

· 综述 ·

抗丙型肝炎病毒天然产物的研究进展

马颖¹, 金永生² (1. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005; 2. 海军军医大学药学院, 上海 200433)

[摘要] 丙型肝炎病毒(HCV)是导致慢性肝炎、肝硬化和肝细胞癌的重要因素。当前,没有疫苗可用于预防HCV感染。该文综述了近年来从植物中发现的具有抗HCV活性的天然产物,并依据其作用机制进行了分类阐述和总结,以期从天然产物中发现抗HCV药物提供依据。

[关键词] 丙型肝炎病毒;天然产物;病毒复制;病毒入侵;研究进展

[中图分类号] R932 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2021)02-0102-06

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202012003

Research progress of natural products against hepatitis C virus

MA Ying¹, JIN Yongsheng² (1. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China; 2. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Hepatitis C virus (HCV) is an important factor leading to chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Currently, there is no vaccine available to prevent HCV infection. This article reviews the natural products with anti-HCV activity discovered from plants in recent years, and classifies and summarizes them according to their mechanism of action, in order to provide a basis for discovering anti-HCV drugs from natural products.

[Key words] hepatitis C virus; natural products; virus replication; virus entry; research progress

根据WHO的数据,每年约有399 000人死于与丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染有关的肝病。目前,尚没有疫苗可用于预防HCV感染。HCV是黄病毒科中一种有包膜的正链单链RNA病毒。HCV基因组RNA编码为一种多聚蛋白,这种多聚蛋白可以被宿主和病毒的蛋白酶切割转化为成熟蛋白,其中包括:核心蛋白、糖蛋白E1和E2(组成结构蛋白)、离子通道p7和非结构蛋白,包括NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A和NS5B等。非结构病毒蛋白NS3/4A、NS4B、NS5A和NS5B组装并与宿主蛋白相互作用,形成病毒复制复合物。非结构蛋白之一的NS5B是一种HCV复制酶,它也是一种RNA依赖的RNA聚合酶(RdRp),可以复制病毒RNA的基因组^[1]。因此,NS已经成为药物开发的主要目标^[2]。这类以NS蛋白为靶点的抗丙肝药物,可以直接杀死HCV,也称为直接抗病毒药,例如,蛋白酶抑制剂特拉匹韦(telaprevir)或西咪匹韦(simeprevir)和RNA聚合酶抑制剂索

磷布韦(sofosbuvir)对大多数常见HCV基因型的有效率高达90%,从而提高了持续的病毒学应答率。但是,这些直接抗病毒药治疗可能会导致高昂的治疗费用以及一些其他问题:如耐药性、药物相互作用,以及疲劳、头痛、恶心、失眠、甚至贫血等不良反应。因此,针对HCV生命周期不同阶段的新型药物可能为抗HCV耐药性发展和感染复发等提供有前途的方法。

从天然产物中寻找和发现新的活性化合物一直是新药研究的主要方向之一。近些年来,具有抗HCV作用的天然化合物越来越受到重视。本文对近年来报道的具有较好活性的天然抗HCV活性化合物做一综述,为天然产物抗HCV研究提供一些思路。

1 具有干扰HCV复制的天然化合物

NS3作为HCV的一种重要的非结构蛋白,在HCV复制过程中起着重要的作用。NS3是一种丝氨酸蛋白水解酶,也是病毒解旋酶,可以解螺旋RNA×RNA和RNA×DNA二倍体,对病毒复制是非常重要的酶。因此,以NS3为靶标寻找抗HCV化合物也是抗HCV药物研究重要方向之一(图1)。Lee等^[3]报道从中药桑白皮的乙醇提取物中分离鉴

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81573585)

[作者简介] 马颖,硕士研究生,Email:HY17664109072@163.com

[通信作者] 金永生,博士,副教授,研究方向:药物化学,Email:ysjin@smmu.edu.cn

定了一类 2-芳基苯并呋喃类化合物。其中 moracin P(1)和 moracin O(2)在这类化合物中显示出对 HCV 较强的抑制活性, IC_{50} 分别为 35.6 和 80.8 $\mu\text{mol/L}$; 对 NS3 的抑制活性 IC_{50} 分别为 42.9 和 27.0 $\mu\text{mol/L}$ 。

