

抗新型冠状病毒药物——瑞德西韦

刘淑娟^{1,2}, 于芳¹, 何宇鹏^{1*}, 李行舟^{2*}

(1. 辽宁石油化工大学 化学化工与环境学部, 辽宁 抚顺 113001; 2. 国家应急防控药物工程技术研究中心 中国人民解放军军事科学院军事医学研究院, 北京 100850)

【摘要】 瑞德西韦是 Gilead Sciences 公司正在研发的一个广谱抗病毒药物, 是核苷类 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RdRp)竞争性抑制剂, 目前正在进行 III 期临床试验研究。体外和动物模型已经证实瑞德西韦对严重急性呼吸综合征($EC_{50}=0.07 \mu\text{M}$)和中东呼吸综合征($EC_{50}=0.07 \mu\text{M}$)的病毒均有活性; 在 Vero E6 细胞上, 瑞德西韦对新型冠状病毒的半数有效浓度 EC_{50} 为 $0.77 \mu\text{M}$, 选择指数 >129 , 说明瑞德西韦在细胞水平上能有效抑制新型冠状病毒的感染。在美国首例新型冠状病毒确诊病例的诊疗过程中, 使用瑞德西韦后病情迅速缓解。目前, 该药已在我国开展治疗新型冠状病毒肺炎的 III 期临床研究, 预计将于 2020 年 4 月底完成。本文就瑞德西韦的基本信息、合成路线、作用机制、临床研究等内容作一概述。

【关键词】 瑞德西韦; 冠状病毒; RNA 聚合酶抑制剂

【中图分类号】 R978.7

【文献标识码】 B

【文章编号】 1672-3384(2020)02-0050-06

Doi: 10.3969/j.issn.1672-3384.2020.02.011

A novel drug for the treatment of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2—remdesivir

LIU Shu-juan^{1,2}, YU Fang¹, HE Yu-peng^{1*}, LI Xing-zhou^{2*}

(1. College of Chemistry, Chemical Engineering and Environmental Engineering, Liaoning Shihua University, Liaoning Fushun 113001, China;

2. National Engineering and Technology Center of Emergency Prevention and Control Drugs, Chinese PLA Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

冠状病毒属于套式病毒目冠状病毒科的冠状病毒属, 是一类具有囊膜、基因组为线性单股正链的核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)病毒, 是自然界广泛存在的一大类病毒。某些冠状病毒会感染人类并引起疾病, 比如中东呼吸综合征(Middle East respiratory syndrome, MERS)和严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS), 临床症状可从普通感冒到重症肺部感染。此次在我国武汉地区首先发现的冠状病毒是一种先前尚未在人类中发现的病毒株系。2020年2月11日, 国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)宣布, 新型冠状病毒的正式命名为严

重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2); 而世界卫生组织(World Health Organization, WHO)同日宣布, 由新型冠状病毒感染导致的疾病的正式名称为 2019 冠状病毒疾病(corona virus disease 2019, COVID-19)^[1]。感染该病毒后常见的症状为发热、干咳、肌痛或乏力, 部分患者会发展到肺炎, 并发症包括急性呼吸道窘迫综合征, 急性心脏损伤和继发感染^[2]。瑞德西韦(remdesivir, GS-5734)是 Gilead Sciences 公司正在研发中的一个广谱抗病毒药物^[3], 为一种冻干粉针类静脉注射剂, 作为核苷类 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RdRp)竞争性抑制

作者简介: 刘淑娟, 女, 硕士; 研究方向: 药物设计与合成; E-mail: m13626408337_1@163.com

*通信作者: 何宇鹏, 男, 博士, 教授; 研究方向: 药物合成化学; E-mail: yupeng.he@lnpu.edu.cn

李行舟, 男, 博士, 研究员; 研究方向: 药物设计与合成; E-mail: xingzhouli@aliyun.com

剂^[4-5], 瑞德西韦在细胞水平上能有效抑制 SARS-CoV-2 的感染^[6], 美国首例 SARS-CoV-2 感染确诊病例的诊疗过程中, 使用瑞德西韦后病情迅速缓解^[7]。目前, 其正在中国开展针对 COVID-19 的 III 期临床研究。本文就瑞德西韦的基本信息、合成路线、作用机制、临床研究等内容作一概述。

