



瑞德西韦抗冠状病毒(包括 19-新型冠状病毒)的研究现状

陈宇婷^{1,2}, 孙经康^{1,2}, 韩群英^{2*}, 刘正稳^{2*}

(1. 西安医学院, 陕西 西安, 710021; 2. 西安交通大学第一附属医院感染科, 陕西 西安, 710061)

摘要: 2019 年 12 月以来, 湖北省武汉市出现了以发热、乏力、干咳和进行性呼吸衰竭为主要表现的“不明原因肺炎”患者。经分离鉴定, 确认病原体为一种新型冠状病毒(CoV), 并被世界卫生组织(WHO)暂时命名为 2019-nCoV。随后, 国际病毒分类委员会的冠状病毒研究小组(CSG)建议将新型冠状病毒由“2019-nCoV”更名为“SARS-CoV-2”。WHO 将由 SARS-CoV-2 引起的疾病正式命名为冠状病毒病-19(COVID-19)。由于 COVID-19 迅速蔓延至我国大部分地区 and 世界其它国家, 冠状病毒再次成为全球关注的焦点。对冠状病毒包括 SARS-CoV-2 感染的抗病毒研究也在不断推进, 本文简要综述瑞德西韦对冠状病毒包括 SARS-CoV-2 的抗病毒研究现状。

关键词: 冠状病毒; 2019-nCoV; SARS-CoV-2; 瑞德西韦; 抗病毒

Advances of Studies on Remdesivir Against Coronavirus including SARS-CoV-2

CHEN Yu-ting^{1,2}, SUN Jing-kang^{1,2}, HAN Qun-ying^{2*}, LIU Zheng-wen^{2*}

(1. Xi'an Medical University, Xi'an 710021; 2. Infectious Disease Department, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

ABSTRACT: Since December 2019, patients with "pneumonia of unknown cause" characterized by fever, fatigue, dry cough, and progressive respiratory failure have appeared in Wuhan, Hubei province. After isolation and identification, the pathogen was confirmed to be a new coronavirus (CoV), and was temporarily named 2019-nCoV by the World Health Organization (WHO). Subsequently, the coronavirus study group (CSG) of the international committee on taxonomy of viruses proposed to rename the new coronavirus from "2019-nCoV" to "severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)". The WHO officially named the disease caused by SARS-CoV-2 as coronavirus disease-19 (COVID-19). Due to the rapid spread of COVID-19 to most parts of China and other countries in the world, coronavirus has once again become the great concern globally. Antiviral research on coronaviruses including SARS-CoV-2 has also been continuously progressed. This article briefly reviews the current status of remdesivir's antiviral research on coronaviruses including SARS-CoV-2.

KEYWORDS: coronavirus; 2019-nCoV; SARS-CoV-2; remdesivir; antiviral

2019 年 12 月以来, 湖北省武汉市出现了以发热、乏力、干咳和进行性呼吸衰竭为主要表现的“不明原因肺炎”患者。经分离鉴定, 确认这种“不明原因肺炎”的病原体为一种新型冠状病毒(coronavirus, CoV), 并被世界卫生组织(WHO)暂时命名为 2019-nCoV。随后, 国际病毒分类委员会的冠状病毒研究小组(CSG)最近建议将新型冠状病毒由“2019-nCoV”更名为“SARS-CoV-2”^[1]。WHO 将由 SARS-CoV-2 引起的疾病正式命名为冠状病毒病-19 (COVID-19)。由于 COVID-19 迅速蔓延至我国大部分地区 and 世界其它国家, 冠状病毒再次成为全球关注的焦点。对冠状病毒包括 SARS-CoV-2 感染的抗病毒研究也在不断推进。我国的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)》指出, “目前没有确认有效的抗病毒治疗方法。”可试用“ α -干扰素(IFN- α)雾化吸入”和“洛匹那韦 lopinavir, LPV)/利托那韦 ritonavir, RTV”, “或可

加用利巴韦林”^[2]。因此, 对 SARS-CoV-2 的抗病毒治疗仍处于探索和研究之中。本文将对瑞德西韦(remdesivir, RDV, GS-5734)对冠状病毒包括 SARS-CoV-2 的抗病毒研究现状进行简要综述。

