

抗流感病毒药物研究进展

张 强, 赵庆杰, 熊瑞生, 李剑峰, 沈敬山*

(中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要: 流感病毒是人类健康的一大威胁。应对流感病毒的主要方式是疫苗和药物治疗。对可能大规模爆发的流感疫情来讲, 药物治疗是最好的控制流感病毒传播的手段。目前, 抗流感病毒药物包括已在俄罗斯上市的盐酸阿比朵尔和美国 FDA 批准的 4 个抗流感病毒药物, 后者根据作用机制的不同分为 M2 离子通道蛋白抑制剂和神经氨酸酶 (NA) 抑制剂。其中, NA 抑制剂根据结构又可分为唾液酸类似物、苯甲酸衍生物、环己烯衍生物、环戊烷衍生物、吡咯烷衍生物及天然提取物 6 大类。本文简要介绍了上述各类已上市和临床在研药物的最新研究进展。

关键词: 抗流感药物; M2 离子通道蛋白抑制剂; 盐酸阿比朵尔; 神经氨酸酶抑制剂

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 03-0289-11

Research progress of anti-influenza virus agents

ZHANG Qiang, ZHAO Qing-jie, XIONG Rui-sheng, LI Jian-feng, SHEN Jing-shan*

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: Influenza is a major threat to millions of people worldwide. Vaccines and antiviral agents are two main options available to reduce the impact of the influenza virus, while anti-influenza agents are the most effective means to prevent the transmission of the highly contagious virus and to treat the epidemics of disease. At present, four anti-influenza agents have been approved by the FDA for the treatment of influenza, including two M2 protein ion channel inhibitors-amantadine and rimantadine and two neuraminidase inhibitors-zanamivir and oseltamivir. Arbidol hydrochloride, launched in Russia, is a potent inhibitor of influenza virus, too. Neuraminidase inhibitors could be classified generally by structure into six different kinds: sialic acid derivatives, benzoic acid derivatives, cyclohexene derivatives, cyclopentane derivatives, pyrrolidine derivatives and natural products. In this paper, recent progress in the research of the action mechanisms and structure-activity relationships of these anti-influenza virus agents were reviewed.

Key words: anti-influenza virus agent; M2 protein ion channel inhibitor; arbidol hydrochloride; neuraminidase inhibitor

流行性感冒简称流感, 是由流感病毒引起的呼吸道疾病, 具有流行面广、传染性强、发病率高等特点, 在儿童、老人和高危人群中的死亡率较高。流感病毒属于正黏病毒科^[1], 呈球状或丝状, 是一种负螺旋的单链片段 RNA 病毒。根据其病毒核蛋白和基质

蛋白抗原决定簇的不同, 可分为 A、B、C 3 种血清学上明显的亚型。流感病毒颗粒的结构分为核心和包膜两部分。A、B 型流感病毒包膜上均镶嵌 3 种由病毒基因编码的糖蛋白突触, 分别为血凝素 (hemagglutinin, HA)、神经氨酸酶 (neuraminidase, NA) 和 M2 离子通道蛋白 (M2 protein ion channel)^[2]。神经氨酸酶的功能信息和结构信息对发现强效 NA 抑制剂起重要作用。NA 由 4 个相同的亚单元组成, 固定于病毒的脂质膜上, 协助病毒粒子进入上呼吸道, 并从被感染细胞中释放病毒子代^[3](图 1^[4])。其具体作用表现

收稿日期: 2009-09-29.

基金项目: 上海市科委国际科技合作基金资助项目 (09540703900);
国家科技部支撑计划资助项目 (2006BAI01B02).

*通讯作者 Tel: 86-21-50806600-3417, Fax: 86-21-50805891,
E-mail: jsshcn@mail.shnc.ac.cn

为: 流感病毒 NA 能催化末端神经氨酸与相邻糖基间 α -酮苷键裂解, 通过氧鎓离子中间体, 使受体破坏, 病毒体得以游离; NA 不仅使病毒释离宿主细胞, 而且通过破坏新释出病毒表面的 HA 受体阻止了病毒体的互相聚集。应对流感病毒的主要方式是疫苗和药物治疗。疫苗预防的有效性是建立在疫苗的病毒株与正在流行的流感病毒株相似的基础上的^[5], 而通过现有手段无法预测将要流行的流感病毒株, 因此疫苗的作用就非常有限。对可能大规模爆发的流感疫情来讲, 药物治疗是最好的控制流感病毒传播的手段^[6]。

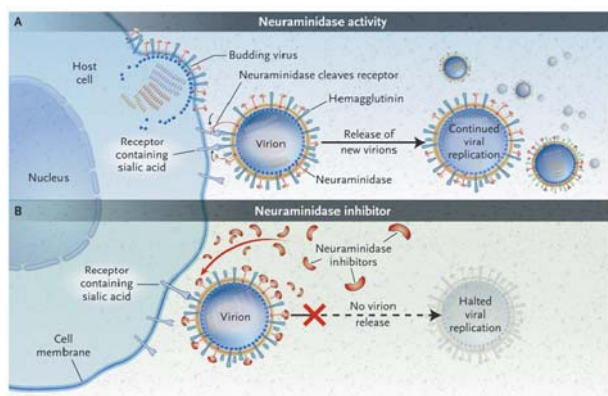


图 1 流感病毒神经氨酸酶催化机制^[4]

目前, 只有 4 个抗流感病毒药物通过美国 FDA 批准, 根据作用机制的不同分为 M2 离子通道蛋白抑制剂^[7]和 NA 抑制剂^[8] (图 2)。长期以来, M2 离子通道蛋白抑制剂是唯一的一类抗流感病毒药物, 包括金刚烷胺 (1) 和金刚乙胺 (2)^[9]。金刚烷胺和金刚乙胺可以通过阻断 M2 离子通道蛋白来阻止病毒脱壳, 使病毒 RNA 不能释放到细胞质中, 病毒的早期复制被中断, 从而起到抗流感病毒的作用。由于 M2 蛋白产生的耐药株具有致病性和传染性^[10, 11], 另外只有

