coronavirus[J]. Proc Natl Acad Sci, 2004, 101(27):10012-10017.
- [9] Chen F, Chan K H, Jiang Y, et al. In vitro susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds[J]. J Clin Virol, 2004, 31(1): 69-75.
- [10] Chu C M, Cheng V C C, Hung I F N, et al. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings[J]. Thorax, 2004, 59(3): 252-256.
- [11] Nukoolkarn V, Lee V S, Malaisree M, et al. Molecular dynamic simulations analysis of ritonavir and lopinavir as SARS-CoV 3CLpro inhibitors [J]. J Theor Biol, 2008, 254 (4) : 861-867.
- [12] Dayer M R, Taleb-Gassabi S, Dayer M S. Lopinavir: apotent drug against coronavirus infection: insight from molecular docking study[J]. Arch Clin Infect Dis, 2017, 12(4):e13823.
- [13] Yamamoto N, Yang R, Yoshinaka Y, et al. HIV protease inhibitor nelfinavir inhibits replication of SARS-associated coronavirus [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 318 (3) : 719-725.
- [14] Chen X P, Li G H, Tang X P, et al. Lack of severe acute respiratory syndrome in 19 AIDS patients hospitalized together[J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2003, 34(2):242-243.
- [15] Que T L, Wong V C W, Yuen K Y. Treatment of severe acute respiratory syndrome with lopinavir/ritonavir: a multicenterretrospective matched cohort study[J]. Hong Kong Med J, 2003, 9(6): 399-406.
- [16] Peiris J S M, Chu C M, Cheng V C C, et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study[J]. The Lancet, 2003, 361(9371): 1767-1772.
- [17] Al-Tawfiq J A, Memish Z A. Managing MERS-CoV in the healthcare setting[J]. Hosp Pract, 2015, 43(3): 158-163.
- [18] Chan J F, Lau S K, To K K, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus: another zoonotic beta coronavirus causing SARS-like disease [J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28 (2) :

- 465–522.
- [19] Falzarano D, de Wit E, Rasmussen A L, et al. Treatment with interferon alpha-2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV infected rhesus macaques [J]. *Nat Med*, 2013, 19(10): 1313–1317.
- [20] Chan J F W, Chan K H, Kao R Y T, et al. Broad-spectrum antivirals for the emerging Middle East respiratory syndrome coronavirus [J]. *J Infect*, 2013, 67(6): 606–616.
- [21] de Wilde A H, Jochmans D, Posthuma C C, et al. Screening of an FDA-approved compound library identifies four small-molecule inhibitors of Middle East respiratory syndrome coronavirus replication in cell culture [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(8): 4875–4884.
- [22] Chan J F, Yao Y, Yeung M L, et al. Treatment with lopinavir/ritonavir or interferon  $\beta$ -1b improves outcome of MERS-CoV infection in a nonhuman primate model of common marmoset [J]. *J Infect Dis*, 2015, 212(12): 1904–1913.
- [23] Sheahan T P, Sims A C, Leist S R, et al. Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1–14.
- [24] Kim U J, Won E J, Kee S J, et al. Combination therapy with lopinavir/ritonavir, ribavirin and interferon- $\alpha$  for Middle East respiratory syndrome: a case report [J]. *Antivir Ther*, 2016, 21(5): 455–459.
- [25] Arabi Y M, Alothman A, Balkhy H H, et al. Treatment of Middle East respiratory syndrome with a combination of lopinavir-ritonavir and interferon  $\beta$ -1b (MIRACLE trial): study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Trials*, 2018, 19(1): 81.
- [26] Al-Tawfiq J A, Memish Z A. Update on therapeutic options for Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2017, 15(3): 269–275.
- [27] Pradhan P, Pandey A K, Mishra A, et al. Uncanny similarity of unique inserts in the 2019-nCoV spike protein to HIV-1 gp120 and Gag [EB/OL]. (2020-01-30) [2020-02-23]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.30.927871v2>.
- [28] Xiao C, Li X, Liu S, et al. HIV-1 did not contribute to the 2019-nCoV genome [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 378–381.
- [29] Lin S, Shen R, Guo X. Molecular modeling evaluation of the binding abilities of ritonavir and lopinavir to Wuhan pneumonia coronavirus proteases [EB/OL]. (2020-01-31) [2020-02-23]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.31.929695v2>.
- [30] Beck B R, Shin B, Choi Y, et al. Predicting commercially available antiviral drugs that may act on the novel coronavirus (2019-nCoV), Wuhan, China through a drug-target interaction deep learning model [EB/OL]. (2020-01-31) [2020-02-23]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.31.929547v1>.
- [31] 黄琪, 李兰娟: 这两种药能有效抑制冠状病毒 [N/OL]. (2020-02-05) [2020-02-23]. <http://lxjk.people.cn/n1/2020/0205/c431658-31572019.html>.
- [32] Chen Y W, Yiu C P, Wong K Y. Prediction of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) 3C-like protease 3CLpro structure: virtual screening reveals velpatasvir, ledipasvir, and other drug repurposing candidates [EB/OL]. (2020-02-17) [2020-02-23]. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.11831103.v2>.
- [33] Lim J, Jeon S, Shin H Y, et al. Case of the index patient who caused tertiary transmission of COVID-19 infection in Korea: the application of lopinavir/ritonavir for the treatment of COVID-19 infected pneumonia monitored by quantitative RT-PCR [J]. *J Korean Med Sci*, 2020, 35(6): e79.
- [34] 陈军, 凌云, 席秀红, 等. 洛匹那韦利托那韦和阿比多尔用于治疗新型冠状病毒肺炎的有效性研究 [J/OL]. (2020-2-23) [2020-02-23]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1182592.htm>.
- [35] Cao B, Wang Y M, Wen D N, et al. A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe COVID-19 [J/OL]. (2020-03-18) [2020-03-20]. [https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2001282?query=featured\\_home](https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2001282?query=featured_home).

收稿日期: 2020-03-20

本文编辑: 周园