1 冠状病毒及 SARS-CoV-2 的病毒学特征

CoV 属于巢病毒目(nidovirales)冠状病毒科(coronaviridae)正冠状病毒亚科(orthocoronavirinae), 是目前已知最大的正链 RNA 病毒, 其基因组长度为 26 000-32 000 bp。CoV 分为 α 、 β 、 γ 和 δ 四个属。可以感染多种动物(如蝙蝠、狗、猪、老鼠、鸟和牛等)及人的呼吸、消化和中枢神经系统^[3]。

目前, 既往认为, 有六种可感染人类的 CoV, 包括 HCoV-229E (229E)、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1、严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)^[4]。SARS-CoV

作者简介: 陈宇婷(1993-), 女, 汉族, 硕士在读。研究方向: 感染性疾病的抗病毒治疗。

* 通讯作者: 韩群英, E-mail: xahanqunying@163.com; 刘正稳, E-mail: liuzhengwen113@xjtu.edu.cn.



是 2002–2003 年中国爆发的 SARS 的病原体, MERS-CoV 是 2012 年以来中东地区持续爆发的 MERS 的病原体。其它四种可感染人类的 CoV (HCoV-NL63、HCoV-229E、HCoV-OC43 和 HKU1) 可引起免疫功能正常宿主的轻度上呼吸道疾病^[5]。

SARS-CoV-2 (2019-nCoV) 为一种新型冠状病毒, 在 Sarbecovirus 亚属冠状病毒科 (coronaviridae) 正冠状病毒亚科 (orthocoronavirinae) 内形成了另一个进化枝, 是感染人类的冠状病毒家族的第七个成员^[6]。SARS-CoV-2 是 β 属的冠状病毒, 其基因特征与两种蝙蝠源性 SARS 样冠状病毒 (bat-SL-CoVZC45 和 bat-SL-CoVZC21) 密切相关 (同源性约为 88%), 与 MERS-

CoV 和 SARS-CoV 尽管有明显区别但也有较高的同源性^[7]。

典型 CoV 的基因组和亚基因组至少包含 6 个开放阅读框 (ORF)。第一个 ORFs (ORF1a/b) 约占全基因组长度的 2/3, 编码 16 个非结构蛋白 (nsp1–16), 除了 γ 冠状病毒 (gammacoronavirus) 缺少 nsp1 外。在 ORF1a 和 ORF1b 之间有一个 -1 移码, 导致产生两个多肽: PP1a 和 PP1ab。这些多肽被病毒编码的 3C 样蛋白酶 (3CLPro) 或主蛋白酶 (mPro) 和 1 个或 2 个木瓜蛋白酶样蛋白酶 (PLpro) 加工成 16 个 nsps^[8–10] (见表 1)。序列分析表明, 2019-nCoV 具有典型的 CoV 基因组结构^[10]。

表 1 冠状病毒的 16 种非结构蛋白 (nsp) 及其功能

nsp	Functions	Reference
nsp1	cellular mRNA degradation, inhibiting IFN signaling	[11–12]
nsp2	unknown	[13–14]
nsp3	PLP, polypeptides cleaving, blocking host innate immune response, promoting cytokine expression	[15–16]
nsp4	DMV formation	[17–18]
nsp5	3CLpro, Mpro, polypeptides cleaving, inhibiting IFN signaling	[19–21]
nsp6	restricting autophagosome expansion, DMV formation	[22–23]
nsp7	cofactor with nsp8 and nsp12	[24–25]
nsp8	cofactor with nsp7 and nsp12, primase	[24–26]
nsp9	dimerization and RNA binding	[27–28]
nsp10	scaffold protein for nsp14 and nsp16	[29–32]
nsp11	unknown	[33]
nsp12*	primer dependent RdRp	[24,34–35]
nsp13	RNA helicase, 5' triphosphatase	[36–38]
nsp14#	exoribonuclease, N7-MTase	[39–42]
nsp15	endoribonuclease, evasion of dsRNA sensors	[43–45]
nsp16	2'-O-MTase; avoiding MDA5 recognition, negatively regulating innate immunity	[30–31,46]

注: * 表示非结构蛋白 12 (nsp12) RNA 依赖性 RNA 聚合酶 (RdRp); # 表示非结构蛋白 14 (nsp14) 核糖核酸外切酶 (ExoN)。

2 RDV 抗冠状病毒的作用机制

RDV 是小分子腺苷类似物 (GS-441524) 的单磷酸酰胺酸盐前体药 (见图 1), 需要宿主细胞代谢为具有药理活

性的三磷酸盐 (TP), 以抑制病毒复制。研究显示, 其对多种 RNA 病毒 [如埃博拉病毒 (EBOV), 马尔堡, MERS-CoV, SARS-CoV, 呼吸道合胞病毒 (RSV), 尼帕病毒 (NiV) 和 Hendra 病毒] 具有体外抗病毒活性^[47–49]。

