

- MTF2, and esPRC2p48 in ES cells to modulate ES cell pluripotency and somatic cell reprogramming[J]. *Stem Cells*, 2011, 29(2): 229 – 240
- 10 Morey L, Helin K. Polycomb group protein – mediated repression of transcription[J]. *Trends Biochem Sci*, 2010, 35(6): 323 – 332
- 11 Geng YJ, Xie SL, Li Q, *et al.* Large intervening non – coding RNA HOTAIR is associated with hepatocellular carcinoma progression[J]. *J Int Med Res*, 2011, 39(6): 2119 – 2128
- 12 Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, *et al.* HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro – oncogenic activity in pancreatic cancer [J]. *Oncogene*, 2013, 32(13): 1616 – 1625
- 13 Yap KL, Li S, Munoz – Cabello AM, *et al.* Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a [J]. *Mol Cell*, 2010, 38(5): 662 – 674
- 14 Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, *et al.* Long non – coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15 (INK4B) tumor suppressor gene [J]. *Oncogene*, 2011, 30(16): 1956 – 1962
- 15 Lai MC, Yang Z, Zhou L, *et al.* Long non – coding RNA MALAT – 1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation [J]. *Med Oncol*, 2012, 29(3): 1810 – 1816
- 16 Tano K, Mizuno R, Okada T, *et al.* MALAT – 1 enhances cell motility of lung adenocarcinoma cells by influencing the expression of motility – related genes [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(22): 4575 – 4580
- 17 Tripathi V, Shen Z, Chakraborty A, *et al.* Long noncoding RNA MALAT1 controls cell cycle progression by regulating the expression of oncogenic transcription factor B – MYB [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(3): e1003368
- 18 Gabory A, Jammes H, Dandolo L. The H19 locus: role of an imprinted non – coding RNA in growth and development [J]. *Bioessays*, 2010, 32(6): 473 – 480
- 19 Tsang WP, Ng EK, Ng SS, *et al.* Oncofetal H19 – derived miR – 675 regulates tumor suppressor RB in human colorectal cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(3): 350 – 358
- 20 Zhang L, Yang F, Yuan JH, *et al.* Epigenetic activation of the MiR – 200 family contributes to H19 – mediated metastasis suppression in hepatocellular carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(3): 577 – 586
- 21 Zhang X, Gejman R, Mahta A, *et al.* Maternally expressed gene 3, an imprinted noncoding RNA gene, is associated with meningioma pathogenesis and progression [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(6): 2350 – 2358
- 22 Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor [J]. *J Mol Endocrinol*, 2012, 48(3): R45 – 53
- 23 Yildirim E, Kirby JE, Brown DE, *et al.* Xist RNA is a potent suppressor of hematologic cancer in mice [J]. *Cell*, 2013, 152(4): 727 – 742

(收稿日期:2014 – 09 – 18)

(修回日期:2014 – 10 – 13)

石蒜碱及其衍生物抗病毒研究进展

沈珑瑛 杨亚军 潘显道

摘 要 石蒜碱是传统药用植物石蒜的生物碱成分。抗病毒研究表明,石蒜碱及其衍生物对 SARS 冠状病毒、手足口病毒、黄热病病毒、脊髓灰质炎病毒、反转录病毒及疱疹病毒等均有抑制活性。本文概述石蒜碱及衍生物结构、抗病毒活性、构效关系及作用机制。

关键词 石蒜碱 抗病毒活性 衍生物 构效关系 作用机制

中图分类号 R9 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.04.045

石蒜碱(lycorine)最先是日本人森岛库太从传统中药石蒜的鳞中分离得到的一种生物碱(图1)。生物活性研究表明,石蒜碱及其衍生物具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤、抗寄生虫、抑制乙酰胆碱酯酶及保护心血管等多种作用^[1~3]。近年来,国内外对石蒜碱及衍

生物的合成、抗病毒活性和构效关系进行了较深入的研究,合成了很多石蒜碱衍生物。本文对石蒜碱及其衍生物的抗病毒活性、构效关系及作用机制的研究概况进行综述。

一、石蒜碱及其衍生物抗病毒作用

1. 抗 SARS 冠状病毒:Li 等^[4]研究了石蒜碱对 SARS 冠状病毒(severe acute respiratory syndrome – associated coronavirus, SARS – CoV)有很强的抑制活性(表1),选择性指数(SI)高达900以上。

基金项目:国家重点实验室开放课题(20145001)