Zuo 等报道了从黑蕊虎耳草(*Saxifraga melanocentra* Franch)中分离得到了一类具有 HCV 的 NS3 丝氨酸蛋白水解酶抑制活性的多酚类化合物^[4]。其中化合物 1,2,3,4,6-五-O-没食子酰- β -D-葡萄糖苷(3)、1,4-二-O-没食子酰-3,6-(R)-六羟基二苯甲酰基- β -D-吡喃葡萄糖(石榴皮鞣质)、1,2,4,6-四-O-没食子酰- β -D-葡萄糖苷、1,2,4-三-O-没食子酰-3,6-六羟基二苯甲酰基葡萄糖(石榴叶鞣质)和 1,3,6-四-O-没食子酰- β -D-葡萄糖苷,对 NS3 丝氨酸蛋白水解酶抑制活性 IC_{50} 分别为 0.68、0.76、0.81、0.85 和 1.01 $\mu\text{mol/L}$ 。没食子酸、没食子酸甲酯、虎耳草素(4)、山奈酚、山奈酚-3-O- β -D-葡萄糖苷和 2'-O-没食子酰芦丁,对 NS3 丝氨酸蛋白水解酶抑制作用 IC_{50} 分别为 1.76、1.36、1.71、1.61、1.03 和 4.86 $\mu\text{mol/L}$ 。而槲皮素和芦丁对 NS3 的作用相对较弱, IC_{50} 为 33.11 和 77.05 $\mu\text{mol/L}$ 。从构效关系可以发现,较多的没食子酰结构有利于提高抑制 NS3 活性。

Zuo 等^[5]报道了从狭叶红景天 *Rhodiola kirilowii* (Regel) Maxim 中分离得到了 4 个 (-)-表儿茶素衍生物:红景天素(5)、3,3'-二没食子酰基原花青素(6)、(-)-表没食子儿茶素-3-O-没食子酸酯(7, EGCG)和 (-)-表儿茶素-3-O-没食子酸酯(8, ECG),它们均显示出较好的抗 HCV NS3 丝氨酸蛋白水解酶活性,其 IC_{50} 分别为 0.77、0.91、8.51 和 18.55 $\mu\text{mol/L}$ 。从这两个研究结果可以发现,没食子酚或者其他具有较多酚羟基结构的天然多酚类化合物具有较好的 NS3 丝氨酸蛋白水解酶抑制活性。

从中药桑寄生醇提物的乙酸乙酯部位分离出 10 种化合物,其中山奈酚-3,7-双鼠李糖苷(19.4 $\mu\text{mol/L}$, 9)和 (3S)-3-羟基-1,7-双(4-羟基-苯基)-6E-庚烯-5-酮(28.7 $\mu\text{mol/L}$, 10)显示出最强的抗 HCV NS3 蛋白酶抑制活性,其他分离得到的黄酮类化合物和二芳基庚类化合物也均具有抗 HCV NS3 蛋白酶抑制活性^[6]。

从葡萄根提取物中得到的一种白藜芦醇四聚体 vitisin B(11)显示出对 HCV 复制的抑制作用(IC_{50} =6 nmol/L),而且细胞毒性较低(EC_{50} >10 $\mu\text{mol/L}$)。与 NS5B 聚合酶抑制剂索磷布韦(sofosbuvir)联合使用时, vitisin B 显示出协同作用。对 vitisin B 耐药的 HCV 变异株研究表明, NS3 解旋酶为其潜在

靶标。vitisin B 可以和纯化的 NS3 解旋酶在体外直接结合,而显示出强效 HCV NS3 解旋酶抑制作用(IC_{50} = 3 nmol/L)。进一步的体内药理学实验研究表明,腹腔注射 vitisin B 后肝脏可以达到临床上可接受的浓度^[7]。

Wu 等^[8]报道了从楝科植物大叶桃花心木(*Swietenia macrophylla*)枝干中分离得到化合物 3-hydroxy caruilignan C (3-HCL-C, 12)在蛋白和 RNA 水平均显示出较强的抗 HCV 活性, EC_{50} = 10.5 $\mu\text{mol/L}$ 。3-HCL-C 与 IFN- α 、NS5B 聚合酶抑制剂 NM-107(2'-C-methylcytidine),或者 NS3/4A 蛋白水解酶抑制剂特拉匹韦联合使用,可以显著增强对 HCV 的 RNA 复制的抑制作用。