A 型流感病毒才有 M2 离子通道蛋白, 因而 M2 离子通道蛋白抑制剂的临床使用并不广泛。1999 年, NA 抑制剂扎那米韦 (3)^[12]被 FDA 批准上市, 用于治疗 and 预防 A 型和 B 型流感病毒。研究发现扎那米韦能有效抑制流感病毒 NA, 其 IC_{50} 为 $0.1 \sim 5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由于扎那米韦的强极性, 口服生物利用度低 ($2\% \sim 3\%$), 因此制成喷雾剂, 通过鼻腔给药^[13]。研究证实^[14], 扎那米韦对 H5N1 禽流感病毒也有明显作用。这一研究成果促进了人们对 N-乙酰神经氨酸类化合物的广泛研究^[15, 16]。奥司他韦 (oseltamivir, 4)^[17]是根据作用机制设计合成的新型碳环流感 NA 抑制剂, 其 IC_{50} 为 $0.5 \sim 12 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 据认为是目前所发现的特异性最高的药物^[18]。对奥司他韦抗病毒的体内外试验和临床试验结果显示, 该药物能有效抑制各种流感病毒株的复制和传播过程, 具有耐受性好、毒性低等优点^[19]。另一个碳环 NA 抑制剂帕拉米韦 (peramivir, 5)^[20]也已进入 III 期临床试验。另外, 1993 年在俄罗斯上市的盐酸阿比朵尔 (arbidol hydrochloride, 6) (图 2) 具有抗流感病毒的作用。它可能通过抑制 A、B 型病毒复制的早期阶段, 阻止流感病毒外壳与宿主细胞细胞膜的接触、黏附和融合^[21], 抑制病毒与细胞浆膜的融合及病毒与内吞囊泡之间的膜融合达到抗病毒作用^[22]。下面分别对 NA 抑制剂、盐酸阿比朵尔和 M2 离子通道蛋白抑制剂的最新研究进展予以详细介绍。

1 神经氨酸酶抑制剂

神经氨酸酶是一个非常具有吸引力的靶标。由于构成 NA 活性位点的氨基酸序列在所有 A、B 型流感病毒中高度保守^[23], 不因病毒变异株的出现而改变结构或功能, 加之流感病毒 NA 晶体结构^[24]的确定, 使人们在微观上对分子与 NA 的相互作用有了详尽了解, 为抗流感病毒药物的研究提供了有利基础。因此,

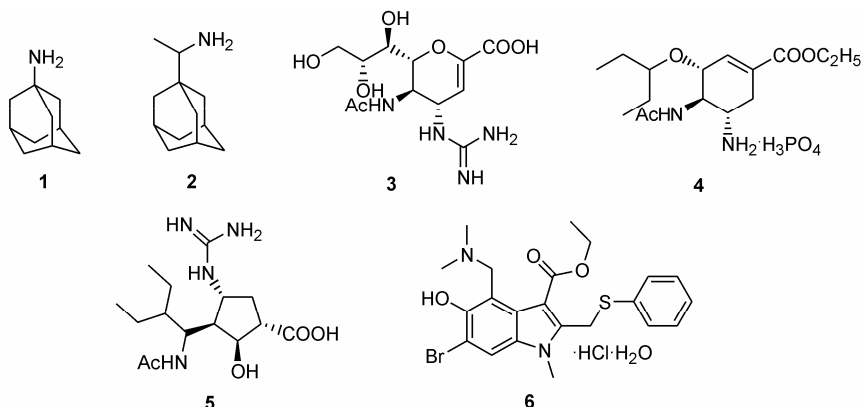


图 2 已上市和部分在研的抗流感病毒药物

NA 作为流感病毒的重要靶点被广泛研究^[25]。目前在研的神经氨酸酶抑制剂根据结构可分为唾液酸类似物、苯甲酸衍生物、环己烯衍生物、环戊烷衍生物、吡咯烷衍生物及天然提取物 6 大类。

1.1 唾液酸类似物

1995 年, Varghese 等^[24]报道了扎那米韦与流感病毒 NA (N9 亚型) 复合物的三维结构。Stoll 等^[26]在对 *N*-乙酰神经氨酸及其衍生物与 NA 复合物的晶体结构的研究中结合早期的晶体学研究和已有的构效关系研究, 将 NA 的活性位点分成 S1-S5 5 个活性作用区域 (图 3)。

通过对上述文献的研究可以看出, *N*-乙酰神经氨酸类 NA 抑制剂环上 C-2 位、C-4 位、C-5 位和 C-6 位对 NA 的结合至关重要。下面结合最新的研究进展对各个区域分别介绍。

1.1.1 C-2 位取代基 (图 4) C-2 位的羧基可与 NA 的 S1 区域形成盐桥, 是活性的必需基团。但羧基的存在会增加分子的极性, 降低药物的生物利用度。扎那米韦就是第一个上市的 NA 抑制剂, 由于化合物极性比较大, 因此需要吸入式给药。Liu 等^[27]通过合成扎那米韦的长链烷氧烷基酯 **7** 的形式, 降低了整个化合物的极性, 一定程度上提高了化合物的生物利用度。

1.1.2 C-4 位取代基 (图 4) 1993 年, von Itzstein 等^[12]合成了 C-4 位为胍基 (**3**) 取代的化合物, 4-胍基取代后, 形成了一个多原子探针, 可与 Asp151、Glu119、Glu227 和 Trp178 产生强烈的分子间作用, 使得该类化合物对流感病毒的抑制活性大大增强, 且不易产生耐药性^[28]。1993 年, von Itzstein 等^[29]将扎那米韦 C-4 位胍基替换成 N 上连接不同取代基的衍生物 **8**, 活性比扎那米韦低, 大部分取代的氨基对与 NA 活性位点的结合没有大的影响; 但是当 4 位原子数超过 3 个时, 抑制活性下降, 说明 4 位不能引入大