1 基本信息

瑞德西韦是一种 RNA 聚合酶抑制剂, 分子式为 $C_{27}H_{38}N_6O_7P$, 相对分子质量为 602.58, 瑞德西韦的化学结构见图 1。

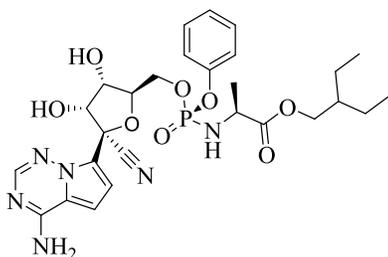


图1 瑞德西韦的化学结构

2 合成路线

文献已报道了瑞德西韦的一代和二代合成路线^[8], 详见图 2 和图 3。其中, 一代合成方法中首先是化合物 2 在丁基锂的作用下与内酯 1 进行糖苷化反应生成化合物 3, 接着进行氰基化反应得到化合物 4, 再进行脱苄基保护得到化合物 5; 化合物 5 与化合物 8 反应得到消旋的化合物 6, 最终进行超临界流体色谱 (supercritical fluid chromatography, SFC) 拆分得到手性瑞德西韦, 总产率 1.35%。二代合成方法中第一步的糖苷化反应使用碘代物取代一代方法中的溴代物, 并使用格氏试剂进行卤素交换, 产率由 25% 提高到 40%, 氰基化反应和醚的脱苄基反应条件经过优化后, 产率大幅度提高, 顺利得到化合物 5; 化合物 5 的邻位顺式双羟基通过保护, 得到化合物 10; 化合物 10 与单一构型的 9 进行反应, 再进行脱保护反应顺利得到手性的最终化合物瑞德西韦, 总产率 12.71%。一代的合成方法需要进行 SFC 拆分, 难以实现大规模制备。二代的合成方法是手性合成, 较好地解决了这一难题。

3 作用机制

冠状病毒为单股正链 RNA, 在冠状病毒成熟粒子中, 并不存在 RNA 病毒复制所需的 RdRp。该类病毒进入宿主细胞后, 直接以病毒基因组 RNA 模板进行翻译, 表达出病毒 RdRp, 然后完成病毒 RNA 的复制。瑞德西韦是一种前体药物, 其进入宿主细胞后代谢为具有药理活性的三磷酸核苷 (nucleoside triphosphate, NTP)^[3-4], NTP 通过掺入新生的病毒 RNA 转录物中导致其过早终止, 进而抑制了 RdRp 催化的 RNA 合成, 从而抑制了病毒的复制过程, 最终实现抑制病毒的繁殖^[5]。

4 临床研究

瑞德西韦在体外实验中对多种病毒有抑制作用, 例如冠状病毒、丙肝病毒、人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 和埃博拉病毒等^[9-10]。由于对丙肝和 HIV 已经有成熟的治疗方案, 加上 2014 年埃博拉病毒暴发, 目前吉利德公司已开展了瑞德西韦治疗埃博拉病毒的临床研究。

