

综述与编译

064 植物中抗病毒活性成分

杨崇仁 张颖君 李海舟

(中国科学院昆明植物研究所 昆明 650204)

摘 要 随着病毒感染的增加,开发抗病毒药物的工作日益紧迫,从天然产物中寻找抗病毒先导化合物已成为研究重点。综述了迄今从植物中发现的具抗病毒活性的酚类、萜类、生物碱类和黄酮类等化合物。

关键词 抗病毒 四川山矾 金线吊乌龟 藿香 毛胡桐

病毒是一类细胞内病原体,具有传染性和亲器官性,由其引起的传染病(如:病毒性肝炎、流感、脑炎、肺炎、疱疹、腮腺炎等)一直困扰着人类。20 世纪 80 年代以来,随着艾滋病(AIDS)的传播,病毒感染的疾病对人类健康和生命的威胁日益引起国际社会的重视。AIDS 已成为全球范围的严重问题,自 1981 年美国报告首例 AIDS 病例之后,大量的 AIDS 患者和 HIV 感染者在全球范围骤然增加。2000 年全世界 HIV 感染者达 4 000 万, AIDS 患者达 1 000 万。我国自 1985 年发现首例 AIDS 病人以来, HIV 感染者上升速率达每年 30% 左右;至 2000 年底, HIV 感染者已超过 60 万人,且以 15~49 岁青壮年为主,男女比例为 5:1。虽然对该病开展了广泛的研究,但尚未发现确实有效的药物。2003 年春季,由冠状病毒感染引起的非典型肺炎(SARS),在不到半年的时间里肆虐全球,我国患者达 4 800 多例,全球患者达 7 000 余例。全力以赴战胜瘟疫,已成为全球医药界协同攻克的主要目标。

病毒是最简单的细胞内寄生微生物,其基本结构仅为核酸和蛋白质外壳,必须利用活细胞宿主的各种生物化学机制进行复制。病毒的结构、酶和复制过程是抗病毒药物的作用靶点。由于病毒生存在细胞内,本身很少

有独立的酶系统,必须利用细胞的酶系统进行代谢活动,所以复制周期与细胞的代谢密切相关。抗病毒药物在攻击病毒的同时,往往对宿主产生毒性反应。因此,抗病毒药物的研究与开发困难重重,抗病毒药物的发展与抗菌和抗肿瘤药相比要缓慢和落后得多。临床有效的抗病毒药物不多,且均有较大的毒性,有的毒副作用甚至接近宿主可承受的极限。因此,目前对病毒感染的治疗仍然在很大程度上依赖免疫学方法和干扰素等。

迄今为止,美国 FDA 批准上市的抗病毒药物有金刚烷胺(amantadine)、阿昔洛韦(acyclovir,抗 HSV 和水痘-带状疱疹病毒)、利巴韦林(ribavirin,抗呼吸道合胞体病毒)、更昔洛韦(ganciclovir,抗巨细胞病毒)、法昔洛韦(famciclovir,抗水痘-带状疱疹病毒)、索利洛韦(sorivudine,抗 HSV)、碘苷(idoxuridine)、曲氟尿苷(trifluridine)、阿糖腺苷(vidarabine)和齐多夫定(zidovudine)。除金刚烷胺为金刚烷类化合物外,其余均为寡核苷酸衍生物。

抗病毒药物体外筛选主要以病毒整合过程前和转录后的各阶段作为靶点。对逆转录酶(reverse transcriptase, RTase)、整合酶(integrase)、蛋白酶(protease)、糖苷酶、病毒蛋白酶、RNA 酶 H(Rnase H)、病毒核酸、以

及对病毒装配的抑制均是抗病毒药物研究的重要领域。其中,逆转录酶抑制剂在抗逆转录病毒的新药研究中非常活跃。

抑制病毒增殖也是常用的抗病毒活性成分体外筛选的手段。一般选择合适的培养基,建立病毒-细胞培养系,采用噬斑法(空斑减少法),以细胞病变(CPE)为指标,用荧光抗体法、酶联免疫吸附测定法、多聚酶联反应法等测定对病毒增殖的抑制活性、病毒抗原和核酸量,以探讨抑制病毒增殖的效果。根据病毒在宿主细胞内的阶段性增殖过程,还可检测对病毒吸附、逆转录酶活性、蛋白合成与修饰、出芽等过程的阻断作用。

