

· 流感大流行100周年 ·

抗流感病毒药物的回顾、现状和展望

王业明 曹彬

100029 北京,中日友好医院呼吸与危重症医学科国家呼吸疾病临床研究中心,首都医科大学呼吸病学系

通信作者:曹彬, Email:caobin_ben@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.08.008

【摘要】 抗流感病毒治疗作为救治流感感染的关键手段,但目前临床可及的有效抗病毒药物仅有神经氨酸酶抑制剂(neuraminidase inhibitors, NAIs)。由于NAIs疗效的限制和耐药情况的出现,亟需研发疗效更优和耐药率更低的新型抗流感病毒药物。目前,诸多不同抗流感病毒机制的药物已处于上市前临床试验阶段。

【关键词】 抗病毒药物; 流感; 治疗; 神经氨酸酶抑制剂

基金项目: 国家杰出青年科学基金(81425001/H0104); 科技部应急专项(10600100000015001206)

Perspectives of antiviral drugs used on influenza Wang Yeming, Cao Bin

Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, China-Japan Friendship Hospital; National Clinical Research Center for Respiratory Diseases, Department of Respiratory Medicine, Capital Medical University, Beijing 100029, China

Corresponding author: Cao Bin, Email: caobin_ben@163.com

【Abstract】 Antiviral drugs on influenza are important in the control program of influenza. Options for influenza treatment are currently limited to using the neuraminidase inhibitors (NAIs). Given limited effectiveness of NAIs and related resistance, there remains an urgent need for the development of influenza antiviral drugs that can improve the efficacy and provide low propensity of viral resistance. Several influenza-related antiviral drugs that are currently under the late-stage clinical trials all appear differently in the mechanism of action. It is hoped that when new antiviral drugs are licensed, care and outcomes of severe influenza cases will be improved.

【Key words】 Antiviral agent; Influenza; Therapy; Neuraminidase inhibitors

Fund programs: National Science Fund for Distinguished Young Scholars (81425001/H0104); National Science and Technology Emergency Project (10600100000015001206)

流感是影响人类生命和健康的重要传染性疾病,给全球经济卫生带来了沉重负担。美国CDC最新的评估数据显示,流感每年可导致全球291 243~645 832例死亡,较之前WHO估计的250 000~500 000人死亡数更高^[1]。2009年全球范围内暴发新型H1N1流感疫情,造成众多患者死亡,尤其是儿童和年轻人^[2]。此外,我国暴发的人感染H7N9禽流感疫情引起国际社会广泛关注^[3-4]。从2013年人感染H7N9禽流感出现以来,对其流行病学、病毒学和临床特征等方面有了一定的认识,但病死率仍高达40%左右^[5]。我国必须要准备有效措施应对随时可能出现的流感大流行。

抗流感病毒药物作为控制流感疫情的重要手段,需要重视新药研发和临床研究开展。由于新型H1N1流感病毒对M2蛋白阻滞剂存在耐药性,金刚烷胺和金刚乙胺已不作为推荐治疗流感病毒感

染^[6]。目前临床推荐治疗流感感染的药物主要为神经氨酸酶抑制剂(neuraminidase inhibitors, NAIs),如奥司他韦。2009年新型H1N1流感疫情在我国暴发,奥司他韦甚至成为战略储备药物。近年来,抗流感病毒药物的研发取得一定的进展,多种具有不同作用机制(非神经氨酸酶抑制)的抗流感病毒药物已经研制成功,并正在进行临床试验来评估其有效性和安全性^[7]。这些药物包括流感病毒多聚酶抑制剂和病毒5'帽状(CAP)结构依赖性核酸内切酶抑制剂。

流感感染根据病情严重程度分为轻症/普通流感(以呼吸道症状为主,且主要在门诊或者社区医院就诊)和重症流感^[8]。由于重症流感的定义和概念尚未统一,部分研究定义为因流感致病毒性肺炎或者流感致基础疾病急性加重而住院,则属于重症流

感;也有部分研究定义为因流感导致呼吸衰竭或者入住ICU则属于重症流感。笔者建议,将流感严重程度分为轻症流感(mild influenza/uncomplicated influenza)和住院流感(severe influenza/complicated influenza),其中住院流感患者中并发呼吸衰竭、急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)或者入住重症病房的标准定义为重症流感患者(critical ill patients due to influenza)。强调流感感染严重程度分类,是因为新的抗流感病毒药物需要分别在不同严重程度的人群以及部分特殊人群(包括儿童、高龄患者、孕妇和存在基础疾病的患者)进行临床试验。以轻症流感为研究人群的临床研究,主要终点多为流感症状缓解时间,且可以设置空白对照;以住院流感患者为研究对象,主要研究终点多为流感临床改善的复合指标或者病死率,多以奥司他韦作为阳性对照。

一、NAIs

目前临床上可用于治疗和预防流感感染的药物仅限于NAIs。其中,奥司他韦是第一个用于治疗甲型流感和乙型流感的口服NAIs。由于其口服方便以及吸收利用度高,也是应用最广泛的药物。奥司他韦还可以起到流感病毒暴露后预防的作用,因此本文将奥司他韦作为NAIs代表进行介绍。

1. 作用机制:所有流感病毒表面均有血凝素(hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶(neuraminidase, NA)两个糖蛋白。HA与细胞表面的 $\alpha 2' 3$ 或 $\alpha 2' 6$ 唾液酸受体结合感染细胞。NA切割新组装的病毒颗粒和细胞表面的唾液酸受体的连接,释放病毒颗粒感染其他细胞。奥司他韦是在体内需要水解反应以转化成活性形式(奥司他韦羧酸盐)。活性产物具有与NA类似的结构,可以与其作用的部位竞争性紧密结合,从而抑制NA的切割作用,阻断流感病毒的释放。

2. 治疗轻症流感:众所周知,NAIs是目前治疗轻症流感病毒感染的唯一有效药物。2000年由罗氏公司发起的随机对照临床试验(randomized controlled trial, RCT)纳入374例既往健康流感患者,奥司他韦组流感症状持续的中位时间缩短为71.5 h,与安慰剂对照组相比(时间 $M=103.3$ h)有显著差别^[8]。但部分学者认为临床获益仅为缩短流感症状时间30 h左右并无重要意义,且其价格较高,因此奥司他韦治疗流感地位并未受到大家关注和认可。随后罗氏公司不断努力推广奥司他韦治疗流感,但收效甚微。仅有2006年Cochrane协作网的荟萃分析支持