文献报道^[9]五环三萜中的齐墩果酸(13)和熊果酸(14)能显著抑制 HCV 复制, IC_{50} 分别为 2.9、10.6 $\mu\text{g/ml}$ 。而且这种作用部分是通过非竞争性抑制 NS5B 依赖性 RNA 聚合酶而产生。

从粘杆菌的次生代谢产物中得到的化合物 soraphen A(15),具有显著的抗 HCV 活性, EC_{50} 为 2.30 nmol/L。soraphen A 既不抑制 HCV RNA 翻译,也不抑制 HCV 入侵,而是抑制 HCV 复制,可能是通过抑制 HCV 复制位点的膜质网发挥作用^[10]。

Hu 等从美洲小白菊(*Parthenium hispidum* Raf)中分离鉴定了 9 个 C14-氧代 1 α -羟基-11(13)-伪愈创木烯 6 β , 12-内酯类化合物,显示出较好的抑制 HCV 复制的作用^[11]。其中化合物 16 在 2 $\mu\text{mol/L}$ 浓度对 HCV 的抑制率可达 90%。

2 抑制病毒入侵类天然产物

HCV 入侵正常肝细胞,是 HCV 完成感染正常肝细胞的最初阶段。如果可以阻止病毒对肝细胞的入侵,那么就可以将 HCV“拒之门外”,从而起到保护正常细胞的作用。由于大多数药物开发策略都针对病毒生命周期的复制阶段,因此对于研究 HCV 入侵抑制剂是抗 HCV 药物的研究重要方向之一(图 2),尤其是在接受肝移植的患者中。

Nakajima 等^[12]从海藻、苔藓等分离出的真菌菌株的代谢产物中,发现了 sulochrin(17)具有较好的抑制 HCV 活性。sulochrin 是一种 funicone 类衍生物,可以以剂量依赖关系降低 HCV 对细胞的感染率和 HCV 核心蛋白的表达,与空白对照相比,可以降低至其 1/3 ~ 1/4 水平。而且,在浓度达 50 $\mu\text{mol/L}$ 时,仍没有表现出明显的细胞毒性。进一步采用 HCVpp 进行实验,结果表明 sulochrin 可以抑制病毒入侵正常细胞。sulochrin 与干扰素或者特拉匹

韦联合使用,可以显著增强对抗 HCV 作用。构效关系研究表明,1,3-二羟基-5-甲基苯基结构是重要的药效基团。

从植物叶下珠(*Phyllanthus urinaria*)分离得到的一种单萜类内酯地芸普内酯(LOD, **18**)是一种新型 HCV 抑制剂。LOD 可以有效抑制有利病毒颗粒,抑制病毒黏附和阻止病毒入侵和融合,而对病毒复制或翻译影响以及 I 型 IFN 宿主抗病毒免疫反应影响很小。基于酶联免疫吸附测定 (ELISA) 的结合分析,证实了单萜类化合物能够有效阻断 HCV 颗粒黏附于宿主细胞表面的能力。此外,LOD 可

以抑制几种 HCV 基因型菌株的感染。LOD 可能成为抗 HCV 药物的潜在候选药物^[13]。

Qian 等^[14]研究发现从五味子中分离得到的五环三萜酸甘五酸(SZA)能有效抑制 HCV 入侵肝细胞,却不会干扰病毒在细胞表面的结合或内在化。但是,在 SZA 的作用下,细胞融合过程会受到损害,并且宿主膜的流动性增加。此外,还发现 SZA 可抑制 HCV 向邻近细胞的扩散,并且 SZA 与干扰素或特拉普韦的联合使用对抗 HCV 活性具有协同效应。除此之外,SZA 能够抑制体内 HCV 感染。SZA 靶标不同于常规的抗病毒药物。因此,SZA