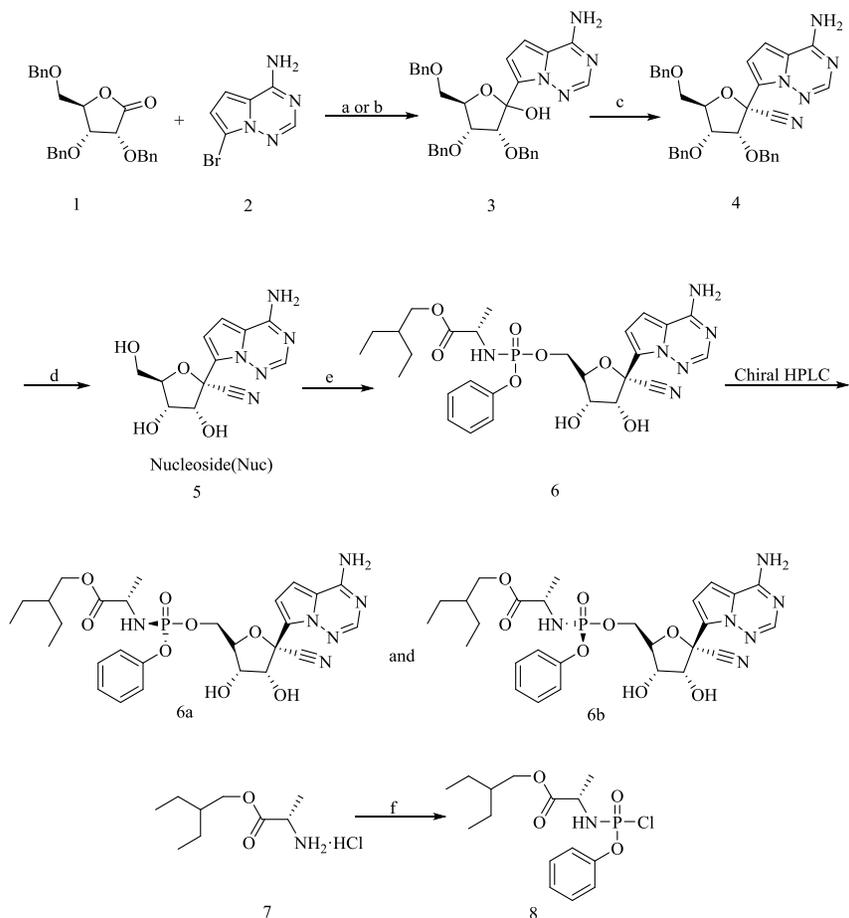
4.1 临床前研究

目前, 已经在埃博拉病毒感染的恒河猴和马尔堡病毒感染的食蟹猴中开展了瑞德西韦多种治疗方案的临床前研究。所有研究均为随机, 盲法和安慰剂对照, 每个治疗组至少包含 6 只动物。在最初的研究中, 埃博拉病毒接种 3 d 后, 受试动物接受了 3~10 mg/kg 的瑞德西韦治疗, 每天静脉注射 1 次, 连续 12 d, 受试动物存活率 100%; 并显著改善了埃博拉病毒病 (Ebola virus disease, EVD) 的临床症状, 包括改善行为抑郁、血液学和凝血参数, 没有发现肝肾毒性。在 28 d 的研究中, 接受 10 mg/kg 瑞德西韦治疗的受试动物中 50% 无任何 EVD 临床体征。相比之下, 接受安慰剂的动物在第 9 天全部死于 EVD^[11]。

最新的研究发现, 在 Vero E6 细胞上, 瑞德西韦在细胞水平上能有效抑制 SARS-CoV-2 的感染, 对该病毒的 EC_{50} 为 0.77 μ M, 选择指数 (selection index, SI) > 129^[6]。