对药物的体内抗病毒活性的筛选与评价,关键是要建立规范的病毒感染动物模型。目前,国际上抗病毒药物研究的主要策略包括阻断病毒与靶细胞的结合、抑制逆转录酶、抑制病毒蛋白复制、抑制蛋白质修饰或病毒颗粒的出芽释出、以及切断病毒基因组等。通过对已知疗效化合物进行结构改造、计算机设计先导分子、反义寡核苷酸结构改造和组合化学合成、免疫功能调节剂的研制、以及从植物和微生物中筛选天然抗病毒先导化合物等。从天然产物中开发高效低毒的抗病毒药物已成为人们关注的焦点。

从植物中发现天然抗病毒活性化学物质是开发抗病毒药物的重要途径,特别是我国的中医药和民族民间医药经验中,蕴藏着极为丰富的宝藏。经过初步研究,证明扶正固本类和清热解毒类中药复方中有百余个复方具抗病毒作用,在发掘新的抗病毒有效物质和天然药物方面有着十分广阔的前景。笔者将重点介绍近年来从植物药中发现的一些抗病毒活性成分。

1 酚类化合物

1.1 黄酮类

从中药藿香 *Agastache rugosa* O. Kuntze 中分离到的 3,7,3'-三甲氧基槲皮素(1),体外 0.1~0.5 $\mu\text{g/mL}$ 对 HRV、脊髓灰质炎病毒 (poliovirus) 等门戈病毒 (men-

govirus) 以外的所有小核糖核酸病毒 (picornavirus) 有显著抑制作用,对 RNA 和 DNA 病毒则无活性,显示很强的特异性。该化合物细胞毒活性不高(对 HeLa 细胞的 IC_{50} 为 15 $\mu\text{g/mL}$),小鼠腹腔给药 300 mg/kg 无毒性反应。合成的数百个衍生物中,2'-羟基-4,4',6'-三甲氧基查耳酮(2)有显著的抗病毒活性。而 2'-羟基-4'-乙氧基-4,6'-二甲氧基查耳酮(3)对多种人鼻病毒 (rhinovirus) 有抑制作用的浓度为 0.001~3 $\mu\text{g/mL}$;对 HRV 显示极高的选择性抑制作用,抑制率为 85% 的 MIC 为 0.03 $\mu\text{g/mL}$;浓度在 30 $\mu\text{g/mL}$ 时对 HeLa 细胞有细胞毒作用。此外,二氢衍生物 2'-羟基-4'-乙氧基-4,6'-二甲氧基二氢查耳酮(4)和氨基衍生物 5,6 (结构见图 1) 对 HRV 的抑制活性较化合物 3 强数倍至数十倍。这类化合物的抗病毒作用是通过稳定病毒壳蛋白,防止病毒 RNA 释放所必须的构型转化来影响病毒在宿主细胞中的脱壳过程。

以体外的鼻病毒抑制活性为指标,对一系列黄酮和黄烷类化合物进行构效关系的研究,发现 4,6'-二氯黄酮活性最强。在 3-甲氧基黄酮衍生物中,则以 A 环取代的 5,4'-二羟基-3,7-二甲氧基黄酮 (jaranol) 和 5,4'-二羟基-3,6,7-三甲氧基黄酮 (penduletin) 的活性最强。用 EPTT 法筛选,其同系物 7,4'-二羟基-3-甲氧基-5,6-二甲基黄酮体外抗 1 型脊髓灰质炎病毒和 15 型鼻病毒的活性分别为 $\text{TI}_{99} > 1000$ 和 200;抑制各种鼻病毒的 MIC 为 0.016~0.5 $\mu\text{g/mL}$ 。4'-羟基-3,7-二甲氧基-5-甲基黄酮等同系物亦有类似的活性。

从非洲产大戟属植物 *Euphorbia grantii* Oliv. 中分离到一系列 3-甲氧基黄酮类化合物,其中 3-甲基槲皮素、3-甲基山奈酚等有显著的抗病毒活性。此外槲皮素、漆树黄酮 (fisetin)、橙皮苷 (hesperidin) 等也都有抗病毒活性。

1.2 香豆素类

从热带植物绵毛胡桐 *Calophyllum lanigerum* 的果实和幼枝中分离到的 calanolide A (7) 对 HIV-1 有高度特异性的抑制作用, 对齐多夫定和 pyridinone 的耐药株有效, 被称为第二代非核苷类逆转录酶抑制剂。该化合物抗 HIV 的 II 期临床试验正在进行中^[1]。