奥司他韦治疗流感的结果受到一定关注,但文章发表后就不断受到质疑,因为该荟萃分析纳入的10项RCTs中仅有2项经过了同行评阅,其他8项研究均未发表^[9]。随后Cochrane协作网开始了向罗氏追讨未发表的奥司他韦临床研究数据的漫长过程,最终获取所有数据。2014年发表再分析的结果显示奥司他韦确实可以缩短成年人流感症状17 h,儿童流感症状29 h,但流感导致肺炎的发生率并未下降^[10]。

与Cochrane协作网基于RCTs摘要中数据的荟萃分析结果不同,2015年Dobson等^[11]再次进行单个病例资料荟萃分析,结果表明早期使用奥司他韦可以有效降低下呼吸道感染发生率和住院率。由于受到罗氏公司的资助,有学者质疑此研究存在利益冲突,不过作者声称罗氏公司并未参与数据处理和分析。但无论如何,奥司他韦作为治疗轻症流感的有效药物已经逐渐被大家所接受。2017年Venkatesan等^[12]进行荟萃分析进一步证实奥司他韦治疗轻症流感的疗效。该研究纳入了2009—2010年间3 376例H1N1感染的患者,25.8%的患者发病后在门诊或者社区接受了奥司他韦治疗,其中38.8%的患者出现了呼吸困难,50.5%的患者住院治疗。对入院前使用NAIs和抗菌药物治疗两项因素匹配校正后,结果显示发病后接受奥司他韦治疗的患者的住院率明显低于未接受患者(aOR=0.24, 95%CI: 0.20~0.30)。目前,奥司他韦对于轻症流感的疗效已得到广泛认同。

3. 治疗住院流感:自奥司他韦上市以来,至今仍无严格设计的RCT评价奥司他韦治疗住院流感患者疗效。2005年出现人感染H5N1禽流感病例,在无高等级研究证据情况下,仅依据多项较大样本量的观察性研究,WHO推荐大量储备NAIs以应对全球可能出现人感染H5N1禽流感暴发,但后续H5N1禽流感疫情似乎并未出现大流行。2009年全球暴发新型H1N1流感疫情,由于缺乏对新型H1N1流感病毒所致疾病严重程度的认知(墨西哥首先报道新型H1N1流感疫情暴发且存在年轻人和儿童死亡),美国CDC和WHO均推荐广泛使用NAIs治疗流感^[13-14]。回顾当年的疫情,新型H1N1流感所致疾病严重程度似乎并不像我们想象的那么严重。为此,美国CDC作为政府机构因推荐奥司他韦用于治疗流感,而饱受多方质疑和批评。此后逐渐有研究证实,早期使用奥司他韦可以降低H1N1流感患者的病死率。两篇较为权威的荟萃分析总结了奥司他韦治疗住院流感的研究。Muthuri等^[15]纳入了2009—2011年78项研究,共包含29 234例H1N1感染的住院

患者,分析结果显示,与未使用奥司他韦患者相比,使用奥司他韦患者死亡率较低,但在儿童患者中使用奥司他韦未显示出明显病死率下降。进一步对使用奥司他韦的人群通过Cox回归分析发现,与发病2 d内使用奥司他韦相比,发病5 d内每延迟1 d使用,病死率的相对危险度增加1.23。随后,Muthuri等^[16]以住院流感患者的不同结局为终点再次进行荟萃分析,结果显示早期使用奥司他韦不能降低流感患者的肺炎发生率,但可以降低流感病毒性肺炎患者的机械通气率和病死率。至此,可知早期(发病2 d内)使用奥司他韦可以改善住院流感患者的预后,但奥司他韦用于治疗高危人群,儿童、老年人、孕妇和免疫抑制人群流感感染的疗效仍存在争议。

最近一项来源欧洲多个国家的注册登记研究结果表明孕妇使用奥司他韦无明显不良事件^[17]。该研究对2008—2010年研究中心的所有孕妇进行登记注册随访,5 824例(0.8%)存在NAIs暴露,暴露人群与未暴露人群相比未发现明显致畸,新生儿不良事件风险也未增加。

随着人感染H7N9禽流感疫情的出现,鉴于前期NAIs的抗病毒能力和临床获益,这类药物被广泛推荐用于禽流感病毒感染的治疗。H7N9禽流感疫情所造成的疾病严重程度远远高于新型H1N1流感病毒。最近发表的两项回顾性研究显示使用NAIs治疗人感染H7N9禽流感患者可能存在临床获益。一项单中心回顾性研究纳入2013—2017年160例人感染H7N9禽流感病例,通过比较发现发病2 d内使用奥司他韦病死率最低(15%),2~5 d使用患者病死率为23.1%,5 d以上使用病死率为37.5%^[18]。另一项纳入我国478例人感染H7N9禽流感病例,结果显示生存组比死亡组有更快的病毒转阴率^[19]。在NAIs广泛应用的情况下,H1N1流感住院患者的病死率为13.8%^[20],H7N9为40%^[5],H5N1高达52.7%^[21]。因此,亟需新型抗流感病毒药物改善住院流感患者预后。

4. 剂量选择:奥司他韦治疗轻症流感的推荐剂量为75 mg bid,疗程5 d,但部分学者推测双倍剂量奥司他韦治疗住院流感可能有更大获益。2009年新型H1N1流感疫情暴发,在缺乏高质量循证依据的情况下,WHO除推荐广泛使用奥司他韦治疗流感,还推荐双倍剂量奥司他韦治疗住院流感^[13]。Lee等^[22]在中国香港地区2所医院历时4个流感季,通过前瞻性观察性研究比较双倍和标准剂量奥司他韦治疗住院流感患者的临床疗效和病毒学变化,2所医

院分别使用不同剂量奥司他韦(双倍剂量和标准剂量),在流感季更替时2所医院使用奥司他韦的剂量交换。最终,41例流感患者接受双倍剂量治疗,114例接受标准剂量,结果发现双倍奥司他韦并无更多获益。同年在BMJ发表一项RCT研究,结果同样显示双倍剂量奥司他韦无更多获益^[23]。