作者单位:100050 中国医学科学院/北京协和医学院药物研究所

通讯作者:潘显道,电子信箱:xdp@imm.ac.cn

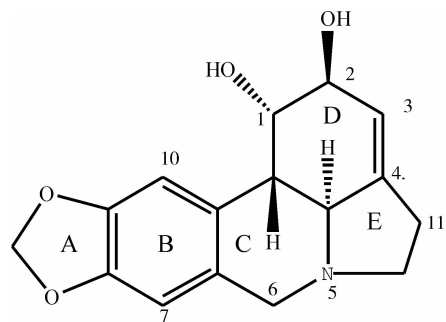


图 1 石蒜碱的化学结构及环原子编号

表 1 从石蒜彼岸花中分离成分抗 SARS - CoV (BJ - 001) 效果

样品	EC ₅₀ (μg/ml)	CC ₅₀ (μg/ml)	SI
从石蒜彼岸花中分离总生物碱	1.0 ± 0.1	93.9 ± 7.4	93.9
石蒜碱 (购买)	48.8 ± 3.6	43210.0 ± 2101.0	885.5
从石蒜彼岸花中分离石蒜碱	15.7 ± 1.2	14980.0 ± 912.0	954.1

2. 抗登革热病毒 (DENV) 活性: Wang 等^[5] 合成了 40 多个不同系列石蒜碱衍生物,并测试了其抗 DENV 活性 (表 2)。从表 2 中看出,合成的石蒜碱衍生物中,化合物 2、4、5 的抗 DENV 活性均优于石蒜碱,化合物 2 (1 - O - 乙酰化石蒜碱) 活性最强,EC₅₀ = 1.4 μmol/L, SI > 750。该研究显示,2 - 羟基酯化衍生物 (如化合物 3) 抗 DENV 活性均有不同程度降低,另外石蒜碱亚甲二氧环 (A 环) 的开环及关环亚甲基取代衍生物均无抗病毒活性。

表 2 石蒜碱衍生物结构及体外抗 DENV 活性

化合物	CC ₅₀ (μmol/L)	EC ₅₀ (μmol/L)	SI	pEC ₅₀
石蒜碱	25.1	0.8	31.4	6.1
1 - O - 乙酰化石蒜碱	>300.0	0.4	>750.0	6.4
1,2 - 二乙酰化石蒜碱	63.9	25.4	2.5	4.6
1 - O - 乙酰基 - 2 - 氧化石蒜碱	>300.0	1.8	>166.7	5.7
2 - 氧化石蒜碱	56.6	0.5	113.2	6.3

石蒜碱也是黄热病病毒 (flavivirus) 体外有效抑制劑^[6]。在体外 1.2 μmol/L 浓度下,石蒜碱能使西尼罗河病毒 (WNV)、DENV 和黄热病毒 (YFV) 的病毒效价下降 10² ~ 10⁴ 倍。石蒜碱不能抑制甲型病毒 (如 western equine encephalitis virus) 或杆状病毒 (如 vesicular stomatitis virus), 显示它是一个选择性的抗病毒剂,其抗病毒机制主要通过抑制病毒 RNA 复制。该文献测

定了石蒜碱及衍生物的抗 WNV 活性 (表 3)。从表 3 看出,维持石蒜碱五环结构的衍生物均保持抗病毒活性,其中化合物 4 活性最强;E 环开环或 6 位亚甲基氧化为羰基均使抗病毒活性降低或丧失。Gabrielsen 等^[7] 研究发现,石蒜碱对日本脑炎病毒、黄热病病毒及登革热病毒等均有体外抑制活性,但选择性指数较低 (≤ 10)。

表 3 石蒜碱衍生物结构及其抗 WNV 活性

化合物	CC ₅₀ (μmol/L)	EC ₅₀ (μmol/L)	SI
石蒜碱	24.0	0.2	104.3
1 - O - 乙酰化石蒜碱	66.0	0.9	76.7
1,2 - 二乙酰化石蒜碱	110.0	1.5	73.8
1 - O - 乙酰基 - 2 - 氧化石蒜碱	>300.0	0.2	>1578.9
1,2 - 二乙酰化 - 6 - 氧化石蒜碱	>300.0	300.0	>1.0