1.3 木脂素

四川产山矾科植物四川山矾 *Symplocos setchuensis* 茎的乙醇提取物有抑制 HIV 活性, $EC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$, $TI > 5$, 从中分离到乌台树脂酚 (matairesinol, 8), 该化合物及其二乙酰化物对 H9 淋巴细胞中 HIV-1 复制的 IC_{50} 为 $21.9 \mu\text{mol/L}$, EC_{50} 为 $2.0 \mu\text{mol/L}$, $TI = 11.0$ 。乌台树脂酚对 HIV-1 整合酶无活性, 可能作用于 HIV 复制的其他阶段^[2]。同类化合物 (—)-牛蒡配基 [(—)-arctigenin, 9] 和络石配基 [(—)-trachelogenin, 10] 有抑制 HIV-1 复制的作用。

1.4 原花青素类

Balde^[3] 对西非产茜草科大沙叶属植物 *Pavetta owariensis* P. Beauv. 树皮进行活性追踪研究, 分离到原花青素的二聚体和三聚体。它们的浓度分别在 250 和 $62.5 \mu\text{g/mL}$ 时, 体外对 HSV 和柯萨奇病毒 (coxsackie virus) B2 有显著的抑制活性。

1.5 鞣质类

许多鞣质都有抑制病毒逆转录酶的活性。例如, 茶叶中的 ECG (11) 和 EGCG (12) 均显著抑制 HIV RTase 的多酶反应催化过程。通过一系列衍生物和寡聚体的活性对比研究, 认为没食子酰基为重要活性基团, 从而对分子结构进行简化, 以期发现更高活性的目标化合物。许多水解鞣质亦具显著的抗病毒活性, 特别是从余甘子 (滇橄榄) 果实中分离到的 putranjivain A (13) 对 RTase 的 IC_{50} 为 $3.9 \mu\text{mol/mL}$ 。

1.6 其他酚类

贯叶金丝桃 *Hypericum perforatum* 中的金丝桃素 (hypericin, 14) 和伪金丝桃素

(pseudohypericin, 15), 以及棉籽酚 (16) 等有抑制病毒逆转录酶的活性。

2 二萜类

从巴豆种子中分离到一系列佛波醇酯, 其中 12-O-乙酰佛波醇-13-葵酸酯和 12-O-葵酰佛波醇-13-(2-甲基)丁酸酯对 HIV-1 有抑制作用, IC_{50} 分别为 7.6 ng/mL 和 $7.8 \mu\text{g/mL}$, CC_{50} 分别为 62.5 和 $31.3 \mu\text{g/mL}$ 。12-O-四葵酰基佛波醇-13-醋酸酯对 HIV-1 诱导 CPE 是最有效的抑制剂, $IC_{50} = 0.4 \text{ ng/mL}$ 。分子结构中 C-12 和 C-13 的链状酰基对活性有重要的作用。

3 三萜类化合物及其配糖体

齐墩果酸 (17)、甘草酸 (18) 等三萜化合物对多种病毒均有抑制作用。Hasegawa^[4] 从竹节参 *Panax japonicus* 中分离到的竹节参苷 (chikusetsusaponin) Ia (19) 和从云南特产的姜状三七 *Panax zingiberensis* 中分离到的姜状三七苷 (zingiberoside) R1 (20) 抗病毒活性显著。Hayashi^[5] 从匙羹藤 *Gymnema sylvestre* 中分离到的森林匙羹藤酸 (gymnemic acid) 对流感病毒 A 有抑制作用。

Min 等^[6] 从韩国产山楂 *Crataegus pinnatifida* 叶中分离到对 HIV-1 蛋白酶有抑制作用的乌索醇和熊果酸, IC_{50} 分别为 5.5 和 $8.0 \mu\text{mol/L}$ 。在天然存在的熊果烷型三萜中, C-3 位酮基化合物活性较强, 合成的衍生物 3-氧-12-熊果烯-28-酸对 HIV-1 蛋白酶的 IC_{50} 为 $7.5 \mu\text{mol/L}$ 。

从大血藤 *Sargentodoxa cuneata* 中分离到的 normentic acid glucosyl ester 和从巴西植物 *Thinnouia coriacea* 中分离到的 S21 两个三萜皂苷, 前者对 HSV-1 壳蛋白合成有抑制作用, 后者对 DNA 的复制有抑制作用^[7]。

4 生物碱类

药用植物中的多种生物碱类化合物均有抗病毒活性。例如: 金线吊乌龟 *Stephania cepharantha* 的生物碱有显著抗 HSV-1 活性, 其中, N-methyl-crotsparine 对 HSV-1、