体积基团。1998 年, Smith 等^[30]设计合成了一系列 6-氨基羰基取代的化合物 **9**, 该类化合物 4-位为氨基取代的化合物, 其抗流感 A 型病毒的活性比具有类似结构的扎那米韦的活性还要高, 说明此类抑制剂并不一定需要通过 4-胍基与 NA 作用。2006 年, Li 等^[31]合成了一系列 4-位被三氮唑类化合物取代的化合物, 发现化合物 **10** 的活性接近扎那米韦。2007 年, Ye 等^[32]报道了 4-位被环状或者是烷基胺取代的衍生物 (**11**)。Tindal 等^[33]合成了 4-位由醚取代的一系列的衍生物 (**12**), 发现这类化合物对 hPIV-3 型病毒具有比扎那米韦更好的活性。2008 年, Ye 等^[34]报道了 4 位-4 位相连的 C₂ 对称或不对称的唾液酸二聚体 (**13**), 可以作为非天然的唾液酸多聚体。

1.1.3 C-5 位取代基 (图 4) 乙酰氨基是这类抑制剂的活性必需基团。Smith 等^[35]在对 5-位的乙酰基化合物的一系列修饰中, 合成了一系列化合物 (**14**), 没有发现活性优于扎那米韦的化合物。2004 年, Alymova 等^[36]报道了 BCX2855 (**15**) 可以抑制副流感病毒 (hPIV-3), 但对流感病毒 NA 活性不明显。

1.1.4 C-6 位取代基 (图 4) 针对扎那米韦侧链 C-7、C-8 和 C-9 位的结构改造, 是近几年研究的热点。Bamford 等^[37]改造 C-6 侧链得到了不同链长的 *N*-乙酰神经氨酸类似物 **16**, 活性随羟甲基数目的增多而增大。2002 年, Honda 等^[38]设计合成了 7-烷氧基系列衍生物 **17**。活性测定发现, 烷基的碳链小于 12 的化合物对 A 型病毒 NA 的抑制活性较扎那米韦的抑制活性强, 当碳链长于 12 时, 抑制活性显著降低。研究还发现, 去除 8, 9-位羟基的衍生物活性大大降低, 这说明了 8, 9-羟基在与 NA 的结合中的重要作用。Masuda 等^[39]为了提高 NA 抑制剂的口服生物利用度, 还合成了一系列双环醚类 NA 抑制剂 **18**, 这些化合物在细胞培养中显示出对 A 型流感病毒的抑制活性。Yamashita 等^[40]将 NA 抑制剂 R-125489 (**19**) 做