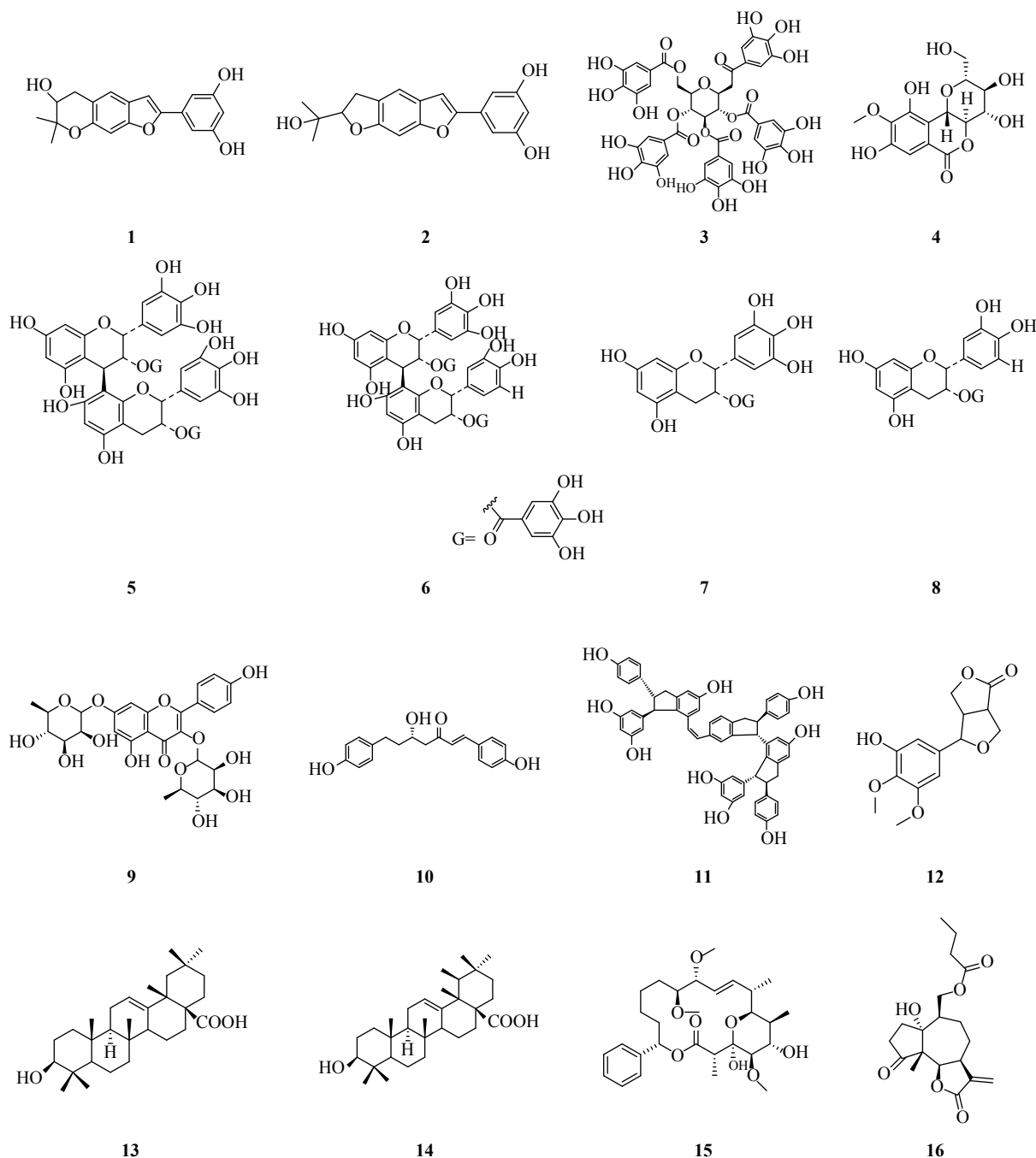


图 1 干扰 HCV 复制的天然产物化学结构

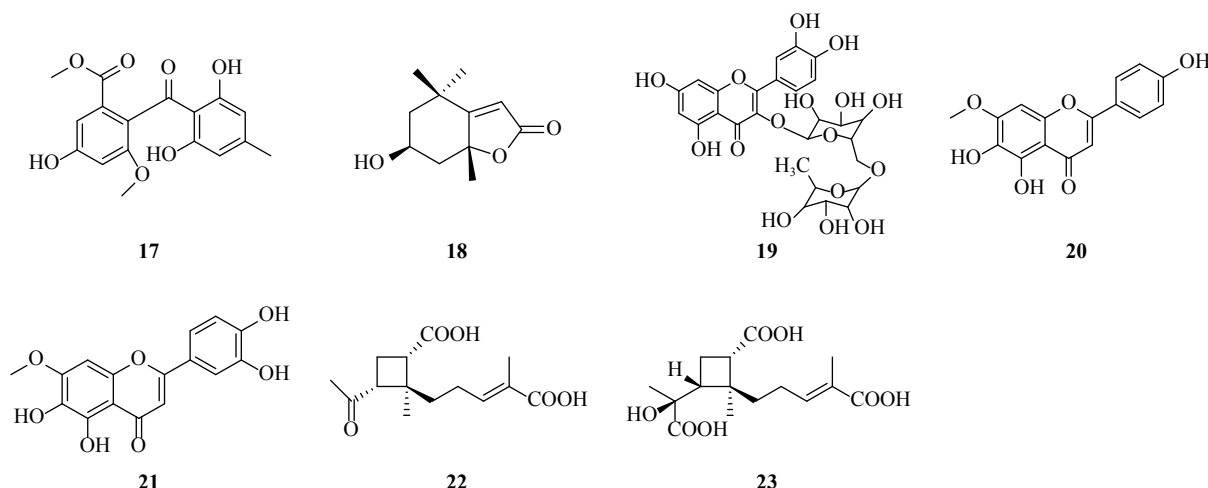


图2 抑制病毒入侵的天然产物化学结构

是一种用于 HCV 抑制剂的潜在治疗性化合物,尤其是对于在肝移植过程中需要预防 HCV 再感染的患者。

Bose 等^[15]以保肝作用闻名的水果为研究对象,从中筛选寻找 HCV 入侵抑制剂,发现蔷薇科李属植物欧洲李中分离得到的黄酮类化合物芦丁具有抗 HCV 作用。研究表明,芦丁(19)能够抑制 HCV-LP(丙型肝炎病毒样颗粒)与肝癌细胞的结合,并抑制细胞培养来源的 HCV(HCVcc)进入肝癌细胞。重要的是,芦丁对肝癌细胞没有毒性。此外,芦丁可以直接作用于病毒颗粒来抑制 HCV 生命周期的早期侵入阶段。因此,芦丁是一种用于治疗 HCV 感染的候选药物。

从南美植物 *Pterogyne nitens* 中分离得到了两种具有抗 HCV 作用的类黄酮化合物:对 HCV 复制周期有影响的珍珠梅素(sorbifolin, 20)和胡麻黄素(pedalitin, 21)。化合物 20 和 21 能够在非细胞毒性条件下抑制病毒进入高达 45.0% 和 78.7%。胡麻黄素通过对病毒颗粒的直接作用和干扰,阻止病毒进入宿主细胞。同样,珍珠梅素也有抗 HCV 作用^[16]。