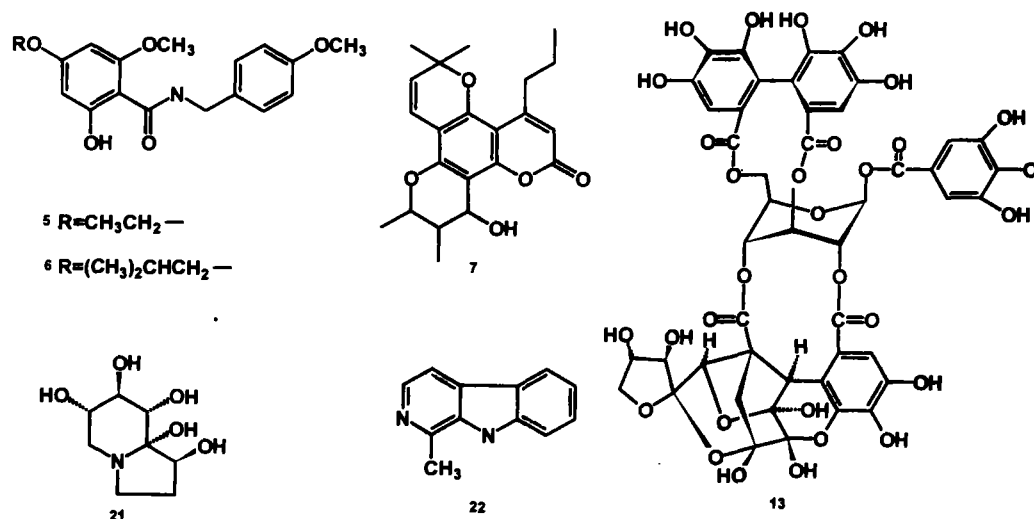


图1 部分抗病毒化合物的结构

TK-HSV-1 和 HSV-2 的 IC_{50} 分别为 8.3、7.7 和 6.7 $\mu g/mL$ ^[8]。有抗病毒活性的化合物还有:喜树碱 (camptothecin) 对流感病毒 A、B, HSV 有抑制作用;石蒜碱 (lycorine) 对脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒 B2、HSV-1 有抑制作用;茄科植物的甾体生物碱配糖体茄碱 (solanine)、羟基茄碱 (solasonine)、番茄碱糖苷 (tomatine)、查茄碱 (chaconine) 等有抑制 HSV 等病毒的作用;澳大利亚产 *Castanspermum australe* 种子中的 castanspermimine (21)、罂粟碱等也有抗病毒活性。

Ishida 等^[2]从四川山矾茎中分离到的另一个抗 HIV 活性成分哈尔满 (harman, 22), 为咔啉 (carboline) 类生物碱, 其抑制 HIV 复制的 IC_{50} 为 111.5 $\mu mol/L$, EC_{50} 为 10.7 $\mu mol/L$, $TI=10.4$ 。在此之前 Xu 等^[9]从美洲产银毛木科植物 *Leiteria floridana* 中分离到类似的 1-甲氧基铁屎米-6-酮 (1-methoxycanthin-6-one) 亦有抗 HIV-1 活性。Ishida 等^[2]还合成了 28 个衍生物进行活

性筛选, 结果发现 1-甲基与 7-甲氧基衍生物以及吲哚环上的烷基取代可增强其抗 HIV 活性。

5 植物蛋白、多糖和寡糖类

天花粉蛋白 (trichsanthin) 在无细胞系统中有强烈的抑制蛋白质生物合成的作用, 是一种“致核糖体失活蛋白 (RIP)”, 特异性地对 HIV 感染的 T 细胞和巨噬细胞有毒。多种植物多糖和寡聚糖亦显示抗病毒活性。

参考文献

- 1 柴振海. 国外医药·植物药分册, 2000, 15(6): 244
- 2 Ishida J. J Nat Prod, 2001, 64(7): 958
- 3 Balde A. Phytother Res, 1990, 4(5): 182
- 4 Hasegawa H. Planta Med, 1994, 60(3): 240
- 5 Hayashi K. Antiviral Chem Chemother, 1993, 4(1): 49
- 6 Min B. Planta Med, 1999, 65(4): 374
- 7 Simoes C. Phytother Res, 1999, 13(4): 323
- 8 Nawawi A. Biol Pharm Bull, 1999, 22(3): 268
- 9 Xu Zhihong. J Nat Prod, 2000, 63(12): 1712

(2003-07-21 收稿)

欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