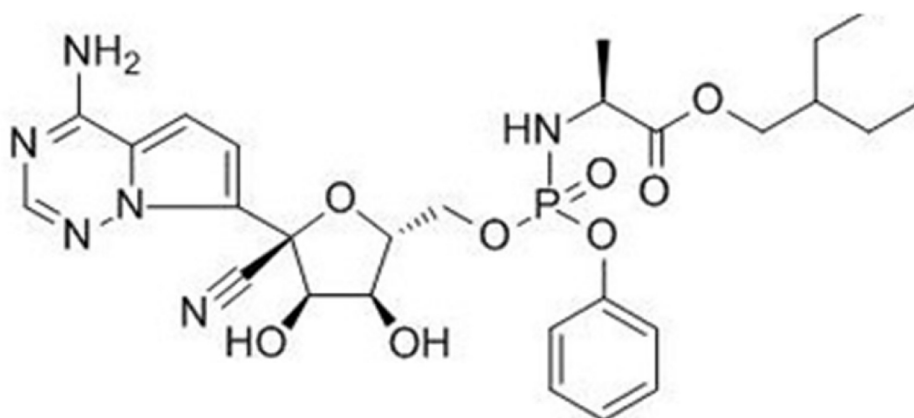


图 1 RDV 的结构



尽管 CoV 具有物种多样性,但它们有共同的关键基因组元素,这些元素对于设计治疗性药物是必不可少的。5' 端开放阅读框 1 a/b (ORF1 a/b) 编码的多肽 pp1a 和 pp1ab,由两种病毒编码的蛋白酶,即 PLpro 和 3CLpro,加工成非结构蛋白(NSP),如 RdRp 和 ExoN,参与病毒的转录和复制^[50]。许多针对这些蛋白质酶的抑制剂在体外显示出抗 CoV 活性,因此木瓜蛋白酶样蛋白酶(PLpro)、3C 样蛋白酶(3CLpro)、nsp12-RdRp、nsp14 ExoN 等或许可成为与药物结合的抗 CoV 靶标。nsp12-RdRp 在 CoV 之间的基因组内高度保守,使其成为潜在的广谱抗 CoV 药物靶标^[47],RDV 抗 CoV 的机制可能是通过抑制病毒 RdRp 导致病毒 RNA 链合成终止^[47,51-54]。此外,研究还发现,RDV 对 CoV 的校对 ExoN 也有作用^[55]。因此,RDV 抗 CoV 的机制可能是由病毒聚合酶和校对外切核酸酶介导的^[55]。

2.1 RDV 对 RdRp 的作用

在 Agostini^[55]等研究中,因为 RDV 和 GS-441524 都被代谢成相同的具有药理活性的三磷酸盐(TP),但 GS-441524 可提供更大的浓度范围,因此选择 GS-441524 进行实验。在 GS-441524 浓度增加的情况下,连续传代了野生型(WT)小鼠肝炎病毒(MHV,一种动物冠状 RNA 病毒)的三个谱系。其中两个谱系没有显示出传代后病毒细胞病变效应(CPE)的增加,且分别在传代 17(p17)和 20(p20)之后消失。另一个谱系在传代 23(p23)后,观察到该谱系在 GS-441524 存在下复制能力增加,这是由病毒 CPE 的增加所决定的。p23 病毒 RNA 全基因组测序显示 4 个病毒蛋白编码 6 个非同义突变:nsp13 解旋酶(A335V)、ns2 2',5' 磷酸二酯酶(Q67H)、S 糖蛋白(A34V 和 I924T)和 nsp12-RdRp(F476L 和 V553L)。MHV RdRp 的分子模型预测 F476 和 V553 残基都位于 RdRp 保守的右手结构的指域内。分别含有 F476L 或 V553L 的重组 MHV 对 RDV 的敏感性低于 WT MHV。与 WT MHV 相比,F476L 病毒对 RDV 表现出 2.4 倍的抗性,而 V553L 病毒对 RDV 表现出 5 倍的抗性,而组合突变介导的对 RDV 的抗性为 5.6 倍。RDV 部分抗性表型归因于 RdRp 病毒的两个突变(F476L 和 V553L),表明 RDV 对这一靶点起作用。