从药代动力学数据看,标准剂量奥司他韦完全可以达到治疗效果。Ariano等^[24]入组了41例入住ICU疑似H1N1流感重症患者,给予标准剂量奥司他韦(75 mg bid),分别在第4剂和最后一剂给药后的2、4、6、9、12 h采集患者血浆,使用串联质谱技术测定奥司他韦以及活性产物的游离成分(游离浓度反映实际治疗浓度)。在36名未使用肾脏替代治疗的患者中,游离奥司他韦的浓度为 $M=10.4$ (4.8~14.9) $\mu\text{g/L}$,游离活性产物的浓度为 $M=404$ (257~900) $\mu\text{g/L}$,远远超过奥司他韦活性产物50%最大有效浓度(0.09~0.186 $\mu\text{g/L}$)。此外,该研究还发现奥司他韦的表观分布容积(apparent volume of distribution, VD)并未随着体重增加而增大。另一项仅纳入6例重症流感患者的研究发现,1例孕妇的奥司他韦药代动力学数据显示奥司他韦活性产物的VD在孕妇中会明显增大,标准剂量奥司他韦在孕妇中可能达不到治疗浓度,但由于是个案,需要进一步的研究证实^[25]。

双倍剂量奥司他韦治疗人感染禽流感患者似乎也无优势。由于H5N1感染人数较少,且广泛分布在我国以及东南亚国家,较难获得不同剂量奥司他韦治疗H5N1禽流感的依据。2013年我国出现人感染H7N9禽流感疫情,截止2018年5月已报道1 567例H7N9感染病例,病死率高达39.2%。Wang等^[19]回顾性收集478例H7N9感染病例,通过时依Cox比例风险模型分析,发现双倍剂量奥司他韦治疗组病毒RNA阳性率并不快于标准剂量组,临床转归亦无更大获益(JID)。由于人感染H7N9禽流感人数相对较少且高度散发,故难以开展高质量的前瞻性研究评价不同剂量奥司他韦的治疗效果。葛兰素史克公司期望双倍剂量扎那米韦治疗流感优于标准剂量扎那米韦和奥司他韦,其资助发起的国际多中心III期RCT,在全球26个国家纳入626例住院流感患者,随机分配到扎那米韦每日一次600 mg静脉注射,每日一次300 mg和75 mg bid的奥司他韦三组,主要终点为临床改善(复合指标)时间。但研究结果令人遗憾,600 mg扎那米韦组临床改善的时间 $M=5.14$ d,并不优于300 mg组的5.87 d和奥司他韦组的5.63 d^[26]。

总之,高剂量NAIs治疗流感缺乏高质量研究证据支持。

5. NAIs初始使用时间和疗效:奥司他韦治疗流感的高质量循证依据来源于轻症流感患者,而轻症流感的病毒排毒时间较短^[27],且流感病毒复制高峰在24~72 h内,众多指南推荐奥司他韦应在48 h内使用^[13-14]。但绝大部分住院流感患者从发病到入院时间超过48 h,错过最佳治疗时间窗,因此奥司他韦延迟治疗(48 h后使用)的疗效受到关注。

Lee等^[28]开展针对住院流感患者的前瞻性观察性研究,按照启动抗病毒时间进行分类并比较病毒学变化,结果显示48 h内启动抗病毒治疗病毒载量下降最快,2~3 d使用奥司他韦与未使用组相比仍有明显的病毒学获益。Fry等^[29]在孟加拉国开展的随机安慰剂对照研究纳入1 190例儿童患者($M=5$ 岁),794例(67%)的患者超过发病48 h,396例(33%)在发病48 h内,结果显示奥司他韦组比安慰剂对照组流感症状改善时间提前1 d($P=0.01$)。亚组分析发现48 h内和超过48 h使用奥司他韦,在治疗第2天和第4天病毒载量下降比例类似。可见,超过48 h使用奥司他韦似乎仍有一定疗效。

最近发表的一项研究进一步探索了奥司他韦延迟治疗的界限。Ramirez等^[30]以住院患者(发病到入院时间多超过48 h)为研究人群的前瞻性非盲法随机对照研究,评价经验性给予奥司他韦治疗疑似流感相关下呼吸道感染患者临床治疗失败情况(失败的复合指标包括:7 d内病情无明显缓解,24 h内转入ICU,30 d内再入院或者死亡)。该研究入组1 107例疑似流感相关下呼吸道感染的住院患者,从发病到入院中位时间为5 d,随机分配到对照组(不使用奥司他韦)和干预组(给予75 mg bid,疗程7 d)。意向性分析集的统计结果发现两组临床失败率差异无统计学意义(对照组失败率为25%,奥司他韦干预组失败率为24%; $P=0.561$),符合方案集的结果得出类似结果。但该研究存在一定的局限性,由于研究期间流感感染人数较少,入组人数无法达到预期样本量;对照组确诊流感下呼吸道感染的患者为45人,干预组为29人。确诊流感的患者人数较少,可能因为普通季节性流感病毒排毒时间较短,入院时病毒已经转阴。因此,针对季节性流感住院患者,发病超过5 d使用奥司他韦可能无明显获益,但仍需进一步研究证实。

与季节性流感不同,人感染禽流感病毒排毒时间长达15.5 d(明显长于季节性流感)^[19],部分禽流

感病毒感染患者病毒排毒时间长达30 d。人感染H7N9禽流感患者发病到住院时间平均为8 d,所以绝大部分患者入院时病毒仍处于阳性。Wang等^[19]发现病毒排毒时间与抗病毒使用时间相关,虽然5 d内使用抗病毒药物病毒学获益明显,但发病5 d后越早使用抗病毒治疗病毒排毒时间越短。

综上所述,发病48 h内使用NAIs效果最明显,2~5 d内抗病毒治疗仍存在一定获益。季节性流感发病超过5 d情况下,使用NAIs似乎无明显临床获益,但针对重症流感患者建议监测流感病毒转阴情况指导抗病毒药物的调整。由于禽流感患者病毒排毒时间明显长于季节性流感,针对发病超过5 d的禽流感患者,仍然建议使用奥司他韦治疗。