从海绵真菌哈茨木霉菌(*Trichoderma harzianum*)中分离出两个新型倍半萜烯的类似物:哈兹烷酸 A(harzianoic acids A, 22)和 B(harzianoic acids B, 23)。两种化合物均显示出降低 HCV RNA 水平的抑制活性,且细胞毒性较低。哈兹烷酸 A 的 $EC_{50}=24.5 \mu\text{mol/L}$, $CC_{50}=75.3 \mu\text{mol/L}$;哈兹烷酸 B 的 $EC_{50}=20.4 \mu\text{mol/L}$, $CC_{50}=74.3 \mu\text{mol/L}$ 。作用机制表明,这些化合物可以阻断 HCV 生命周期的侵入,而病毒 E1/E2 和宿主细胞 CD81 是潜在的靶蛋白^[17]。

3 未明确作用阶段的抗 HCV 天然产物

近年来,除了报道了一些已经初步明确了作用阶段或机制的天然产物外,还报道了一些未明确阶段和机制的化合物(图3)。Li 等报道了从新疆紫草(*Arnebia euchroma*)分离得到的紫草素(24)显示出较好的抗 HCV 作用,其 $EC_{50}=0.025 \mu\text{g/ml}$, $CC_{50}=1.089 \mu\text{g/ml}$, 选择指数(SI)=43.56^[18]。