2.2 RDV 对 CoV 的校对 ExoN 的作用

因 CoV 的 nsp14 ExoN 具有的独特校对能力,使其复制过程与其他 RNA 病毒相比,保真度增加多达 20 倍,nsp14-ExoN 活性使 CoV 对许多核苷类似物[包括利巴韦林(RBV)和 5-氟尿嘧啶(5-FU)]具有高抗性

^[56-58],据报道,缺乏 ExoN[ExoN(—)]校对活性的 MHV 和 SARS-CoV 菌株,对 RBV 和 5-FU 更敏感,强调了 ExoN 介导的校对活性在这些药物中的抗性^[57]。这些结果表明,要有效地抑制 CoV,核苷类似物将需要直接抑制 ExoN。在使用 MHV 模型进行实验中发现 ExoN(—)MHV 比 WT MHV 对 RDV 治疗更敏感,该结果表明,RDV 部分地被 ExoN 识别,但是 ExoN 活性不足以防止其有效抑制 CoV 复制,因此 RDV 能抑制具有完整校对功能的冠状病毒^[55]。

3 RDV 在体外系统、动物模型应用的疗效评价

3.1 RDV 的体外广谱抗 CoV 活性

RDV 可抑制多种高致病性可感染人类的 CoV (SARS-CoV 和 MERS-CoV)在人气道上皮细胞中的复制。RDV 可以广泛抑制多种 CoV,包括 HAE 中可感染人类的 CoV、人畜共患蝙蝠 CoV 以及大流行前的人畜共患 CoV^[47]。Sheahan 等^[47]评估了其在连续人肺上皮细胞株 Calu-3 2B4 (2B4)及原代人气道上皮(HAE)细胞培养物中对 SARS-CoV 和 MERS-CoV 的抗病毒活性,结果表明,CoV 的复制被明显抑制。Wang 等^[59]的研究数据表明,RDV 在 2019-nCoV 感染的体外 VeroE6 细胞中具有抗病毒活性,同时在对 2019-nCoV 敏感的人细胞系(人肝癌 Huh-7 细胞)中,RDV 也有效地抑制了病毒感染。以上研究证明,RDV 具有广谱抗冠状病毒活性,同时 RDV 在体外也能有效抑制 2019-nCoV 感染。

3.2 RDV 的动物模型广谱抗 CoV 活性

RDV 预防性给药可减轻 CoV 引起的疾病。在感染 SARS-CoV 的小鼠模型(Ces1c-/-mice)中,RDV 的预防性给药显著降低肺病毒载量、改善肺功能以及 SARS-CoV 疾病的症状^[47]。在感染 MERS-CoV 的小鼠模型(Ces1c-/-hDPP4)中,RDV 的预防性给药可抑制 MERS-CoV 的复制、降低肺病毒载量、明显减少肺出血以及减轻急性肺损伤(ALI)^[52]。RDV 治疗性给药也可减轻 CoV 疾病。在感染 SARS-CoV 的小鼠模型(Ces1c-/-mice)中,如果在 SARS-CoV 复制和气道上皮损害高峰之前,即早期治疗性给 RDV,可改善肺功能,减少病毒载量并减轻疾病^[47]。在感染 MERS-CoV 的小鼠模型(Ces1c-/-hDPP4)中,RDV 治疗性给药可减少病毒复制、病理改变、改善肺功能以及减轻 ALI^[52]。因此,RDV 预防性和治疗性给药均可改善感染 CoV 的小鼠肺功能、减少肺病毒载量及减轻肺部病理改变。

此外,在一项感染 MERS-CoV 的非人类灵长类动



物模型恒河猴实验中得出,在接种前 24 h 开始预防性使用 RDV 完全预防了 MERS-CoV 引起的临床疾病,显著抑制了呼吸系统中 MERS-CoV 的复制,并防止了肺损伤的形成;接种后 12 h 开始治疗性使用 RDV 表现出明显的临床益处,包括临床体征减少,肺部病毒复制减少以及肺部病变的出现和严重程度减轻^[60]。