6. NAIs耐药性:WHO在2014—2015年收集了西太平洋、北美洲、欧洲地区的13 312份流感病毒株,94%的流感病毒株进行了奥司他韦、帕拉米韦、扎那米韦和拉尼米韦的耐药性检测,0.5%($n=68$)的流感病毒株对至少一种NAIs产生高度耐药($n=12$)或者部分耐药($n=56$)。2013—2014年的耐药率为1.9%,2012—2013年的耐药率为0.6%^[31]。最近,美国CDC于2018年2月16日发布的“MMWR—流感疫情”更新报道显示,自2017年10月1日以来,美国CDC对1 666株流感病毒进行了奥司他韦、帕拉米韦、扎那米韦耐药性检测,在检测的376株新型H1N1中,只有4株(1.1%)对奥司他韦和帕拉米韦耐药,这4株病毒均含有耐药性突变NAH275Y。对其中265株新型H1N1病毒进一步进行扎那米韦耐药性检测,结果显示所有新型H1N1病毒均对扎那米韦敏感。对903株H3N2病毒进行奥司他韦和扎那米韦耐药性检测,所有毒株均敏感。对其中638株H3N2进一步进行帕拉米韦敏感性检测,所有毒株均对帕拉米韦敏感。在对387株乙型流感病毒进行耐药性检测,结果显示所有的乙型流感病毒对奥司他韦、扎那米韦、帕拉米韦均敏感^[6]。

禽流感NAIs耐药情况与季节性流感不尽相同。Zou等^[32]动态采集11例人感染H7N9禽流感住院患者的呼吸道标本进行二代测序分析,结果发现R292K是最多的耐药性突变,在5例患者的9份样本中均检测到该突变。中国国家流感中心的Zhu等^[33]在第4、5波H7N9禽流感疫情期间,收集了411份感染患者鼻咽拭子,检测H7N9禽流感毒株与NAIs耐药相关的基因,结果发现低致病性H7N9禽流感毒株R292K的突变率为5.5%。在第5波疫情期间,我国南方地区发现人感染高致病性H7N9禽流感病例,

Yang等^[34]分析了来自28个HPAI患者毒株和21个环境样本中的毒株,结果发现17.9%的H7N9禽流感毒株存在抗病毒耐药基因R292K的突变。

总之,季节性流感对NAIs耐药率较低,H7N9禽流感毒株的耐药率稍高。

二、抗病毒药物联合应用

鉴于广泛使用奥司他韦治疗的情况下,住院流感以及禽流感病死率仍较高。因此,部分专家提出联合应用抗病毒药物治疗住院流感患者。其中,NAIs联合,以及奥司他韦、利巴韦林和金刚烷胺联合的疗效颇受期待。

1. NAIs联合:多数体外研究显示NAIs联合应用具有相加或者协同的作用,动物研究也显示奥司他韦联合帕拉米韦主要表现为相加作用^[35]。在健康受试者中开展的研究证实口服奥司他韦与静脉注射扎那米韦或者帕拉米韦未发现明显药代动力学的相互影响^[35]。但后续开展评价NAIs联合治疗流感的研究均未发现NAIs联合治疗存在优势,甚至一项开放标签的纳入H1N1感染的重症患者研究的结果显示联合治疗组,治疗7 d后75%的患者病毒仍然阳性^[36]。因此,认为NAIs之间存在不良的相互效应。

2. TCAD联合(triple-combination antiviral drug, TCAD):TCAD是指奥司他韦、金刚烷胺和利巴韦林三药联合。体外研究显示TCAD联合治疗具有协同作用^[37],甚至对初始奥司他韦和金刚烷胺耐药的H1N1毒株同样存在抗病毒作用^[38]。动物研究显示TCAD联合治疗相比奥司他韦单药治疗具有更高的获益^[39]。但一项纳入重症流感患者的回顾性观察性研究显示,与奥司他韦单药治疗相比,接受TCAD治疗的患者14 d(17% vs. 35%; $P=0.08$)和90 d(46% vs. 59%; $P=0.23$)病死率并无差异^[40]。最近,美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)的Beigel等^[41]开展的II期RCT评价TCAD治疗住院流感疗效的结果显示TCAD组的病毒检测阳性率比奥司他韦单药组低(40% vs. 50%, $P=0.046$),但次要终点流感症状持续时间两组间差异无统计学意义,将进一步寻找病毒学存在差异但临床疗效无明显获益的原因。因此,TCAD治疗流感的疗效尚不明确,需要进一步的循证依据。

三、具有临床应用前景的抗病毒药物

由于NAIs改善重症流感临床结局方面的疗效尚未得到证实,且耐药的流感病毒株不断出现,这种来源于基因突变的耐药现象,不会因为控制NAIs的应用而得到控制。因此,亟需寻找重症季节性流感

与禽流感的新型治疗方案。在颇具争议的奥司他韦独领风骚近20年后,抗流感病毒药物的研发似乎进入蓬勃发展时期,多个新型抗流感病毒药物已在部分国家上市或正在进行药物临床试验。

1. 作用于流感病毒的药物:

(1)法匹拉韦:又称T-705,是一种嘌呤核苷类似物的广谱抗病毒药物,对甲、乙和丙型流感病毒均具有有效抑制的广谱抗病毒药物。法匹拉韦口服吸收后,在细胞内磷酸化为T-705RDP和T-705RTP, T-705RTP为活性产物,作用于流感病毒多聚酶,直接抑制病毒RNA的复制。该药物目前已在日本上市。

Furuta等^[42]通过动物研究发现法匹拉韦降低肺部流感病毒载量似乎与剂量呈依赖关系,其中法匹拉韦200 mg/d剂量组治疗5 d后,H1N1感染小鼠生存率100%,病毒载量下降80%甚至检测不到。该团队在前期工作基础上,通过动物研究比较法匹拉韦与奥司他韦的疗效差异,结果显示法匹拉韦组小鼠肺组织中的病毒载量相比奥司他韦治疗组下降明显;与奥司他韦组小鼠仅10%~20%的生存率相比,法匹拉韦组小鼠的生存率高达90%~100%^[43]。另一项动物研究结果显示,法匹拉韦对H5N1禽流感病毒同样具有良好的抗病毒作用,与50 mg/kg的奥司他韦治疗组小鼠相比,300 mg/d法匹拉韦治疗H5N1感染小鼠,生存率几乎达到100%,甚至感染后72 h给药疗效也十分显著^[44]。