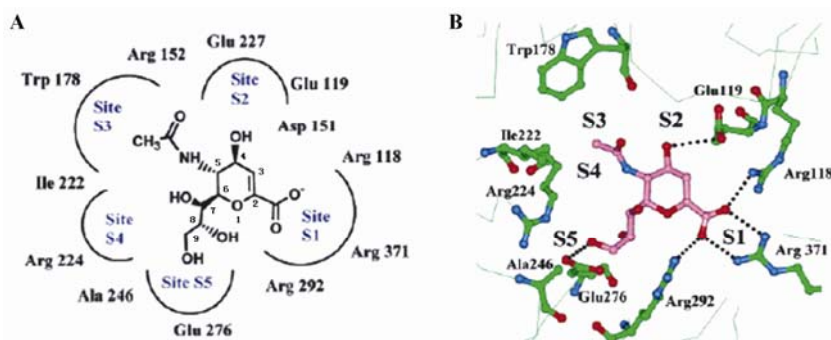


图 3 神经氨酸酶活性位点的活性作用区域

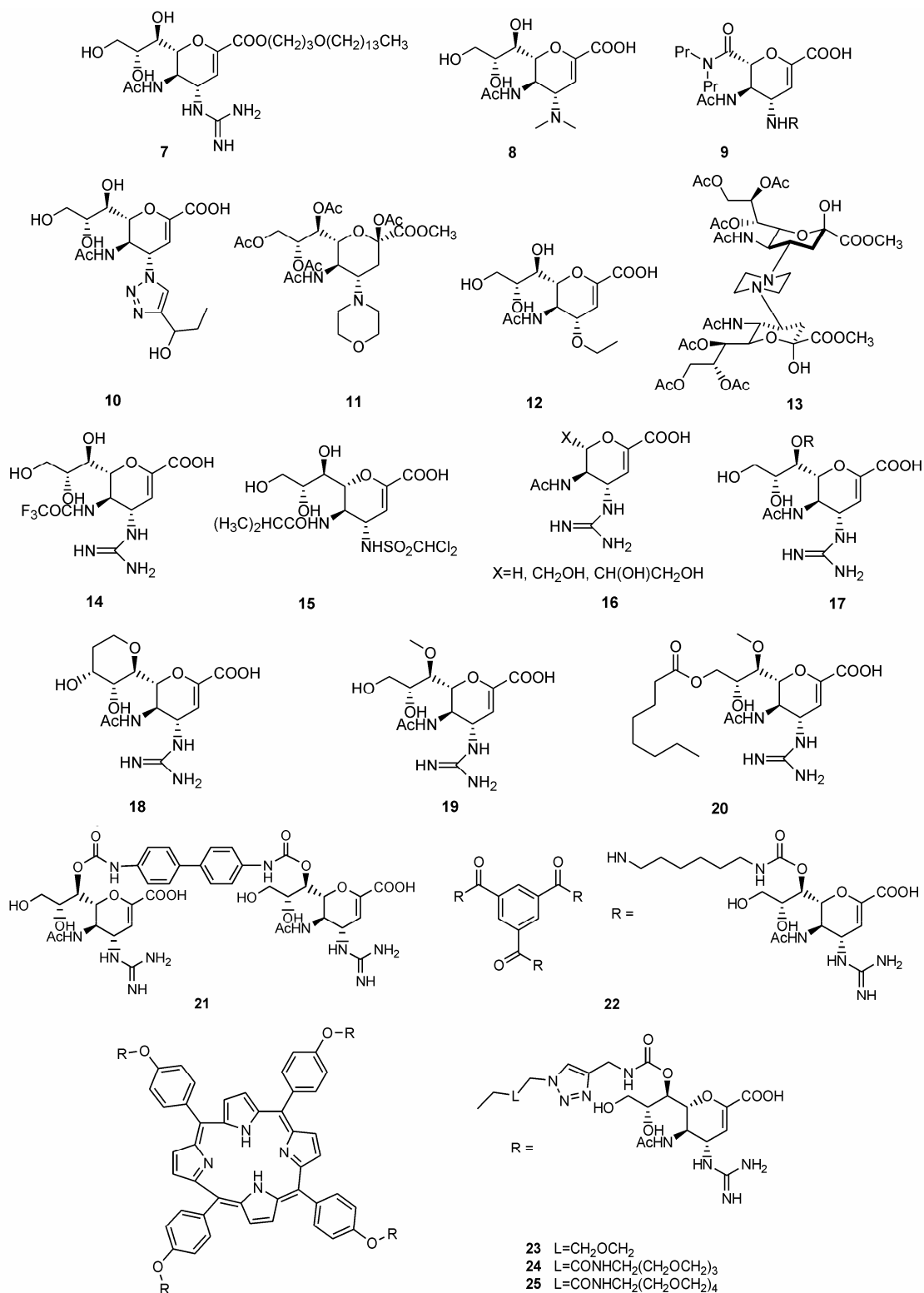


图 4 具有 NA 抑制活性的唾液酸类似物

成前药 CS-8958 (20), 不仅抑制活性比扎那米韦和 R-125489 好, 而且体内试验表明它是一个比扎那米韦更长效的 NA 抑制剂。

1.1.5 扎那米韦多聚物 (图 4) 2005 年, Macdonald 等^[41]报道了二聚物 21 用于预防和治疗病毒感染。研

究表明: 化合物 21 具有抑制 N1 亚型流感病毒活性, 包括抑制高致病性流感病毒 H5N1 A/Chicken/Vietnam/8/2004 的活性。Watson 等^[42]通过扎那米韦的 7-位羟基的酰胺衍生物与含有多羧基的化合物缩合得到系列衍生物 (22)。与扎那米韦相比, 这些化合物在大

鼠体内的作用时间更长, 而且活性更高。最近, Wen 等^[43]报道了以卞啉为骨架的扎那米韦四聚物 **23~25**, 它们抑制 NA 的活性比扎那米韦稍弱, 但使流感病毒失活的能力比后者要强。这些化合物通过扎那米韦部分与病毒的高亲和力到达病毒表面, 卞啉载荷体发生光敏化反应, 释放出高活性的单线态氧原子, 氧原子直接作用于病毒表面的 NA, 使流感病毒失活。

1.2 苯甲酸类衍生物 (图 5)

扎那米韦作为第一个上市的 NA 抑制剂, 由于其极性比较大, 口服生物利用度低, 加之其通过吸入给药, 没有口服给药方便, 因此, 开发口服有效、体内作用时间长的 NA 抑制剂成为近期药物研究的热点。其中, 苯甲酸类衍生物因为形状与化学官能团都与唾液酸类似, 与 NA 活性位点结合的方式也与唾液酸类似, 而发展成为一类 NA 抑制剂。1999 年, Atigadda 等^[44]发现在苯环 3 位引入亲脂性基团 3-戊氧基, 可以引起结构张力, 使 5 位胍基与由 Glu229、Asp152 和 Glu120 残基构成的负电性口袋发生静电作用, 而戊氧基在空间上与 Glu278、Arg226、Ala246 和 Ile224 残基构成的疏水性口袋结合, 化合物 **26** 表现出对 A 型流感病毒 NA 的选择性抑制活性。可见, 取代的苯甲酸与非芳香性抑制剂同 NA 的作用方式类似, 苯环上的亲脂性基团和极性侧链可以提高对 NA 的抑制活性。随后, Brouillette 等^[45]又报道了吡咯烷基取代的苯甲酸类似物 **27**, 对 A 型流感病毒 NA 表现出较好的抑制活性。由于三取代苯甲酸衍生物只占据了 4 个 NA 活性位点中的 3 个, 为了提高其结合程度, Chand 等^[46]报道了四取代的苯或吡啶衍生物系列 NA 抑制剂, 用羟乙基和胍基来模拟甘油醇部分, 但这些化合物对 NA 的抑制作用令人失望, 可能是这些取代基的空间指向与甘油醇部分不同, 并且可能会降低其他取代基与活性位点的结合强度。其中对 NA 抑制活性最好的四取代吡啶衍生物是化合物 **28**, 但比三取代的苯甲酸衍生物 **26** 活性差, 作者认为活性下降的原因是引入的第 4 个取代基干扰了其余 3 个取代基与 NA 活性位点的结合。2008 年, Zhang 等^[47]以对

氨基水杨酸为原料, 在 2 位引入亲脂性基团, 合成了一系列对氨基水杨酸衍生物 **29**, 对 H3N2 的抑制活性在 32~49 nmol·L⁻¹ (IC₅₀) 之间。分子对接实验表明 2 位新引入的亲脂性侧链与由 Glu276、Glu277 残基构成的疏水性口袋结合。

1.3 环己烯衍生物 (图 6)