3. 抗反转录病毒活性: Szlavik 等^[8] 研究了石蒜碱、高石蒜碱 (10) 等化合物对反转录病毒 HIV 的抑制活性 (表 4)。研究显示,石蒜碱具有较强抗反转录病毒活性,但两种生物碱的治疗指数 (TI) 均较低。

表 4 石蒜碱和高石蒜碱抗 HIV 反转录病毒活性

化合物	TC ₅₀ (μg/ml)	ID ₅₀ (μg/ml)	TI ₅₀
石蒜碱	0.8	0.4	1.9
高石蒜碱	12.8	7.3	1.8

4. 抗疱疹病毒活性: Nozaki 等^[9] 研究了石蒜碱、伪石蒜碱 (11) 的抗带状疱疹病毒 (HSV - 1) 活性,其构效关系研究显示六氢吡啶环伴随 1,2 - 位羟基取代是抗病毒活性的关键结构 (表 5)。石蒜碱和伪石蒜碱均具有较好的抗 HSV - 1 活性,其机制可能与抑制 DNA 聚合酶活性、干扰病毒 DNA 的合成有关。

表 5 石蒜碱和伪石蒜碱抗 HSV - 1 活性

化合物	最小毒性剂量 (μg/ml)	有效剂量 (μg/ml)	抗病毒 指数
石蒜碱	25.0	2.0	12.5
伪石蒜碱	12.5	2.0	6.3

5. 抗脊髓灰质炎病毒 (PV) 活性^[10]: 对石蒜碱进行病毒效价减少的剂量依赖与细胞毒实验中,在 2.5 μmol/L 浓度下,使 PV 病毒效价下降一个对数值,而细胞毒性下降不明显 (图 2)。早期文献研究显示,石蒜碱可能通过抑制 TNF - α 产生而起到抑制脊髓

灰质炎病毒复制作用^[11]。

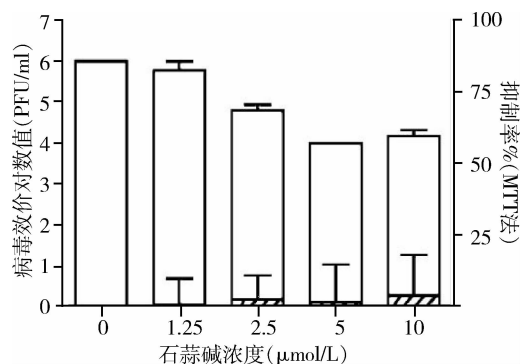


图 2 石蒜碱抗脊髓灰质炎病毒活性及细胞毒性

6. 抗手足口病毒 EV71 活性: Liu 等^[12]研究表明,石蒜碱具有很强的体外、体内抗手足口病毒 EV71 的活性,其体外 IC_{50} 为 $0.48 \mu\text{g/ml}$, CC_{50} 为 $48.5 \mu\text{g/ml}$, 选择性指数 >100 ; 石蒜碱对 EV71 感染致死剂量小鼠生存率为 45%, 而对照组利巴韦林生存率仅为 12%。研究显示石蒜碱对病毒 C 终端蛋白质的抑制显著大于 N 终端蛋白质抑制, 对 VP2 抑制率为 12.7%, 对 3D 聚合酶抑制率为 66.5%, 上述结果提示石蒜碱干扰病毒聚蛋白在迁移过程中伸长。

7. 抗禽流感病毒 H5N1 活性: He 等^[13]研究了石蒜碱抗禽流感病毒 H5N1 活性。对 H5N1 病毒株 178, 其 EC_{50} ($0.46 \mu\text{mol/L}$, CC_{50} 为 $20.9 \mu\text{mol/L}$, 选择性指数 >45 , 显示石蒜碱具有较强的抗 H5N1 活性。石蒜碱并不干扰外膜蛋白质的功能或病毒进入过程和病毒核糖核蛋白(RNP)活性。细胞间核蛋白(NP)定位研究显示石蒜碱抑制核糖核蛋白复合体在细胞核早期阶段单循环和多循环复制。

8. 抗丙型肝炎病毒(HCV)活性: Chen 等^[14]评价了石蒜碱的抗 HCV 活性。在 $1.0 \mu\text{g/ml}$ 浓度下, 石蒜碱对 Hsc70 在宿主细胞中的表达减少了 21%, 与此同时, HCV 复制减少至 20%。因此石蒜碱可能通过抑制 Hsc70 在宿主细胞的表达从而抑制 HCV 的复制。