此外,法匹拉韦和奥司他韦还具有协同作用^[45]。Marathe等^[46]建立H5N1禽流感感染小鼠模型,评估法匹拉韦和奥司他韦联合治疗的效果,将小鼠分为对照组、法匹拉韦单药(每天50 mg/kg)、奥司他韦单药(每天20 mg/kg)和联合治疗组,实验结果表明奥司他韦单药组72 h和96 h的生存率均为40%,法匹拉韦单药组72 h和96 h的生存率为90%和40%,奥司他韦和法匹拉韦竟使H5N1感染小鼠生存率达到100%,甚至感染后96 h联合治疗组病死率仍改善明显。

日本Toyama公司完成了多项法匹拉韦治疗轻症流感的II/III临床研究(NCT02026349, NCT02008344),研究结果表明法匹拉韦相比于安慰剂能够明显缩短症状持续的时间,且未出现明显不良事件(研究结果未发表)。法匹拉韦对于住院流感的疗效目前尚无相关研究发表。为获取法匹拉韦治疗重症流感患者的药代动力学数据,曹彬等开展法匹拉韦治疗重症流感的II a期研究已经完成(NCT03394209)。计划于2018年底,开展法匹拉韦治疗因流感导致ARDS住院患者的III期临床研究。

(2)Baloxavir(S-033188):在日本获批上市的新型抗病毒药物,由日本盐野义制药和罗氏公司共同开发。目前,该药物的临床试验由罗氏公司主导。流感病毒感染细胞后,释放其内部8个基因片段,一部分复制成mRNA依赖宿主细胞的翻译系统进行病毒结构蛋白的合成,该mRNA需要同时具备5'帽状(CAP)结构(Cap依赖型核酸内切酶)和3'-poly(A)尾结构方可被宿主细胞翻译系统识别,其5'帽状(CAP)结构从宿主细胞的mRNA抢夺而来。S-033188在体内代谢为活性产物S-033447,与流感病毒RNA聚合酶复合体中PA亚基结合,抑制其从宿主细胞中获得宿主mRNA 5'帽状结构(CAP),阻断流感病毒mRNA的转录,进一步导致细胞内病毒初始结构无法组装成完整病毒^[47]。

最近,一项随机双盲多中心平行组安慰剂和奥司他韦对照设计的Ⅲ期临床试验(CAPSTONE-1)完成,共招募了1 436例既往健康流感患者。年龄20~64岁的患者随机按照2:2:1的比例分为三组,分别接受根据体重单次口服剂量40或80 mg的Baloxavir,75 mg bid常规药物或安慰剂,共服药5 d;年龄12~19岁的患者随机按照2:1的比例分组,分别接受单次口服Baloxavir或安慰剂。主要疗效指标为症状缓解时间(TTAS),次要疗效指标主要在病毒滴度相关指标安全性等方面。研究结果显示,Baloxavir与安慰剂比较可以显著改善TTAS。Baloxavir组中位TTAS为53.7 h,与奥司他韦组的TTAS相似,安慰剂组为80.2 h($P<0.000 1$)。使用Baloxavir后,病毒滴度显著降低。与安慰剂相比,Baloxavir退热速度明显更快($M=24.5$ vs. 42.0 h)。此外,Baloxavir普遍耐受性良好,总体不良事件总发生率(20.7%)较低^[48]。此外,另一项设计与CAPSTONE 1大致类似,针对高危人群(存在某些基础疾病或高龄)CAPSTONE 2研究,也已经完成招募(NCT02949011),研究结果尚未公布。罗氏公司预计于2018年的流感季启动Baloxavir治疗住院流感患者的全球多中心RCT,同期也将在中国招募受试者。

(3)Pimodivir(JNJ-63623872):最初由Vertex Pharmaceuticals研发的创新抗病毒药物,通过靶向甲型流感病毒聚合酶复合体的PB2亚基,起到抑制多聚酶结合到前体mRNA的5'帽状结构(CAP)^[49]。这个过程,就是所谓的“抢帽”,是流感病毒转录过程中的关键环节。Pimodivir可以抑制甲型流感病毒的复制,但因为甲型和乙型流感病毒的

PB2帽状结合口袋结构不同,因此其对于乙型流感病毒无效。需要指出的是,Pimodivir甚至对感染流感病毒4 d后的小鼠有治疗效果,且疗效优于奥司他韦^[50]。但由于PB2基因也是流感病毒常见的突变基因片段,在动物研究中已经发现Pimodivir对PB2基因突变的毒株抗病毒效果明显下降^[51]。Pimodivir治疗流感患者的临床Ⅱb期临床试验已经完成(NCT02532283)并在2017年上海举办的第五届国际流感和呼吸系统疾病协会抗病毒年会上公布,223例成年季节性流感患者被随机分为4组,分别接受Pimodivir(300 mg)+安慰剂、Pimodivir(600 mg)+安慰剂、Pimodivir(600 mg)+奥司他韦(75 mg)和安慰剂+安慰剂治疗。试验结果表明,在治疗开始后的7 d内,Pimodivir与安慰剂相比显著降低成年甲型流感患者体内的病毒数量。Pimodivir和奥司他韦联合治疗与Pimodivir单一疗法相比,能够进一步显著降低患者体内的流感病毒数量。目前两项Ⅲ期临床试验正在招募中。

2. 作用于宿主的抗流感病毒药物:

(1)DAS181(Fludase):一种独特的作用于宿主的抗流感病毒药物,通过切断人类呼吸道内的唾液酸受体来阻断呼吸道病毒感染,这些受体与大多数主要呼吸道病毒结合。DAS181阻断病毒感染的方式,使得依赖唾液酸受体的病毒很难产生耐药性。在多个非临床和临床研究中几乎没有发现耐药性。DAS181有2个主要分子结构,一是肝素结构序列主要作用是结合呼吸道上皮细胞,另一个是发挥主要功能作用的唾液酸酶催化剂。属于人体菌群的黏液性放线菌也存在唾液酸酶催化剂,所以DAS181不会导致机体产生明显的免疫反应^[52]。DAS181设计为吸入干粉剂,微粒大小为5~10 μm,可以分布于人体上呼吸道,但无法到达下呼吸道。理论上推测,清除唾液酸受体可能会导致肺炎链球菌定植增加。但令人惊讶的是DAS181可以降低继发细菌感染的风险^[52]。