近来, 过渡态类似结构在药物设计中得到广泛应用。Kim 等^[48]以氧鎓离子过渡态为基础, 用环己烯骨架替代二氢吡喃骨架, 设计合成了 GS4071 (**30**) 及其前药形式的 GS4104 (化合物 **4**, 奥司他韦, oseltamivir)。奥司他韦有效地弥补了扎那米韦口服生物利用度低、体内消除速率快的不足, 优化了其药代动力学性质, 是口服有效的抗流感药物。Kim 等通过对奥司他韦与 NA 复合物的晶体研究发现: 1-位的羧基、4-位的氨基和 5-位的乙酰氨基与 NA 的作用与 Yun 等^[49]报道的氨基羰基取代的作用类似, 不同的是 3-位的 3-戊氧基这一亲脂性基团与 Glu276、Ala246、Arg224 和 Ile222 共同作用, 而不像扎那米韦的甘油醇侧链只与 Glu276 发生双齿氢键螯合作用。在作用的过程中 Glu276 的羧基指向疏水口袋的外部。这一研究表明在这一区域具有合适键长、几何构型和构象限制的烷基侧链也可以与 NA 有很好的作用。Williams 等^[50]对 GS4071 (**30**) 的构效关系做了详细研究。X 射线晶体衍射的结果表明扎那米韦分子中甘油醇结合部位处的疏水性空间能够容纳大体积的亲脂性基团 (如 GS4071 所示), 将 3-戊氧基用其电子等排体替代, 合成了一系列化合物 (**31**), 但活性没有 GS4071 好。Williams 还发现 NA 活性位点对 C-4 位的空间要求很高, 乙酰氨基是最好的选择。同时, 化合物 **31** 分子中 C-5 位氨基被胍基取代 (**32**), 其活性提高了 70 倍; 而 GS4071 分子中的氨基被胍基取代, 活性只提高了 2 倍。可见, 并不能将单个取代基对整体活性的贡献单纯地相加减。通过上述分析可以看出, 环己烯类 NA 抑制剂 C-3 位对 NA 的结合至关重要, C-1 位、C-5 位对 NA 的结合也有一定的作用。下面结合最新的研究进展对各个区域分别介绍。

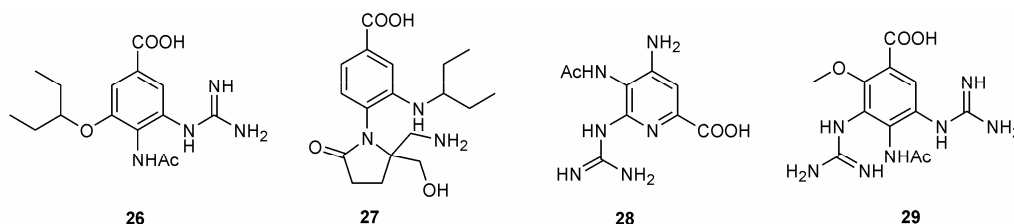


图 5 具有 NA 抑制活性的苯甲酸类衍生物

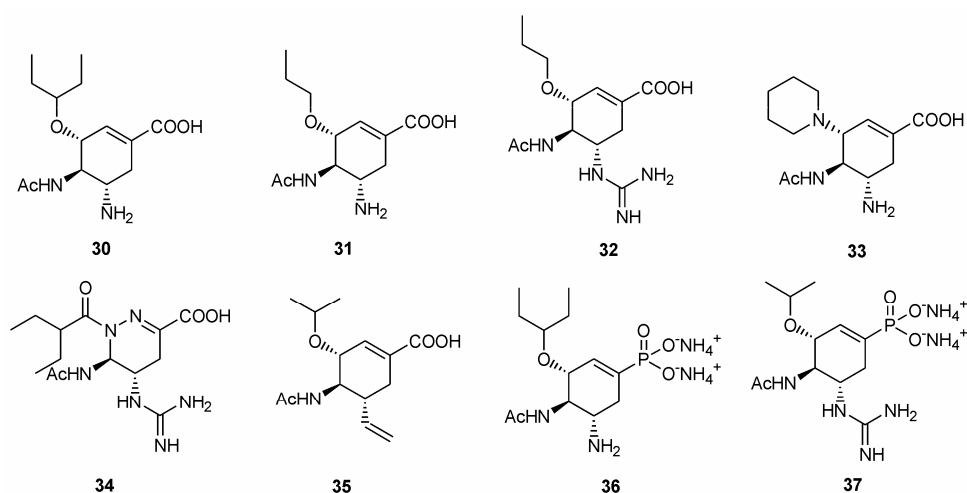


图 6 具有 NA 抑制活性的环己烯衍生物

1.3.1 C-3 位取代基 2000 年, Lew 等^[51]以 (-)-奎尼酸为原料, 合成了一系列 C-3 环状胺取代的环己烯衍生物 (**33**)。环状脂肪胺较好的亲脂性, 导致它们对 B 型病毒 NA 抑制活性增强, 但是随着环上碳原子数增多, 其活性降低, 说明亲脂性口袋对取代基的体积大小有要求。1999 年, Zhang 等^[52]合成了 1, 4, 5, 6-四氢吡嗪衍生物 **34**。GS4071 分子中的两个乙基分别与两个不同的疏水性口袋结合, 但是由于酰胺键的部分平面特性, 化合物 **34** 分子中的 3-戊基侧链被迫与一个疏水性口袋结合, 导致匹配性降低, 且与另外一个疏水性口袋的作用减弱, 所以这一系列化合物的活性均低于 GS4071。

1.3.2 C-5 位取代基 2002 年, Hannessian 等^[53]合成了一系列带有烯基的 GS4071 类似物 (**35**), 这类化合物对 B 型流感病毒 NA 表现出较好的抑制活性。X 射线衍射实验结果表明, 乙烯基与氨基占据相同的作用位点, 与 Asp151、Glu119 中的亚甲基及 Glu119 中的 π 体系均有范德华力作用。

1.3.3 C-1 位取代基 最近, Wong 等^[54]报道了 C-1 位磷酸盐、酯 (**36**, **37**) 的环己烯衍生物具有抗流感病毒活性, 它们对 H1N1 的抑制活性比 GS4071 要强。

1.4 环戊烷类衍生物 (图 7)

着力于解决扎那米韦口服生物利用度低的不足, Chand 等^[55, 56]报道了一类以环戊烷为骨架的化合物 (如 BCX-1827, **38** 及 BCX-1812, **6**)。二者对 A 和 B 型流感病毒 NA 都表现出至少与扎那米韦或奥司他韦相当的体外活性, 但由于化合物 **6** 合成路线短, 故化合物 **6** (premirvir, 帕拉米韦) 被选为临床候选物, 目前已进入 III 期临床研究阶段。化合物 **6** 是通过蛋白质晶体学筛选得到的, 其立体化学通过 NOE 核磁