4 RDV 治疗 COVID-19 的初步临床疗效

Holshue 等^[61]报道了美国首例确诊新型冠状病毒肺炎患者成功治愈的病例。该病例为 35 岁男性,中国武汉探亲后于 2020 年 1 月 15 日返回美国华盛顿州,1 月 19 日因咳嗽、发热 4 d 于华盛顿州斯诺霍米什县诊所就诊。1 月 20 日美国疾病控制和预防中心(CDC)通过采用实时逆转录酶聚合酶链检测方法(rRT-PCR),检测到该患者鼻咽拭子和口咽拭子 2019-nCoV 结果为阳性。在患者住院第 6 日(发病第 10 日),第 4 次行胸部影像学检查显示双下肺条索状阴影,双肺听诊提示有湿啰音。根据患者的影像学检查结果、临床表现及多个样本的 2019-nCoV RNA 持续阳性结果,考虑发生重症肺炎,因此临床医师将一种试验性抗病毒药(RDV)对该患者进行了特许用药。住院第 7 日(发病第 11 日)晚,该患者接受 RDV 静脉输注,用药期间无明显不良反应。在住院第 8 日(发病第 12 日),患者的口咽拭子病毒检测转为阴性,但鼻咽拭子病毒检测仍为阳性。临床症状得到改善,双下肺湿啰音消失,食欲好转,除间歇性干咳及流涕外,无其他临床症状。

5 结语与展望

作为一种前体药物,RDV 可能通过抑制病毒 RdRp 抑制病毒复制,而目前已有多种体外系统的研究表明 RDV 对包括 SARS-CoV, MERS-CoV 和 SARS-CoV-2 在内的多种 CoV 均有抑制作用。动物模型实验数据表明,在冠状病毒包括 SARS-CoV 和 MERS-CoV 感染后预防性和治疗性使用 RDV 可改善肺功能,减少肺病毒载量及减轻肺部病理改变^[47,52]。同时,也有研究表明,与 LPV/RTV-IFN- β 相比,RDV 在体外和体内对 MERS-CoV 具有更好的抗病毒活性,此外,RDV 是目前所知的唯一可显著减轻肺部病理改变的治疗药物^[52]。在美国首例确诊新型冠状病毒肺炎患者成功治愈的病例中,因患者临床状况恶化而特许使用 RDV 后患者病情好转,但该治疗方案仅为个例,而且该患者还应用了其它治疗,缺乏更具说服力的证据支持该药物用于治疗 SARS-CoV-2 感染患者就一定

有效。笔者仍需开展大样本、多中心、双盲随机、前瞻性队列研究来验证该药物应用于治疗 SARS-CoV-2 感染患者的安全性及疗效。2 月 5 日,在科技部、国家卫健委、国家药监局等多部门支持下,抗病毒药物 RDV 已完成临床试验的注册审批工作,第一批病例入组工作也已就位。首批 SARS-CoV-2 感染的肺炎重症患者 2 月 6 日将接受用药。目前药品运输、分组编号等前期准备工作已完成。RDV 临床试验由中日友好医院、中国医学科学院药物研究所牵头,研究将在武汉金银潭医院等多家临床一线接诊新型冠状病毒感染肺炎患者的医院中进行,拟入组 761 例患者,采用随机、双盲、安慰剂对照方法展开,有望明确 RDV 对 SARS-CoV-2 感染引起的 COVID-19 的治疗作用,同时我国此次临床试验得到国家多个部门支持、各大医疗机构对此次试验的广泛参与且具备较为充足样本量,会进一步推进 RDV 在临床应用中的研究。关于用药安全性,在临床剂量下,RDV 除对肝功能有影响外,总体安全性较好。此前进行的 I 期涉及埃博拉治疗的临床试验中^[62],进行了 3~225 mg 静脉注射单剂量爬坡试验,没有观察到和剂量相关的毒性以及肝肾毒性,所有不良反应均为 1 级或 2 级。150 mg/d 静脉注射重复给药 7~14 d 的研究中,受试者都是耐受的,没有观察到 3 级或 4 级不良反应。在几个受试者上观察到可逆的 1 级或 2 级不良反应,表现为谷丙转氨酶或谷草转氨酶的升高,总胆红素、碱性磷酸酶、白蛋白无异常变化。所有受试者均无临床方面的显著变化。我们应该理性认识 RDV 抗 CoV 的作用,若 RDV 抗 SARS-CoV-2 有效,它既会发挥治疗作用,又会起到预防作用,但是也不能代替综合治疗,特别是对重型和危重型患者。其次,关于 RDV 应用的不良反应的报道甚少,将 RDV 用于抗 SARS-CoV-2 的安全性也有待进一步考证。

参考文献:

- [1] ALEXANDER EG,BAKER SC,BARIC RS,et al.Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: the species and its viruses - a statement of the coronavirus study group[J].bioRxiv preprint,2010.doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.07.937862>.
- [2] 国家卫生健康委办公厅. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)[EB/OL]. 北京: 国家卫生健康委办公厅.(2020-02-04) [2020-02-16].<http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/3b09b894ac9b4204a79db5b8912d4440.shtml>.
- [3] WEISS SR,NAVAS-MARTIN S.Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus[J].Microbiol Mol Biol Rev,2005,69(4):635-664.
- [4] SU S,WONG G,SHI W,et al.Epidemiology,genetic recombination,and pathogenesis of coronaviruses [J].Trends Microbiol,



- 2016,24(6):490–502.
- [5] CUI J, LI F, SHI ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(3): 181–192.
 - [6] ZHU N, ZHANG DY, WANG WL, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China 2019 [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382: 727–733.
 - [7] LU RJ, ZHAO X, LI J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding [J]. *Lancet*, 2020: published online Jan 29. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).
 - [8] MASTERS PS. The molecular biology of coronaviruses [J]. *Adv Virus Res*, 2006, 66: 193–292.
 - [9] ZIEBUHR J, SNIJDER EJ, GORBALENYA AE. Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the Nidovirales [J]. *J Gen Virol*, 2000, 81(Pt 4): 853–879.
 - [10] CHEN Y, LIU Q, GUO DY. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis [J]. *J Med Virol*, 2020.
 - [11] HUANG C, LOKUGAMAGE KG, ROZOVICS JM, et al. SARS coronavirus nsp1 protein induces template-dependent endonucleolytic cleavage of mRNAs: viral mRNAs are resistant to nsp1-induced RNA cleavage [J]. *PLoS Pathog*, 2011, 7(12): e1002433.
 - [12] TANAKA T, KAMITANI W, DEDIEGO ML, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus nsp1 facilitates efficient propagation in cells through a specific translational shutoff of host mRNA [J]. *J Virol*, 2012, 86(20): 11128–11137.
 - [13] GRAHAM RL, SIMS AC, BROCKWAY SM, et al. The nsp2 replicase proteins of murine hepatitis virus and severe acute respiratory syndrome coronavirus are dispensable for viral replication [J]. *J Virol*, 2005, 79(21): 13399–13411.
 - [14] GADLAGE MJ, GRAHAM RL, DENISON MR. Murine coronaviruses encoding nsp2 at different genomic loci have altered replication, protein expression, and localization [J]. *J Virol*, 2008, 82(23): 11964–11969.
 - [15] LEI J, KUSOV Y, HILGENFELD R. Nsp3 of coronaviruses: structures and functions of a large multi-domain protein [J]. *Antiviral Res*, 2018, 149: 58–74.
 - [16] SERRANO P, JOHNSON MA, CHATTERJEEA, et al. Nuclear magnetic resonance structure of the nucleic acid-binding domain of severe acute respiratory syndrome coronavirus non-structural protein 3 [J]. *J Virol*, 2009, 83(24): 12998–13008.
 - [17] BEACHBOARD DC, ANDERSON DANIELS JM, DENISON MR. Mutations across murine hepatitis virus nsp4 alter virus fitness and membrane modifications [J]. *J Virol*, 2015, 89(4): 2080–2089.