DAS181已经显示了对4种主要呼吸道病毒,包括流感病毒(IFV)、副流感病毒(PIV)、偏肺病毒(MPV)和人类肠道病毒-68(EV-68)的抗病毒活性^[7]。动物研究显示,每天1 mg/kg的DAS181可以有效的预防小鼠感染H5N1禽流感病毒,每天0.7 mg/kg的DAS181可以降低小鼠94%的病死率^[53]。H7N9的动物研究得出类似的研究结果,甚至对奥司他韦耐药的毒株同样有效。与空白对照小鼠攻毒9 d后死亡相比,攻毒前预防性给予DAS181可以完全预防

H7N9禽流感病毒感染。不管是野生型或奥司他韦耐药的H7N9毒株感染小鼠,每天1 mg/kg DAS181均可以有效降低肺组织中病毒载量。更有趣的是,在感染H7N9禽流感病毒48 h后给予DAS181,仍可使小鼠生存率超过75%^[54]。早在2012年,美国NIH资助了一项DAS181治疗流感感染的随机双盲安慰剂对照的Ⅱ期临床研究,受试者被随机分配到单剂(一次性给予10 mg)、多剂(10 mg/d连续3 d)和安慰剂对照组,目的是评价DAS181的安全性和耐受性,主要研究终点为病毒载量变化,结果表明DAS181可以更快降低病毒载量且安全性及耐受性良好^[55]。由于研发团队无力承担DAS181临床试验费用导致该药物目前仍未上市。2014年Ansun生物制药接手该药物的临床试验后,发起了多项临床试验。最近完成了一项DAS181治疗免疫功能受损患者PIV感染的Ⅱ期临床试验(NCT01644877),具体研究结果未发表,但受到美国FDA授予的突破性疗法认定^[56]。

(2) 硝唑尼特(Nitazoxanide): 噻唑类广谱抗病毒药物,口服后迅速在体内脱去乙酰基转变为活性产物替唑尼特(Tizoxanide)^[47]。硝唑尼特最初研发并被批准治疗隐孢子菌感染,故其也具有部分抗菌和抗病毒作用。在AIDS人群的药物临床试验中,首次发现硝唑尼特具有抗病毒作用。此后,陆续发现硝唑尼特具有抗各种病毒的活性,包括轮状病毒、流感病毒、乙型和丙型肝炎病毒。针对不同病毒,其抗病毒机制不尽相同。就流感病毒而言,硝唑尼特通过抑制流感病毒在细胞内的HA蛋白从内质网转运到高尔基体,并影响HA蛋白末端糖基化过程,从而达到抑制流感病毒复制的作用^[57]。动物研究显示硝唑尼特与奥司他韦联合对流感和禽流感病毒具有协同抗病毒作用^[58]。Ⅱ b/Ⅲ期临床研究显示600 mg bid硝唑尼特发病48 h内给药,与安慰剂相比,可以更快的缓解流感症状。基于轻症流感人群的良好研究结果,目前有4项Ⅱ或Ⅲ期临床研究正在进行中,包括一项4臂(奥司他韦 vs. 硝唑尼特 vs. 硝唑尼特和奥司他韦 vs. 安慰剂)的RCT(NCT01610245)。

综上所述,以奥司他韦为代表的NAIs是临床广泛使用的抗流感病毒药物,但改善住院流感(尤其是重症流感患者)预后令人不甚满意。诸多作用于不同靶点的抗流感病毒药物,临床试验显示更优的抗病毒效果,甚至延迟给药(超过48 h)和对NAIs耐药毒株均存在良好的疗效。期待这些新型抗流感病毒药物可以极大提高我国流感患者的救治水平。最

后,随着中国加入国际人用药品注册技术协调会(ICH),大量临床试验在中国同步开展,希望呼吸界同道可以积极主动参加高质量的临床研究,一方面可以了解相关领域的最新进展,另一方面也可以提高我国的临床科研水平。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH, et al. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study[J]. *Lancet*, 2018, 391(10127): 1285–1300. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)33293-2.
- [2] Writing Committee of the WHO Consultation on Clinical Aspects of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza, Bautista E, Chotpitayasunondh T, et al. Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(18): 1708–1719.
- [3] Gao RB, Cao B, Hu YW, et al. Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(20): 1888–1897. DOI: 10.1056/NEJMoa1304459.
- [4] Gao HN, Lu HZ, Cao B, et al. Clinical findings in 111 cases of influenza A (H7N9) virus infection[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(24): 2277–2285. DOI: 10.1056/NEJMoa1305584.
- [5] Wang XL, Jiang H, Wu P, et al. Epidemiology of avian influenza A H7N9 virus in human beings across five epidemics in mainland China, 2013–17: an epidemiological study of laboratory-confirmed case series[J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17(8): 822–832. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30323-7.
- [6] Budd AP, Wentworth DE, Blanton L, et al. Update: influenza activity—United States, October 1, 2017–February 3, 2018 [J]. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2018, 67(6): 169–179. DOI: 10.15585/mmwr.mm6706a1.
- [7] Koszalka P, Tilmanis D, Hurt AC. Influenza antivirals currently in late-phase clinical trial [J]. *Influenza Other Respir Viruses*, 2017, 11(3): 240–246. DOI: 10.1111/irv.12446.
- [8] Treanor JJ, Hayden FG, Vrooman PS, et al. Efficacy and safety of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in treating acute influenza: a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2000, 283(8): 1016–1024. DOI: 10.1001/jama.283.8.1016.
- [9] Jefferson TO. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006(3): CD001265.
- [10] Jefferson T, Jones MA, Doshi P, et al. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults and children [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014(4): CD008965. DOI: 10.1002/14651858.CD008965.pub4.
- [11] Dobson J, Whitley RJ, Pocock S, et al. Oseltamivir treatment for influenza in adults: a Meta-analysis of randomised controlled trials [J]. *Lancet*, 2015, 385(9979): 1729–1737. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)62449-1.
- [12] Venkatesan S, Myles PR, Leonardi-Bee J, et al. Impact of outpatient neuraminidase inhibitor treatment in patients infected