4.2 I 期临床试验

一项盲法、随机、安慰剂对照的 I 期临床试验评



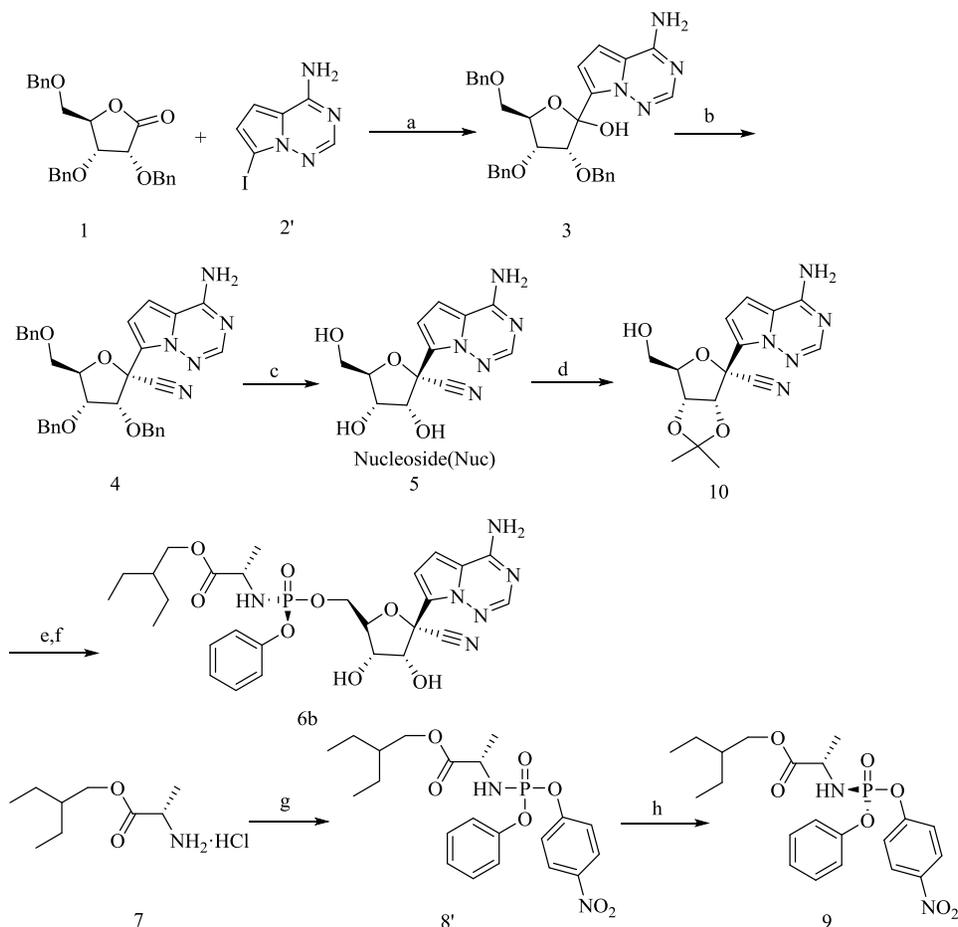
反应条件:(a) $n\text{-BuLi}$, $(\text{TMS})\text{Cl}$, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 25 %; (b) 1,2- $\text{bis}(\text{chlorodimethylsilyl})\text{ethane}$, NaH, $n\text{-BuLi}$, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 60 %; (c) $(\text{TMS})\text{CN}$, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 58 % (89:11b-17/a); (d) BCl_3 , CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 74 %; (e) 8 NMI, $\text{OP}(\text{OMe})_3$, 21 %; (f) $\text{OP}(\text{OPh})\text{Cl}_2$, Et_3N , CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 23 %
图2 瑞德西韦的一代合成路线

估了健康成人静脉滴注瑞德西韦的安全性、耐受性和药代动力学特征。2 h内静脉滴注完毕3 ~ 225 mg瑞德西韦,瑞德西韦呈剂量线性药代动力学特征;静脉滴注150 mg瑞德西韦(滴注时间<1 h),每天1次,共计14 d,瑞德西韦呈时间线性药代动力学特征,同时受试者耐受性良好^[11]。该项试验还比较了低温储存的瑞德西韦溶液制剂与瑞德西韦冻干制剂的药代动力学特征,在2 h内静脉滴注75和150 mg的瑞德西韦后,低温储存的瑞德西韦溶液制剂与瑞德西韦冻干制剂呈相似的药代动力学特征^[11]。