共振光谱得到确证, 不仅表现出对流感 NA 的高选择性抑制活性, 且以每日 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量口服有效。构效关系表明: 胍基、乙酰氨基、羧基及烷基分别与 NA 活性位点的 4 个结合口袋作用, 一个乙基伸入到由 Glu276 重排而成的疏水性口袋中, 另外一个伸向由 Arg224、Ile222 的烃基链组成的疏水性口袋中。2004 年, Chand 等^[57]又合成了一系列环戊烷酰胺衍生物, 这类化合物 (**39**) 对 A 型流感病毒 NA 表现出较好的抑制活性, 但对 B 型流感病毒 NA 的抑制活性较差。同时, 该类衍生物口服无效, 需通过鼻吸入给药。构效关系表明: 化合物 **39** 分子中的胍基与乙酰氨基和帕拉米韦分子中对应基团与活性位点结合的方式不同, 但是与扎那米韦分子中对应基团的空间指向相近。

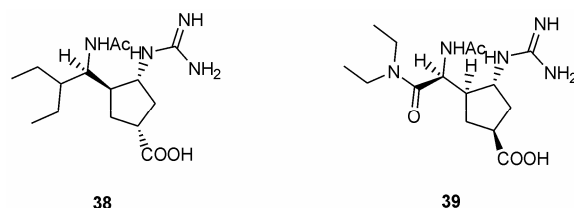


图 7 具有 NA 抑制活性的环戊烷类衍生物

1.5 吡咯烷类衍生物 (图 8)

2001 年, Wang 等^[58]通过固相高通量合成的方法, 设计合成了一系列三取代或四取代的吡咯烷衍生物。其中, 化合物 A-192558 (**40**) 体外活性最好。X 射线晶体衍射实验结果表明: 三氟乙酰氨基与 Ile222、Trp178 组成的疏水性口袋结合; 脲中的异丙基及乙基诱导了 Glu276 构象变化, 使 Glu276、Glu277 由亲水性口袋 (容纳甘油醇侧链) 变为疏水性口袋; 氨基

没有处于最佳位置, 与 Glu119、Glu227 及 Asp151 没有发生最大程度的结合, 这在一定程度上也使化合物 **40** 的活性不够理想。2005 年, Maring 等^[59]设计合成了带有新颖的亲脂性基团的吡咯烷衍生物, 对 A 和 B 型流感病毒 NA 均有很好的抑制活性。3 位上引入的烯基一方面与 Glu119 中的酰基发生 $\pi-\pi$ 重叠, 另一方面, 烯基中的甲基与 Leu134 和 Asp152 中的亚甲基之间有范德华力作用, 这也使化合物 **41** 对 A 和 B 型流感病毒 NA 均表现出很好的抑制活性。另外, 化合物 **41** 的前药形式 (**42**) 的体内生物利用度为 81.1%。2008 年, Krueger 等^[60]以化合物 **41** 作为先导化合物, 对其亲脂性部分进行了结构修饰, 合成了一系列衍生物, 从中发现化合物 **43** (A-315675) 对 A 和 B 型流感病毒 NA 均表现出很好的抑制活性。另外, Zhang 等^[61]以便宜、易得的 4-羟基-L-脯氨酸为原料, 合成、筛选得到对 A 型流感病毒 NA 有中等抑制活

性的化合物 **44**。

1.6 天然产物 (图 9)

2007 年, Miki 等^[62]报道了银杏黄素与唾液酸的轭合物 **45**, 体内实验表明: 注射该轭合物的大鼠 21 天后仍有 62.3% 的存活率。同年, Shi 等^[63]从复方银翘散中筛选出抗流感病毒有效部位的物质组成及其归属。2008 年, Mori 等^[64]通过脂肪酶催化的酯交换反应在表儿茶素没食子酸上引入不同长度的长链羧酸, 合成的这一系列化合物 (**46**) 比天然的表儿茶素没食子酸对 NA 的抑制活性提高了 24 倍。同年, Li 等^[65]对中药苦参中的主要黄酮类成分进行了研究。随后, Ryu 等^[66]从苦参中提取分离得到了多个紫檀碱衍生物、黄酮衍生物, 对 NA 抑制的 IC_{50} 值均小于 $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。其中, 抑制活性最好的是紫檀碱类化合物 **47**, 它已被选为下一步研究的先导化合物。2009 年, Ryu 等^[67]从拓树中分离得到黄烷酮类化合物 **48**, 对