二、石蒜碱抗病毒构效关系及机制

1. 构效关系(SAR): 针对上述石蒜碱及其衍生物的抗病毒活性研究, 初步的抗病毒构效关系总结如下(图 3): ①六氢吡啶环伴随 1, 2 - 位羟基是抗病毒的关键结构; ②亚甲二氧环(A 环)的开环将减少或丧失抗 DENV 活性; ③ 2 - 羟基酯化将导致抗病毒活性减少; ④ 2 - 羟基氧化成羰基稍增加抗 WNV 活性, 并显著减少细胞毒活性; ⑤ E 环开环或 6 - 位亚甲基氧

化成羰基均丧失抗病毒活性; ⑥ D 环双键还原将减少抗病毒活性。综上所述, 石蒜碱抗病毒活性的结构改造主要考虑在苯环上取代、1 - 位羟基酯化、2 - 位羟基酯化和氧化、11 - 位取代等方面进行。

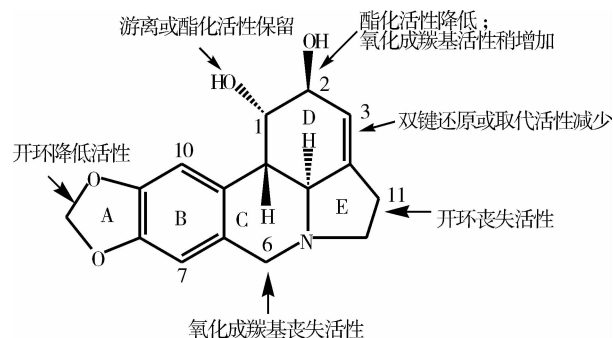


图 3 石蒜碱抗病毒构效关系图

2. 抗病毒机制: 石蒜碱的抗病毒机制有以下几点: ①石蒜碱并不影响核糖核蛋白(RNP)复合物的活性, 然而它抑制 RNP 从核到胞质的迁移; ②石蒜碱阻止病毒聚蛋白在迁移过程中的延伸; ③石蒜碱是 TNF - α 生成抑制剂; ④石蒜碱抑制病毒 RNA 的复制, 阻止病毒蛋白质的合成。

三、展 望

天然产物及其衍生物是新药先导物的主要来源, 1983 ~ 1994 年, 在已批准的药物中, 42% 的药物源于天然产物。石蒜碱是我国传统中药石蒜的主要生物碱成分, 我国具有丰富的石蒜科植物资源, 加之病毒类传染病正肆虐全球, 开发高效低毒抗病毒药是当务之急。石蒜碱是一种异喹啉类生物碱, 由于其具有较广谱的抗病毒活性, 以石蒜碱作为抗病毒药物先导物, 设计合成新的石蒜碱衍生物, 并进行抗病毒活性筛选, 研制出具有自主知识产权抗病毒新药, 不仅是重大疾病治疗的需要, 也有利于我国中草药资源产业化开发。

参考文献

- Cao ZF, Yang P, Zhou QS. Multiple biological functions and pharmacological effects of lycorine [J]. Science China: Chemistry, 2013, 56 (10): 1382 - 1391
- 秦昆明, 李笑, 徐昭, 等. 石蒜碱及其衍生物的药理作用研究概况 [J]. 北京联合大学学报: 自然科学版, 2009, 23 (1): 6 - 10
- 王欢, 王跃虎, 陈丽娟, 等. 石蒜属植物生物碱成分研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24 (5): 691 - 697
- Li SY, Chen C, Zhang HQ, et al. Identification of natural compounds with antiviral activities against SARS - associated coronavirus [J]. Antiviral Res, 2005, 67 (1): 18 - 23
- Wang P, Li LF, Wang QY, et al. Anti - dengue - virus activity and structure - activity relationship studies of lycorine derivatives [J].

Chem Med Chem, 2014, 9 (7) : 1522 – 1533

- 6 Zou G, Basagoiti FP, Zhang B, *et al.* A single – amino acid substitution in West Nile virus 2K peptide between NS4A and NS4B confers resistance to lycorine, a flavivirus inhibitor [J]. *Virology*, 2009, 384 (1) : 242 – 252
- 7 Gabrielsen B, Monath TP, Huggins JW, *et al.* Antiviral (RNA) activity of selected amaryllidaceae isoquinoline constituents and synthesis of related substances [J]. *Journal of Natural Products*, 1992, 55 (11) : 1569 – 1581
- 8 Szlavik L, Gyuris A, Minarovits J, *et al.* Alkaloids from *Leucojum vernum* and antiretroviral activity of amaryllidaceae alkaloids [J]. *Planta Med*, 2004, 70 (9) : 871 – 873
- 9 Nozaki JR, Kim T, Imakura Y, *et al.* Effect of alkaloids isolated from amaryllidaceae on herpes simplex virus [J]. *Res Virol*, 1989, 140 (2) : 115 – 128
- 10 Hwang YC, Chu JH, Yang PL, *et al.* Rapid identification of inhibitors that interfere with poliovirus replication using a cell – based assay