 - [18] GADLAGE MJ, SPARKS JS, BEACHBOARD DC, et al. Murine hepatitis virus nonstructural protein 4 regulates virus-induced membrane modifications and replication complex function [J]. *J Virol*, 2010, 84(1): 280–290.
 - [19] STOBART CC, SEXTON NR, MUNJAL H, et al. Chimeric exchange of coronavirus nsp5 proteases (3CLpro) identifies common and divergent regulatory determinants of protease activity [J]. *J Virol*, 2013, 87(23): 12611–12618.
 - [20] ZHU X, FANG L, WANG D, et al. Porcine deltacoronavirus nsp5 inhibits interferon- β production through the cleavage of NEMO [J]. *Virology*, 2017, 502: 33–38.
 - [21] ZHU X, WANG D, ZHOU J, et al. Porcine deltacoronavirus nsp5 antagonizes type I interferon signaling by cleaving STAT2 [J]. *J Virol*, 2017, 91(10): e00003–e00017.
 - [22] ANGELINI MM, AKHLAGHPOUR M, NEUMAN BW, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural proteins 3, 4 and 6 induce double-membrane vesicles [J]. *mBio*, 2013, 4(4): e00524–13.
 - [23] COTTAM EM, WHELBAND MC, WILEMAN T. Coronavirus NSP6 restricts autophagosome expansion [J]. *Autophagy*, 2014, 10(8): 1426–1441.
 - [24] KIRCHDOERFER RN, WARD AB. Structure of the SARS-CoV nsp12 polymerase bound to nsp7 and nsp8 co-factors [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2342.
 - [25] ZHAI Y, SUN F, LI X, et al. Insights into SARS-CoV transcription and replication from the structure of the nsp7–nsp8 hexadecamer [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, 12(11): 980–986.
 - [26] TE VELTHUIS AJ, VAN DEN WORM SH, SNIJDER EJ. The SARS-coronavirus nsp7+nsp8 complex is a unique multimeric RNA polymerase capable of both de novo initiation and primer extension [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(4): 1737–1747.
 - [27] EGOLFF MP, FERRON F, CAMPANACCI V, et al. The severe acute respiratory syndrome-coronavirus replicative protein nsp9 is a single-stranded RNA-binding subunit unique in the RNA virus world [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(11): 3792–3796.
 - [28] ZENG Z, DENG F, SHI K, et al. Dimerization of coronavirus nsp9 with diverse modes enhances its nucleic acid binding affinity [J]. *J Virol*, 2018, 92(17): e00692–18.
 - [29] BOUVET M, LUGARI A, POSTHUMA CC, et al. Coronavirus nsp10, a critical co-factor for activation of multiple replicative enzymes [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(37): 25783–25796.
 - [30] CHEN Y, SU C, KE M, et al. Biochemical and structural insights into the mechanisms of SARS coronavirus RNA ribose 2'-O-methylation by nsp16/nsp10 protein complex [J]. *PLoS Pathog*, 2011, 7(10): e1002294.
 - [31] DECROLY E, DEBARNOT C, FERRON F, et al. Crystal structure and functional analysis of the SARS-coronavirus RNA cap 2'-O-methyltransferase nsp10/nsp16 complex [J]. *PLoS Pathog*, 2011, 7(5): e1002059.
 - [32] Ma Y, WU L, SHAW N, et al. Structural basis and functional analysis of the SARS coronavirus nsp14–nsp10 complex [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(30): 9436–9441.
 - [33] FANG SG, SHEN H, WANG J, et al. Proteolytic processing of polyproteins 1a and 1ab between non-structural proteins 10 and 11/12 of Coronavirus infectious bronchitis virus is dispensable for viral replication in cultured cells [J]. *Virology*,