Adianti 通过活性导向分离法从甘草中提取出的甘草香豆素(25)、甘草宁(26)、甘草酚(27)、甘草素(28)均具有较好抗 HCV 活性, IC_{50} 分别为 8.8、7.2、4.6 和 16.4 mg/ml。但是,甘草的主要化学成分甘草酸以及甘草酸铵仅具有很弱的抗 HCV 活性。此外,甘草查耳酮 A(licochalcone A)和光甘草定(glabridin)也显示出较好抗 HCV 活性, IC_{50} 分别为 2.5 和 6.2 mg/ml。另一个查耳酮异甘草素也显示出抗 HCV 活性, IC_{50} 为 3.7 mg/ml^[19]。

由黏杆菌 *Labilithrix luteola*(DSM 27648 T)分离而来的两种新型次生代谢产物, labindole A [2-甲基-3-(2-硝基乙基)-3H-吡啶, 29] 和 labindole B [2-甲基-3-(2-硝基乙烯基)-3H-吡啶, 30], 以及已知的 5 种代谢物经生物活性检测发现: -氯-9H-咪唑(34)具有显著的抗 HCV 活性。9H-咪唑(33)和 labindoles A(31)和 B(32)都具有一定的 HCV 抑制作用,其中 4-羟甲基咪唑(35)活性较弱,并且均没有细胞毒性^[20]。

两种新型的乌苏烷型三萜皂苷 bodiniosides O(36)和 bodiniosides P(37)在体外均表现出一定的抗 HCV 活性,选择性指数分别为 30.63 和 9.08。在所测试的化合物中,化合物 36 表现出一定抗 HCV 活性, EC_{50} 值为 0.41 nmol/L, CC_{50} 值为 12.56 nmol/L, SI 值为 30.63。此外,化合物 37 也具