4.3 II期临床试验

2018年11月20日至2019年8月9日在刚果开展了瑞德西韦治疗EVD的II期临床试验(NCT03719586)。试验采用随机对照方法,评估最有希望的治疗EVD方案的安全性和有效性。入选逆

转录酶-聚合酶链反应分析中埃博拉病毒RNA阳性的患者,年龄不限。以1:1:1的比例将患者随机分为ZMapp组(对照组)、瑞德西韦组、MAb114或REGN-EB3组。试验最初设计为3组患者,但在2019年1月更新了方案,将REGN-EB3纳入第4组,并将来自该组的数据与增加REGN-EB3组后新加入ZMapp组的患者(ZMapp亚组)进行比较,主要观察终点为28 d死亡率。所有患者均接受标准护理,包括静脉输液,日常临床实验室检查,纠正低血糖和电解质失衡,并按指征使用广谱抗菌药物和抗疟疾药物。ZMapp(3种单克隆抗体混合物)、瑞德西韦、MAb114(EVD幸存者的单克隆抗体)均为静脉滴注,REGN-EB3(3个EVD幸存者的IgG₁单克隆抗体混合物)为静脉注射。ZMapp组患者,按50 mg/kg计,每3天静脉滴注1次ZMapp,共计3次;瑞德西韦组患者,第1天静脉滴注



反应条件: (a) TMSCl, PhMgCl, *i*-PrMgCl, THF, -20°C , 40%; (b) TMSCN, TfOH, TMSOTf, CH_2Cl_2 , -78°C , 85%; (c) BCl_3 , CH_2Cl_2 , -20°C , 86%; (d) 2,2-dimethoxypropane, H_2SO_4 , acetone, rt, 90%; (e) 9, MgCl_2 , (*i*-Pr) $_2\text{NEt}$, MeCN, 50°C , 70%; (f) 37% HCl, THF, rt, 69%; (g) OP(OPh) Cl_2 , Et_3N , CH_2Cl_2 , -78°C , then 4-nitrophenol, Et_3N , 0°C , 80%; (h) *i*-Pr $_2\text{O}$, 39%

图3 瑞德西韦的二代合成路线

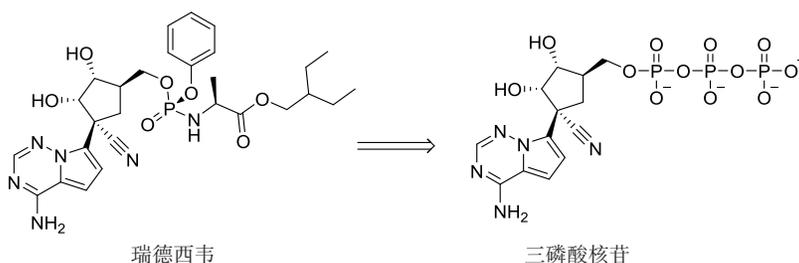


图4 瑞德西韦在细胞内的代谢过程

负荷剂量瑞德西韦(成人为200 mg,儿童根据体重进行调整),然后根据病毒载量,从第2天开始每日静脉滴注维持剂量(成人为100 mg),持续9~13 d; MAb114组患者,按50 mg/kg计,单次静脉滴注 MAb114; REGN-EB3组患者,按150 mg/kg计,单次静脉注射 REGN-EB3。从2018年11月20日至2019年8月9日,总计681例患者入选埃博拉治疗中心并

接受随机分组,8例患者被排除在最终分析之外,剩余的673例入选者中,169例接受 ZMapp 治疗、175例接受瑞德西韦治疗、174例接受 MAb114 治疗、155例接受 REGN-EB3 治疗。添加 REGN-EB3 组后(ZMapp 亚组),共有154例患者被分配到该组。患者入院后平均5.5 d内发病。第28天共计290例患者死亡,死亡率为43.1%。其中低病毒载量(Ct值