- 2008,379(2):175-180.
- [34] AHN DG,CHOI JK,TAYLOR DR,et al.Biochemical characterization of a recombinant SARS coronavirus nsp12 RNA-dependent RNA polymerase capable of copying viral RNA templates[J].Arch Virol,2012,157(11):2095-2104.
 - [35] TE Velthuis AJ,ARNOLD JJ,CAMERON CE,et al.The RNA polymerase activity of SARS-coronavirus nsp12 is primer dependent[J].Nucleic Acids Res,2010,38(1):203-214.
 - [36] ADEDEJI AO,LAZARUS H.Biochemical characterization of middle east respiratory syndrome coronavirus helicase [J].mSphere,2016,1(5):e00235-16.
 - [37] HAO W,WJOJDYLA JA,ZHAO R,et al.Crystal structure of Middle East respiratory syndrome coronavirus helicase [J].PLoS Pathog,2017,13(6):e1006474.
 - [38] JIA Z,YAN L,REN Z,et al.Delicate structural coordination of the severe acute respiratory syndrome coronavirus nsp13 upon ATP hydrolysis[J].Nucleic Acids Res,2019,47(12):6538-6550.
 - [39] ECKERLE LD,BECKER MM,HALPIN RA,et al.Infidelity of SARS-CoV Nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing [J].PLoS Pathog,2010,6(5):e1000896.
 - [40] BOUVET M,IMBER I,SUBISSI L,et al.RNA 3'-end mismatch excision by the severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein nsp10/nsp14 exonuclease complex[J].Proc Natl Acad Sci U S A,2012,109(24):9372-9377.
 - [41] CHEN Y,CAI H,PAN J,et al.Functional screen reveals SARS coronavirus nonstructural protein nsp14 as a novel cap N7 methyltransferase [J].Proc Natl Acad Sci U S A,2009,106(9):3484-3489.
 - [42] MINSKAIA E,HERTZIG T,GORBALENYA AE,et al.Discovery of an RNA virus 3'->5' exonuclease that is critically involved in coronavirus RNA synthesis[J].Proc Natl Acad Sci U S A,2006,103(13):5108-5113.
 - [43] BHARDWAJ K,SUN J,HOLZENBURG A,et al.RNA recognition and cleavage by the SARS coronavirus endoribonuclease [J].J Mol Biol,2006,361(2):243-256.
 - [44] DENG X,HACKBART M,METTELMAN RC,et al.Coronavirus nonstructural protein 15 mediates evasion of dsRNA sensors and limits apoptosis in macrophages[J].Proc Natl Acad Sci U S A,2017,114(21):E4251-E4260.
 - [45] ZHANG L,LI L,YAN L,et al.Structural and biochemical characterization of endoribonuclease nsp15 encoded by middle east respiratory syndrome coronavirus[J].J Virol,2018,92(22):00893-18.
 - [46] SHI P,SU Y,LI R,et al.PEDV nsp16 negatively regulates innate immunity to promote viral proliferation [J].Virus Res,2019,265:57-66.
 - [47] SHEAHAN TP,SIMS AC,GRANHAM RL,et al.Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses[J].Sci Transl Med,2017,9(396):eaal3653.
 - [48] LO MK,JORDAN R,ARVEY A,et al.GS-5734 and its parent nucleoside analog inhibit filo-,pneumo-,and paramyxoviruses [J].Sci Rep,2017,7:43395.
 - [49] WARREN TK,JORDAN R,LO MK,et al.Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys[J].Nature,2016,531(7594):381-385.
 - [50] ZUMLA A,CHAN JF,AZHAR EI,et al.Coronaviruses -drug discovery and therapeutic options [J].Nat Rev Drug Discov,2016,15(5):327-347.
 - [51] CHO A,SAUNDERS OL,BUTLER T,et al.Synthesis and antiviral activity of a series of 1'-substituted 4-aza-7,9-dideazaadenosine C-nucleosides [J].Bioorg Med Chem Lett,2012,22(8):2705-2707.
 - [52] SHEAHAN TP,SIME AC,LEIST SR,et al.Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV[J].Nat Commun,2020,11(1):222.
 - [53] JORDAN PC,LIU C,RAYNAUD P,et al.Initiation, extension, and termination of RNA synthesis by a paramyxovirus polymerase [J].PLoS Pathog,2018,14(2):e1006889.
 - [54] TCHESNOKOV EP,FENG JY,PORTER DP,et al.Mechanism of inhibition of ebola virus RNA-dependent RNA polymerase by remdesivir[J].Viruses,2019,11(4):E326.
 - [55] AGOSTINI ML,ANDRES EL,SIMS AC,et al.Coronavirus susceptibility to the antiviral remdesivir (GS-5734) is mediated by the viral polymerase and the proofreading exonuclease [J].MBio,2018,9(2):e00221-18.
 - [56] ECKERLE LD,LU X,SPERRY SM,et al.High fidelity of murine hepatitis virus replication is decreased in nsp14 exonuclease mutants[J].J Virol,2007,81(22):12135-12144.
 - [57] SMITH EC,BLANC H,SURDEL MC,et al.Coronaviruses lacking exonuclease activity are susceptible to lethal mutagenesis: evidence for proofreading and potential therapeutics[J].PLoS Pathog,2013,9(8):e1003565.
 - [58] FERRON F,SUBISSI L,SILVEIRA DE MORAIS AT,et al.Structural and molecular basis of mismatch correction and ribavirin excision from coronavirus RNA [J].Proc Natl Acad Sci U S A,2018,115(2):E162-E171.
 - [59] WANG M,CAO R,ZHANG L,et al.Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro [J].Cell Res,2020.doi:10.1038/s41422-020-0282-0.
 - [60] DE WIT E,FELDMANN F,CRONIN J,et al.Prophylactic and therapeutic remdesivir (GS-5734) treatment in the rhesus macaque model of MERS-CoV infection [J].Proc Natl Acad Sci U S A,2020.doi:10.1073/pnas.1922083117.
 - [61] HOLSHUE ML,DEBOLT C,LINDQUIST S,et al.First case of 2019 novel coronavirus in the united state[J].N Engl J Med,2020.doi:10.1056/NEJMoa2001191.
 - [62] WHO.WHO r&d blueprint - ad-hoc expert consultation on clinical trials for ebola therapeutics [EB/OL].Geneva,WHO,2018 (2018-10-11)[2020-02-16].https://www.who.int/ebola/drc-2018/summaries-of-evidence-experimental-therapeutics.pdf?ua=1.