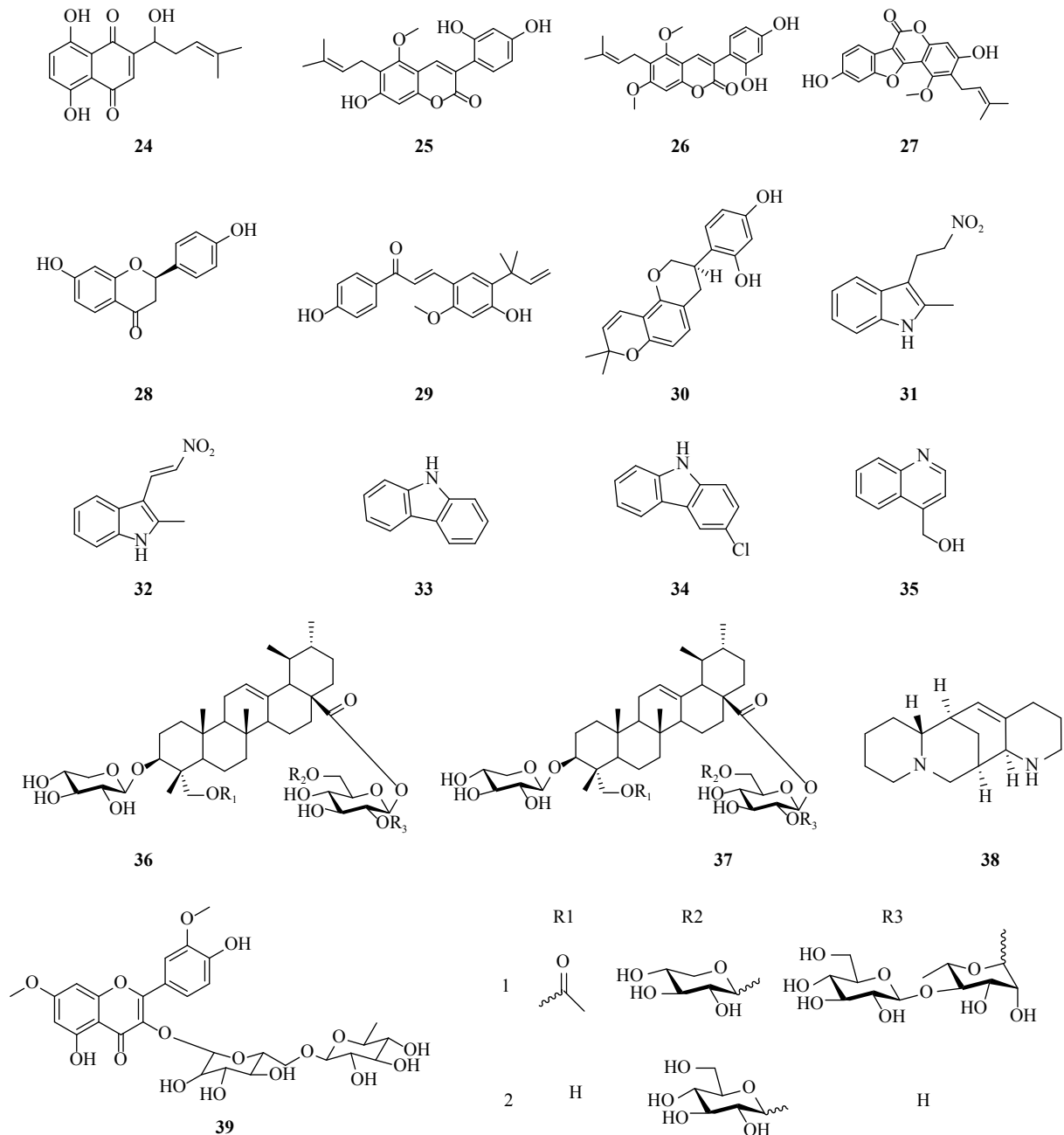


图3 具有抗 HCV 作用的天然产物化学结构

有较好的抗 HCV 活性, EC_{50} 值为 1.58 nmol/L, CC_{50} 值为 14.35 nmol/L, SI 值为 9.08^[21]。

从豆科槐属植物苦豆子(*Sophora alopecuroides*)中提取的 aloperine(38)是一种具有独特的内环结构的喹啉生物碱。研究发现其具有一定的抗 HCV 活性,最大有效浓度(EC_{50})为 4.32 μ mol/L,选择指数(SI)为 54.5^[22]。

从 *sarcocornia* 甲醇水提取物中分离出一种新的黄酮醇三糖苷,鼠李糖 3-O-2G-鼠李糖苷或鼠李糖苷 3-O-(2'',6''-O- α -二鼠李糖基)- β -葡萄糖苷(39)。鼠李糖苷三糖苷被证实具有显著的抗 HCV 活性, IC_{50} 值为 8.9 μ mol/L^[23]。

4 讨论

综上所述,近年来从天然产物中发现了大量的抗 HCV 活性结构,结构类型主要包括黄酮、萜类、木质素等。这些活性天然产物可以干扰 HCV 复制,抑制病毒入侵等,并且毒性较低。因此,从天然产物中寻找和发现的抗 HCV 活性结构对于抗 HCV 药物的研究具有重要意义。

【参考文献】

- [1] BANERJEE A, RAY R B, RAY R. Oncogenic potential of hepatitis C virus proteins[J]. *Viruses*, 2010, 2(9): 2108-2133.
- [2] BEAULIEU P L. Non-nucleoside inhibitors of the HCV NS5B