>22.0)患者死亡率为18.8%,高病毒载量(Ct值 \leq 22.0)患者死亡率为76.1%;基线核蛋白Ct平均值为 24.0 ± 5.6 ,42.1%的患者Ct值为22.0或更低;在4个随机分组中,瑞德西韦组的死亡率约为53%,ZMapp组为49.7%,Mab114组为35%,REGN-EB3组为33%^[12]。数据和实时监控委员会对499名患者的数据进行了中期分析,并基于2项试验结果,建议终止对ZMapp和瑞德西韦的随机分配。基于此,瑞德西韦在治疗埃博拉病毒这个方向上,就没有再进行深入研究。但是,这项研究对瑞德西韦还是很有价值的,至少说明这个药物的安全性是可以接受的。这也为瑞德西韦用于治疗其他病毒感染的临床试验奠定了非常良好的基础。

4.4 针对SARS-CoV-2的临床研究

基于其良好的体内外抗冠状病毒活性,瑞德西韦用于COVID-19的治疗引起人们高度关注。2020年1月20日,美国确诊了首例COVID-19病例,该患者35岁,男,有吸烟史,高甘油三酯血症病史。该患者在住院第7天开始静脉注射瑞德西韦,期间未观察到与输注有关的不良事件。在第8天,患者临床症状有所改善:停止补充氧气后,血氧饱和度值提高到94%~96%;肺双侧下叶啰音消失;食欲得到改善。除间歇性干咳和鼻溢液外,无其他症状。至2020年1月30日,除干咳外,该例患者的其他症状均已缓解,咳嗽程度也减轻^[7]。

近日,瑞德西韦在中国的Ⅲ期临床试验宣布开始,方案包括瑞德西韦用于治疗轻/中症COVID-19临床研究(NCT04252664),计划招募患者(\geq 18岁)308例;瑞德西韦用于治疗重症COVID-19临床研究(NCT04257656),计划招募成年患者453例。试验组第1天静脉给予瑞德西韦负荷剂量200 mg,以后每天给予瑞德西韦维持剂量100 mg,连续使用9 d;对照组给予安慰剂。瑞德西韦治疗轻/中症COVID-19临床研究将于2020年4月27日完成,重症临床研究将于2020年5月1日完成。

5 安全性

临床前安全性试验显示,瑞德西韦对中枢神经系统、呼吸系统和心血管系统的风险很低,而且是非遗

传毒性^[11-12]。

I期临床试验中进行了3~225 mg静脉滴注单剂量爬坡试验,没有观察到与剂量相关的毒性,也没有观察到肝肾毒性,所有的不良反应都是1级或2级。每天150 mg静脉滴注给药7~14 d的研究中,受试者均耐受。没有观察到3级或者4级的不良反应。在几例受试者中观察到可逆的1级或2级不良反应,表现为谷丙转氨酶或天门冬氨酸转氨酶升高,总胆红素、碱性磷酸酶或白蛋白无异常。在所有受试者中没有临床显著变化。在多剂量研究中,瑞德西韦对肾功能没有影响^[11]。

II期临床试验的安全性分析,在瑞德西韦的试验组中1例患者出现低血压症状,并导致心脏骤停,死亡,被认为是该药不良反应引起。当然也不排除EVD迅速恶化导致该患者死亡^[12]。

6 用法用量

在治疗EVD时,推荐成人和青少年(\geq 40 kg)患者瑞德西韦给药方案是:首日静脉滴注给药200 mg,第2~10天每天1次、每次100 mg,共计10 d;如果第10天仍可在血浆中检测到病毒,则继续给药4 d,每天1次、每次100 mg。对于体重 $<$ 40 kg的患儿,首日给药5 mg/kg,每天1次,第2~14天每天1次、每次2.5 mg/kg。每次静脉滴注时间均控制在30 min以内^[12]。