- with influenza A (H1N1) pdm09 at high risk of hospitalization: an individual participant data meta-analysis [J]. *Clin Infect Dis*, 2017, 64(10):1328–1334. DOI:10.1093/cid/cix127.
- [13] WHO. WHO guidelines for pharmacological management of pandemic (H1N1) 2009 influenza and other influenza viruses [EB/OL]. (2010–02) [2018–05–01]. http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_use_antivirals_20090820/en/.
- [14] USCDC. 2009 H1N1 vaccination recommendations [EB/OL]. USCDC: Atlanta, USA. (2019–10–15) [2018–05–01]. <https://www.cdc.gov/H1N1flu/recommendations.htm>.
- [15] Muthuri SG, Venkatesan S, Myles PR, et al. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in reducing mortality in patients admitted to hospital with influenza A H1N1pdm09 virus infection: a meta-analysis of individual participant data [J]. *Lancet Respir Med*, 2014, 2(5):395–404. DOI: 10.1016/S2213–2600(14)70041–4.
- [16] Muthuri SG, Venkatesan S, Myles PR, et al. Impact of neuraminidase inhibitors on influenza A (H1N1) pdm09-related pneumonia: an individual participant data Meta-analysis [J]. *Influenza Other Respir Viruses*, 2016, 10(3):192–204.
- [17] Graner S, Svensson T, Beau AB, et al. Neuraminidase inhibitors during pregnancy and risk of adverse neonatal outcomes and congenital malformations: population based European register study [J]. *BMJ*, 2017, 356:j629. DOI:10.1136/bmj.j629.
- [18] Zheng SF, Tang LL, Gao HN, et al. Benefit of early Initiation of neuraminidase inhibitor treatment to hospitalized patients with avian influenza A (H7N9) Virus [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 66(7):1054–1060. DOI:10.1093/cid/cix930.
- [19] Wang YM, Guo Q, Yan Z, et al. Factors associated with prolonged viral shedding in patients with avian influenza A (H7N9) virus infection [J]. *J Infect Dis*, 2018, 217(11):1708–1717. DOI:10.1093/infdis/jiy115.
- [20] Li H, Yang SG, Gu L, et al. Effect of low-to-moderate-dose corticosteroids on mortality of hospitalized adolescents and adults with influenza A (H1N1) pdm09 viral pneumonia [J]. *Influenza Other Respir Viruses*, 2017, 11(4):345–354. DOI: 10.1111/irv.12456.
- [21] WHO. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A (H5N1) reported to WHO [EB/OL]. (2017–10–30) [2018–05–01]. http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/2017_10_30_tableH5N1.pdf?ua=1.
- [22] Lee N, Hui DSC, Zuo Z, et al. A prospective intervention study on higher-dose oseltamivir treatment in adults hospitalized with influenza A and B infections [J]. *Clin Infect Dis*, 2013, 57(11):1511–1519. DOI:10.1093/cid/cit597.
- [23] South East Asia Infectious Disease Clinical Research Network. Effect of double dose oseltamivir on clinical and virological outcomes in children and adults admitted to hospital with severe influenza: double blind randomised controlled trial [J]. *BMJ*, 2013, 346:f3039. DOI:10.1136/bmj.f3039.
- [24] Ariano RE, Sitar DS, Zelenitsky SA, et al. Enteric absorption and pharmacokinetics of oseltamivir in critically ill patients with pandemic (H1N1) influenza [J]. *Canad Med Associat J*, 2010, 182(4):357–363. DOI:10.1503/cmaj.092127.
- [25] Kromdijk W, Sikma MA, Van Den Broek MPH, et al. Pharmacokinetics of oseltamivir carboxylate in critically ill patients: each patient is unique [J]. *Intensive Care Med*, 2013, 39(5):977–978. DOI:10.1007/s00134–013–2851–x.
- [26] Marty FM, Vidal-Puigserver J, Clark C, et al. Intravenous zanamivir or oral oseltamivir for hospitalised patients with influenza: an international, randomised, double-blind, double-dummy, phase 3 trial [J]. *Lancet Respir Med*, 2017, 5(2):135–146. DOI:10.1016/S2213–2600(16)30435–0.
- [27] Fielding JE, Kelly HA, Mercer GN, et al. Systematic review of influenza A (H1N1) pdm09 virus shedding: duration is affected by severity, but not age [J]. *Influenza Other Respir Viruses*, 2014, 8(2):142–150. DOI:10.1111/irv.12216.
- [28] Lee N, Chan PKS, Hui DSC, et al. Viral loads and duration of viral shedding in adult patients hospitalized with influenza [J]. *J Infect Dis*, 2009, 200(4):492–500. DOI:10.1086/600383.
- [29] Fry AM, Goswami D, Nahar K, et al. Efficacy of oseltamivir treatment started within 5 days of symptom onset to reduce influenza illness duration and virus shedding in an urban setting in Bangladesh: a randomised placebo-controlled trial [J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(2):109–118. DOI:10.1016/S1473–3099(13)70267–6.
- [30] Ramirez J, Peyrani P, Wienken T, et al. A randomized study evaluating the effectiveness of oseltamivir initiated at the time of hospital admission in adults hospitalized with influenza-associated lower respiratory tract infections [J]. *Clin Infect Dis*, 2018. DOI:10.1093/cid/ciy163.
- [31] Hurt AC, Besselaar TG, Daniels RS, et al. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2014–2015 [J]. *Antivir Res*, 2016, 132:178–185. DOI:10.1016/j.antiviral.2016.06.001.
- [32] Zou XH, Guo Q, Zhang W, et al. Dynamic Variation and reversion in the signature amino acids of H7N9 virus during human infection [J]. *J Infect Dis*, 2018. DOI: 10.1093/infdis/jiy217.
- [33] Zhu WF, Dong J, Zhang Y, et al. A gene constellation in Avian Influenza A (H7N9) viruses may have facilitated the fifth wave outbreak in China [J]. *Cell Rep*, 2018, 23(3):909–917. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.03.081.
- [34] Yang L, Zhu WF, Li XY, et al. Genesis and spread of newly emerged highly pathogenic H7N9 Avian viruses in mainland China [J]. *J Virol*, 2017, 91(23):e01277–17. DOI: 10.1128/JVI.01277–17.
- [35] Dunning J, Baillie JK, Cao B, et al. Antiviral combinations for severe influenza [J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(12):1259–1270. DOI:10.1016/S1473–3099(14)70821–7.
- [36] Petersen E, Keld DB, Ellermann-Eriksen S, et al. Failure of combination oral oseltamivir and inhaled zanamivir antiviral treatment in ventilator-and ECMO-treated critically ill patients