- polymerase: progress in the discovery and development of novel agents for the treatment of HCV infections[J]. *Curr Opin Investig Drugs*, 2007, 8(8): 614-634.
- [3] LEE H Y, YUM J H, RHO Y K, et al. Inhibition of HCV replication cell growth by 2-arylbenzofuran derivatives isolated from Mori Cortex Radicis[J]. *Planta Med*, 2007, 73(14): 1481-1485.
- [4] ZUO G Y, LI Z Q, CHEN L R, et al. In vitro anti-HCV activities of *Saxifraga melanocentra* and its related polyphenolic compounds[J]. *Antivir Chem Chemother*, 2005, 16(6): 393-398.
- [5] ZUO G Y, LI Z Q, CHEN L R, et al. Activity of compounds from Chinese herbal medicine *Rhodiola kirilowii* (Regel) Maxim against HCV NS₃ serine protease[J]. *Antiviral Res*, 2007, 76(1): 86-92.
- [6] YANG L Y, LIN J, ZHOU B, et al. Activity of compounds from *Taxillus sutchuenensis* as inhibitors of HCV NS₃ serine protease[J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31(4): 487-491.
- [7] LEE S, YOON K D, LEE M, et al. Identification of a resveratrol tetramer as a potent inhibitor of hepatitis C virus helicase[J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173(1): 191-211.
- [8] WU S F, LIN C K, CHUANG Y S, et al. Anti-hepatitis C virus activity of 3-hydroxy caruilignan C from *Swietenia macrophylla* stems[J]. *J Viral Hepat*, 2012, 19(5): 364-370.
- [9] KONG L B, LI S S, LIAO Q J, et al. Oleonic acid and ursolic acid: novel hepatitis C virus antivirals that inhibit NS5B activity[J]. *Antiviral Res*, 2013, 98(1): 44-53.
- [10] KOUTSOUDAKIS G, ROMERO-BREY I, BERGER C, et al. Soraphen A: a broad-spectrum antiviral natural product with potent anti-hepatitis C virus activity[J]. *J Hepatol*, 2015, 63(4): 813-821.
- [11] HU J F, PATEL R, LI B, et al. Anti-HCV bioactivity of pseudoguaianolides from *Parthenium hispidum*[J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(4): 604-607.
- [12] NAKAJIMA S, WATASHI K, KAMISUKI S, et al. Specific inhibition of hepatitis C virus entry into host hepatocytes by fungi-derived sulochrin and its derivatives[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 440(4): 515-520.
- [13] CHUNG C Y, LIU C H, BURNOUF T, et al. Activity-based and fraction-guided analysis of *Phyllanthus urinaria* identifies loliolide as a potent inhibitor of hepatitis C virus entry[J]. *Antiviral Res*, 2016, 130: 58-68.
- [14] QIAN X J, ZHANG X L, ZHAO P, et al. A *Schisandra*-derived compound schizandronic acid inhibits entry of *Pan*-HCV genotypes into human hepatocytes[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 850-858.
- [15] BOSE M, KAMRA M, MULLICK R, et al. Identification of a flavonoid isolated from plum (*Prunus domestica*) as a potent inhibitor of Hepatitis C virus entry[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 39-65.
- [16] SHIMIZU J F, LIMA C S, PEREIRA C M, et al. Flavonoids from *Pterogyne nitens* inhibit hepatitis C virus entry[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 359-362.
- [17] LI B, LI L, PENG Z G, et al. Harzianoic acids A and B, new natural scaffolds with inhibitory effects against hepatitis C virus[J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27(3): 560-567.
- [18] LI H M, TANG Y L, ZHANG Z H, et al. Compounds from *Arnebia euchroma* and their related anti-HCV and antibacterial activities[J]. *Planta Med*, 2012, 78(1): 39-45.
- [19] ADIANTI M, AOKI C, KOMOTO M, et al. Anti-hepatitis C virus compounds obtained from *Glycyrrhiza uralensis* and other *Glycyrrhiza* species[J]. *Microbiol Immunol*, 2014, 58(3): 180-187.
- [20] MULWA L S, JANSEN R, PRADITYA D F, et al. Six heterocyclic metabolites from the myxobacterium *Labilithrix luteola*[J]. *Molecules*, 2018, 23(3): E542.
- [21] XIANG L, ZHANG L, CHEN X, et al. Ursane-type triterpenoid saponins from *Elsholtzia bodinieri*[J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33(9): 1349-1356.
- [22] ZHANG X, LV X Q, TANG S, et al. Discovery and evolution of aloperine derivatives as a new family of HCV inhibitors with novel mechanism[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 143: 1053-1065.
- [23] HAWAS U W, ABOU EL-KASSEM L T, SHAHER F, et al. In vitro inhibition of Hepatitis C virus protease and antioxidant by flavonoid glycosides from the Saudi coastal plant *Sarcocornia fruticosa*[J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33(23): 3364-3371.

[收稿日期] 2020-12-02 [修回日期] 2021-02-27

[本文编辑] 陈盛新