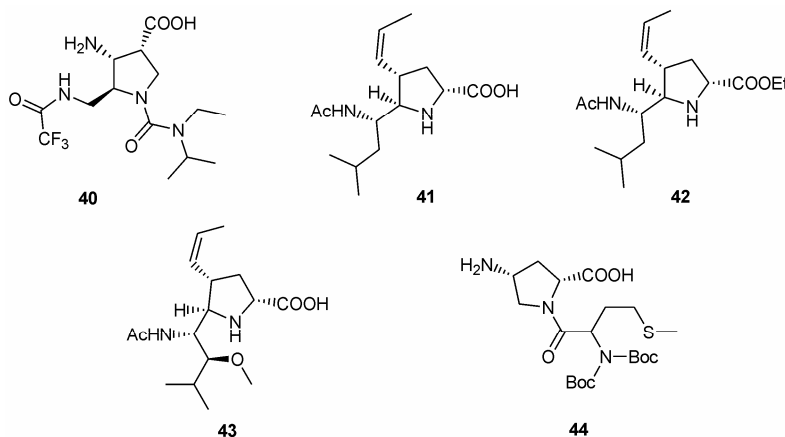


图 8 具有 NA 抑制活性的吡咯烷类衍生物

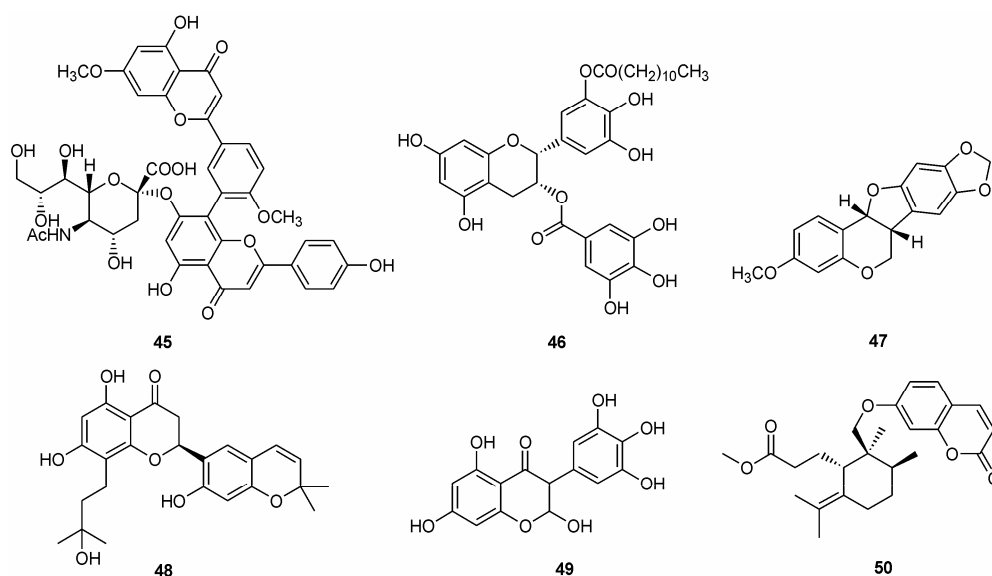


图 9 具有 NA 抑制活性的天然产物

NA 的抑制活性达到 $380 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (IC_{50} 值)。最近, Roschek 等^[68]又从接骨木中分离得到了类黄酮类化合物 **49**, 对 H1N1 表现出较好的抑制活性 ($\text{IC}_{50} = 8.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。Lee 等^[69]从阿魏中分离得到的萜类香豆素 **50**, 对 H1N1 也有较强的抑制作用 ($\text{IC}_{50} = 0.26 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

综上所述, 流感病毒 NA 抑制剂是一类新颖的抗流感病毒药物, 是通过合理药物设计取得成功的典型范例。构效关系研究显示 NA 与其抑制剂的作用主要是电荷-电荷相互作用, 而这种静电作用很大程度上依赖作用基团的相对位置, 因此中心环结构的大小和饱和程度不是影响 NA 抑制活性的关键, 环上取代基的构型和电性是决定抑制剂活性的关键。NA 抑制剂类抗病毒药物的发展历史并不长, 构效关系研究尚不完善, 仍有待进一步研究。

2 盐酸阿比朵尔

盐酸阿比朵尔由前苏联药物化学研究中心研制开发, 主要适应证是 A 型、B 型流感病毒引起的流行性感冒。阿比朵尔的合成路线简短廉价, 但是其抗病毒效果还没有得到公认, 有报告称其“非常有效”, 而另一些报告却对此表示怀疑。其实验和临床报告主要来自俄罗斯^[70]和中国^[71], 有证据表明, 阿比朵尔阻止 RNA 病毒感染可能比阻止 DNA 病毒感染更有效^[72], 而流感病毒就是一种 RNA 病毒。

Gong 等^[73, 74]开发了一系列 5-羟基吡啶-3-羧酸酯类衍生物, 除了具有抗病毒活性外, 还有抗 HIV 及 HBV 活性。Verkhovskiy 等^[75]将阿比朵尔 C-4 位取代氨基用氢代替, C-5 位羟基醚化, C-3 位改为酰胺, 同时 C-2 位取代的硫替换成氮, 对一系列衍生物进行了保护。Ivashchenko 等^[76]将 C-2 位取代的硫替换为氮、氧, C-4 位取代的胺替换成环状胺、杂环胺, 或者与 C-5 位羟基成环, 合成了一系列化合物。Leneva 等^[77]发现将 $3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 阿比多尔与 $3.3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 扎那米韦合用, 能达到 90% 的病毒抑制, 而单独使用扎那米韦, $33 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 只能达到 50% 的病毒抑制。

3 M2 离子通道蛋白抑制剂 (图 10)

2007 年, Tataridis 等^[78]在金刚乙胺分子中的氨基乙基上引入第 2 个氨基, 合成了化合物 **51**、**52**, 其中化合物 **51** 的 A 型流感病毒的抑制活性 ($\text{IC}_{50} = 18.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 比金刚乙胺 (**2**, $\text{IC}_{50} = 19.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 略有提高, 可能是由于化合物 **51** 通过增加的两个氢键作用, 与 M2 离子通道蛋白结合程度提高有关。

4 结语与展望

新药研发是高投入、周期长和多学科综合的技术

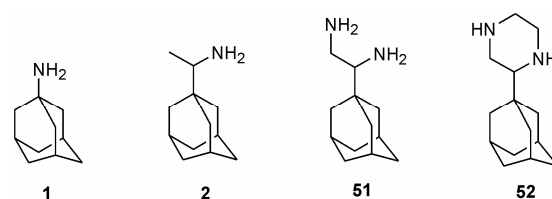


图 10 M2 离子通道蛋白抑制剂

创新^[79]。近年来, 对抗流感病毒药物的研究取得了较大进展。M2 离子通道蛋白抑制剂是最早上市的流感临床治疗药物, 但存在神经毒性, 长期服用易产生耐药毒株和对 B 型流感无效等缺陷; 盐酸阿比朵尔对 A 和 B 型流感病毒皆有较好的抑制作用, 但其作用机制尚有待阐明确定; NA 抑制剂是目前抗流感病毒药物研究的热点, 其研发过程充满了艰辛、机遇和挑战, 随着人们对其构效关系的认识日益深入, 为合理设计 NA 抑制剂提供理论基础, 有助于人类开发出新的、更加有效的 NA 抑制剂, 并最终战胜流感。但是, 由于现有药物在临床上的广泛应用, 使得流感病毒发生变异, 对这些药物产生了不同程度的耐药性, 因此对现有药物进行结构改造并寻找新的作用靶点是今后的主要发展方向。血凝素 (hemagglutinin, HA) 抑制剂^[80, 81]在这方面做出了尝试, 并且在体内、体外实验中均表现出了一定的抗流感病毒活性, 具有很好的抗病毒应用前景, 有望成为新一代的抗流感病毒药物。