- with pandemic influenza A (H1N1) v[J]. Scand J Infect Dis, 2011, 43(6/7):495-503. DOI:10.3109/00365548.2011.556144.
- [37] Nguyen JT, Hoopes JD, Smee DF, et al. Triple combination of oseltamivir, amantadine, and ribavirin displays synergistic activity against multiple influenza virus strains *in vitro* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(10):4115-4126. DOI: 10.1128/AAC.00476-09.
- [38] Nguyen JT, Hoopes JD, Le MH, et al. Triple combination of amantadine, ribavirin, and oseltamivir is highly active and synergistic against drug resistant influenza virus strains *in vitro* [J]. PLoS One, 2010, 5(2): e9332. DOI: 10.1371/journal.pone.0009332.
- [39] Nguyen JT, Smee DF, Barnard DL, et al. Efficacy of combined therapy with amantadine, oseltamivir, and ribavirin *in vivo* against susceptible and amantadine-resistant influenza A viruses [J]. PLoS One, 2012, 7(1): e31006. DOI: 10.1371/journal.pone.0031006.
- [40] Kim WY, Suh GY, Huh JW, et al. Triple-combination antiviral drug for pandemic H1N1 influenza virus infection in critically ill patients on mechanical ventilation [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(12): 5703-5709. DOI: 10.1128/AAC.05529-11.
- [41] Beigel JH, Bao YJ, Beeler J, et al. Oseltamivir, amantadine, and ribavirin combination antiviral therapy versus oseltamivir monotherapy for the treatment of influenza: a multicentre, double-blind, randomised phase 2 trial [J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17(12): 1255-1265. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30476-0.
- [42] Furuta Y, Takahashi K, Fukuda Y, et al. *In vitro* and *in vivo* activities of anti-influenza virus compound T-705 [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(4): 977-981. DOI: 10.1128/AAC.46.4.977-981.2002.
- [43] Sidwell RW, Barnard DL, Day CW, et al. Efficacy of orally administered T-705 on lethal avian influenza A (H5N1) virus infections in mice [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(3):845-851. DOI:10.1128/AAC.01051-06.
- [44] Kiso M, Takahashi K, Sakai-Tagawa Y, et al. T-705 (favipiravir) activity against lethal H5N1 influenza A viruses [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(2):882-887. DOI: 10.1073/pnas.0909603107.
- [45] Smee DF, Hurst BL, Wong MH, et al. Effects of the combination of favipiravir (T-705) and oseltamivir on influenza A virus infections in mice [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(1):126-133. DOI:10.1128/AAC.00933-09.
- [46] Marathe BM, Wong SS, Vogel P, et al. Combinations of oseltamivir and T-705 extend the treatment window for highly pathogenic influenza A (H5N1) virus infection in mice [J]. Sci Rep, 2016, 6:26742. DOI:10.1038/srep26742.
- [47] Shaw ML. The next wave of influenza drugs [J]. ACS Infect Dis, 2017, 3(10):691-694. DOI: 10.1021/acscinfdis.7b00142.
- [48] Payesko J. Baloxavir marboxil demonstrates positive phase 3 Influenza Results[R/OL]. (2017-10-13) [2018-05-02]. <http://www.mdmag.com/conference-coverage/idweek-2017/baloxavir-marboxil-demonstrates-positive-phase-3-influenza-results>.
- [49] Clark MP, Ledebner MW, Davies L, 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. DOI:10.1021/jm5007275.
- [50] Smee DF, Barnard DL, Jones SM. Activities of JNJ63623872 and oseltamivir against influenza A H1N1pdm and H3N2 virus infections in mice [J]. Ant Res, 2016, 136:45-50. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.10.009.
- [51] Byrn RA, Jones SM, Bennett HB, et al. Preclinical activity of VX-787, a first-in-class, orally bioavailable inhibitor of the influenza virus polymerase PB2 subunit [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(3): 1569-1582. DOI: 10.1128/AAC.04623-14.
- [52] Malakhov MP, Aschenbrenner LM, Smee DF, et al. Sialidase fusion protein as a novel broad-spectrum inhibitor of influenza virus infection [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(4): 1470-1479. DOI: 10.1128/AAC.50.4.1470-1479.2006.
- [53] Belser JA, Lu XH, Szretter KJ, et al. DAS181, a novel sialidase fusion protein, protects mice from lethal avian influenza H5N1 virus infection [J]. J Infect Dis, 2007, 196(10): 1493-1499. DOI: 10.1086/522609.
- [54] Marjuki H, Mishin VP, Chesnokov AP, et al. An investigational antiviral drug, DAS181, effectively inhibits replication of zoonotic influenza A virus subtype H7N9 and protects mice from lethality [J]. J Infect Dis, 2014, 210(3):435-440. DOI:10.1093/infdis/jiu105.
- [55] Moss RB, Hansen C, Sanders RL, et al. A phase II study of DAS181, a novel host directed antiviral for the treatment of influenza infection [J]. J Infect Dis, 2012, 206(12): 1844-1851. DOI: 10.1093/infdis/jis622.
- [56] Ansun BioPharma announces breakthrough designation for its experimental drug DAS181 [N/OL]. (2017-10-10) [2018-05-01]. https://www.prnewswire.com/news-releases/ansun-biopharma-announces-breakthrough-designation-for-its-experimental-drug-das181-300533677.html?tc=eml_cleartime.
- [57] Rossignol JF, La Frazia S, Chiappa L, et al. Thiazolidines, a new class of anti-influenza molecules targeting viral hemagglutinin at the post-translational level [J]. J Biol Chem, 2009, 284(43): 29798-29808. DOI: 10.1074/jbc.M109.029470.
- [58] Belardo G, Cenciarelli O, La Frazia S, et al. Synergistic effect of nitazoxanide with neuraminidase inhibitors against influenza A viruses *in vitro* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(2): 1061-1069. DOI: 10.1128/AAC.03947-14.

(收稿日期:2018-05-31)

(本文编辑:李银鸽)