[J]. *Antiviral Res*, 2008, 77 (3) : 232 – 236

- 11 Vrijsen R, Vanden Berghe D, Vlierinck A, *et al.* A lycorine: a eukaryotic termination inhibitor [J]. *J Biol Chem*, 1986, 261 (2) : 505 – 507
- 12 Liu JG, Yang YJ, Xu YF, *et al.* Lycorine reduced mortality of human enterovirus 71 – infected mice by inhibiting virus replication [J]. *Virology Journal*, 2011, 8 (1) : 483 – 491
- 13 He J, Qi WB, Wang L, *et al.* Amaryllidaceae alkaloids inhibit nuclear – to cytoplasmic export of ribonucleoprotein (RNP) complex of highly pathogenic avian influenza virus H5N1 [J]. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 2013, 7 (6) : 922 – 931
- 14 Chen DZ, Jiang JD, Zhang KQ, *et al.* Evaluation of anti – HCV activity and SAR study of (+) – lycoricidine through targeting of host heat – stress cognate 70 (Hsc70) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23 (9) : 2679 – 2682

(收稿日期:2014 – 09 – 30)

(修回日期:2014 – 10 – 15)

人类白细胞抗原基因多态性与重症肌无力相关性研究

王晓蓓 韩登峰 张小宁

摘 要 重症肌无力(MG)是一种神经 – 肌肉接头间传递功能障碍的自身免疫性疾病,其发病的免疫机制仍不清楚,可能是遗传因素及环境因素共同作用引起的。研究发现人类白细胞抗原(HLA)是导致MG的重要遗传因素。本文就HLA – I、II、III类基因对MG可能的易感机制做综述。

关键词 重症肌无力 人类白细胞抗原 乙酰胆碱受体抗体 肌肉特异性酪氨酸激酶抗体

中图分类号 R74 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.04.046

重症肌无力(myasthenia gravis, MG)是以受累的骨骼肌疲劳为主要临床表现、抗体介导、依赖于细胞及补体参与的获得性自身免疫性疾病。其确切机制尚未完全阐明,可能是一种多种基因调控、多种机制参与的复杂性疾病。其病因在非抗原特异性机制方面与遗传因素有关,尤其是与人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)相关^[1,2]。1972年Piskanen首次发现HLA与MG密切相关后, MG在HLA遗传基因方面的研究越来越多。HLA基因复合体位于6号染色体短臂(6p21.3 ~ 21.33)上,大约4000kb,它由一组紧密连锁的基因构成,从中心粒起至端粒依次为II类基因, III类基因和I类基因。II类

基因称为HLA – D区,约1100kb,分为DQ、DR、DP 3个子区,各子区都含有数个编码A链和B链的基因位点。补体蛋白基因(C4A、C4B、Bf、C2)、热休克蛋白基因(HSP70)和肿瘤坏死因子基因(TNF)插入I类基因和II类基因之间,它们统称为III类基因,跨度约1Mb。I类基因最靠近端粒,跨度约2Mb,从内向外依次为HLA – B、HLA – C和HLA – A。本文就对HLA – I、II、III类基因与MG关系进行综述。

一、HLA – I类基因与MG

HLA – I类基因有多达31个相关的基因位点,经典的HLA – I类基因是HLA – A、HLA – B和HLA – C,存在于所有的有核细胞上,在移植排斥反应中起重要作用。MG可因患者临床类型、发病年龄、性别构成、胸腺组织病理学等特点的不同而具有不同的遗传易感性。多个国家不同人种的MG患者中均发现HLA – B * 08在早发型(EOMG, <40岁)的MG患

基金项目:新疆维吾尔自治区科技计划项目;新疆维吾尔自治区
高技术研究发展项目(201417101)

作者单位:830000 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院神经内科

通讯作者:张小宁,电子信箱:zxn – 1960@163.com