7 药代动力学和药物相互作用

有研究观察了瑞德西韦在非人灵长类动物(non-human primates, NHP)中的药代动力学。在恒河猴中静脉滴注10 mg/kg的瑞德西韦后,发现其血浆半衰期较短($t_{1/2}=0.39$ h)。瑞德西韦在体内迅速代谢为重要中间体丙氨酸和单磷酸核苷(nucleoside monophosphate, Nuc),丙氨酸在体内存在短暂,单磷酸核苷可较持久的存在于体内。在给药2 h内瑞德西韦迅速分布到外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中,并且很快转化为活性形式三磷酸核苷(nucleoside triphosphate, NTP)。在外周血单核细胞中,NTP的血浆半衰期为14 h,在24 h内可有效抑制超过50%的病毒活性。在食蟹猴中,静脉滴注10 mg/kg瑞德西韦(¹⁴C),4 h内NTP分布

到睾丸、附睾、眼睛和大脑中;脑脊液中的NTP浓度低于其他组织;给药168 h后,脑脊液中仍可检测到NTP且浓度高于血浆中的浓度。研究表明,每日1次给药,可维持细胞内的NTP的有效浓度。在动物或临床试验中,尚未有瑞德西韦与其他药物联合应用的报道;亦未有与其他药物相互作用的报道^[12-13]。

综上,瑞德西韦是一个广谱抗病毒药物,为冻干粉针类静脉注射剂,对多种病毒,包括埃博拉病毒、丙肝病毒、HIV病毒、丝状病毒和冠状病毒都有抑制作用。目前,瑞德西韦已在武汉金银潭医院等多家医院开展COVID-19的Ⅲ期临床研究,期待其成为人类对抗新型冠状病毒新的选择。

【参考文献】

- [1] 谭德塞. 世卫组织总干事在2020年2月11日举行的2019新型冠状病毒新闻通报会上的讲话[EB/OL]. (2020-02-12) [2020-02-12]. <https://www.who.int/zh/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>.
- [2] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. *Lancet*, 2020, 395: 497-506.
- [3] Timothy P, Sheahan Amy C S, Rachel L G, et al. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(396): 1-10.
- [4] Cho A, Saunders O L, Butler T, et al. Synthesis and antiviral activity of a series of 1 0-substituted 4-aza-7, 9-dideazaadenosine C-nucleosides[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(8): 2705-2707.
- [5] Warren T K, Jordan R, Lo M K, et al. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in Rhesus monkeys[J]. *Nature*, 2016, 531(7594): 381-385.
- [6] 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, 1: 1-3.
- [7] Holshue M L, DeBolt C, Lindquist S, et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States[J]. *N Engl J Med*, 2020, 1: 1-9.
- [8] Siegel D, Hui H C, Doerffler E, et al. Discovery and synthesis of a phosphoramidate prodrug of a Pyrrolo [2, 1-f] [triazin-4-amino] Adenine C-Nucleoside (GS-5734) for the treatment of Ebola and emerging viruses[J]. *J Med Chem*, 2017, 60(5): 1648-1661.
- [9] Sheahan T P, Sims A C, Graham R L, et al. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(396): e13653.
- [10] 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): 222.
- [11] Mulangu S, Dodd L E, Davey R T, et al. A randomized, controlled trial of Ebola virus disease therapeutics [J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(24): 2293-2303.
- [12] Gaudinski M R, Coates E E, Novik L, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and immunogenicity of the therapeutic monoclonal antibody mAb114 targeting Ebola virus glycoprotein(VRC 608): an open-label phase 1 study[J]. *Lancet*, 2019, 393(10174): 889-898.
- [13] Brown A J, Won J J, Graham R L, et al. Broad spectrum antiviral remdesivir inhibits human endemic and zoonotic deltacoronaviruses with a highly divergent RNA dependent RNA polymerase[J]. *Antiviral Res*, 2019, 169: e104541.

收稿日期: 2020-02-11 本文编辑: 蒋少薇