References

- [1] von Itzstein M. The war against influenza: discovery and development of sialidase inhibitors [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6: 967-974.
- [2] Betakova T. M2 protein — a proton channel of influenza A virus [J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13: 3231-3235.
- [3] Liu C, Eichelberger MC, Compans RW, et al. Influenza type A virus neuraminidase does not play a role in viral entry, replication, assembly, or budding [J]. *J Virol*, 1995, 69: 1099-1106.
- [4] Moscona A. Medical management of influenza infection [J]. *Annu Rev Med*, 2008, 59: 397-413.
- [5] Tosh PK, Poland GA. Emerging vaccines for influenza [J]. *Expert Opin Emerg Drugs*, 2008, 13: 21-40.
- [6] Glezen WP. Influenza control [J]. *N Engl J Med*, 2006, 355: 79-81.
- [7] Kolocouris N, Foscolos GB, Kolocouris A, et al. Synthesis and antiviral activity evaluation of some aminoadamantane derivatives [J]. *J Med Chem*, 1994, 37: 2896-2902.

- [8] Zhang J, Xu WF. Recent advances in anti-influenza agents with neuraminidase as target [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2006, 6: 429–448.
- [9] Monto AS, Fendrick AM. Developments in influenza prevention and treatment — a managed care perspective [J]. *Dis Manag Health Outcomes*, 2000, 7: 235–243.
- [10] Weinstock DM, Zuccotti G. Adamantane resistance in influenza A [J]. *JAMA*, 2006, 295: 934–936.
- [11] Saito R, Li DJ, Suzuki H. Amantadine-resistant influenza A (H3N2) virus in Japan, 2005–2006 [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356: 312–313.
- [12] von Itzstein M, Wu WY, Kok GB, et al. Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza-virus replication [J]. *Nature*, 1993, 363: 418–423.
- [13] Miller JL. Inhaled zanamivir approved for influenza treatment [J]. *Am J Health Syst Pharm*, 1999, 56: 1696–1696.
- [14] Leneva IA, Goloubeva O, Fenton RJ, et al. Efficacy of zanamivir against avian influenza A viruses that possess genes encoding H5N1 internal proteins and are pathogenic in mammals [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45: 1216–1224.
- [15] Liu Y, Zhang J, Xu WF. Recent progress in rational drug design of neuraminidase inhibitors [J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14: 2872–2891.
- [16] Chand P. Recent advances in the discovery and synthesis of neuraminidase inhibitors [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2005, 15: 1009–1025.
- [17] McClellan K, Perry CM. Oseltamivir - a review of its use in influenza [J]. *Drugs*, 2001, 61: 263–283.
- [18] Ward P, Small I, Smith J, et al. Oseltamivir (Tamiflu (R)) and its potential for use in the event of an influenza pandemic [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2005, 55 Suppl 1: i5–i21.
- [19] Jefferson T, Demicheli V, Rivetti D, et al. Antivirals for influenza in healthy adults: systematic review [J]. *Lancet*, 2006, 367: 303–313.
- [20] Borroso L, Treanor J, Gubarevo L, et al. Efficacy and tolerability of the oral neuraminidase inhibitor peramivir in experimental human influenza: randomized, controlled trials for prophylaxis and treatment [J]. *Antivir Ther*, 2005, 10: 901–910.
- [21] Boriskin YS, Pécheur EI, Polyak SJ. Arbidol: a broad-spectrum antiviral that inhibits acute and chronic HCV infection [J]. *Virology*, 2006, 3: 56–65.
- [22] Yang ZQ, Xiong HR, He J. A novel anti-respiratory virus agent and its use thereof: CN, 1687033 [P]. 2005-10-26.
- [23] Colman PM, Hoyne PA, Lawrence MC. Sequence and structure alignment of paramyxovirus hemagglutinin-neuraminidase with influenza-virus neuraminidase [J]. *J Virol*, 1993, 67: 2972–2980.
- [24] Varghese JN, Epa VC, Colman PM. 3-Dimensional structure of the complex of 4-guanidino-Neu5Ac2en and influenza-virus neuraminidase [J]. *Protein Sci*, 1995, 4: 1081–1087.
- [25] Liu AL, Wang YT, Du GH. Neuraminidase as a target for drugs for the treatment of influenza [J]. *Drugs Future*, 2005, 30: 799–806.
- [26] Stoll V, Stewart KD, Maring CJ, et al. Influenza neuraminidase inhibitors: structure-based design of a novel inhibitor series [J]. *Biochemistry*, 2003, 42: 718–727.
- [27] Liu ZY, Wang B, Zhao LX, et al. Synthesis and anti-influenza activities of carboxyl alkoxyalkyl esters of 4-guanidino-Neu5Ac2en (zanamivir) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17: 4851–4854.
- [28] Wyatt PG, Coomber BA, Evans DN, et al. Sialidase inhibitors related to zanamivir. Further SAR studies of 4-amino-4H-pyran-2-carboxylic acid-6-propylamides [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11: 669–673.
- [29] Holzer CT, von Itzstein MV, Jin B, et al. Inhibition of sialidases from viral, bacterial and mammalian sources by analogues of 2-deoxy-2, 3-didehydro-N-acetylneuraminic acid modified at the C-4 position [J]. *Glycoconjugate J*, 1993, 10: 40–44.
- [30] Smith PW, Sollis SL, Howes PD, et al. Dihydropyran-carboxamides related to zanamivir: a new series of inhibitors of influenza virus sialidases. 1. Discovery, synthesis, biological activity, and structure-activity relationships of 4-guanidino- and 4-amino-4H-pyran-6-carboxamides [J]. *J Med Chem*, 1998, 41: 787–797.
- [31] Li J, Zheng MY, Tang W, et al. Synthesis of triazole-modified zanamivir analogues via click chemistry and anti-AIV activities [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16: 5009–5013.
- [32] Ye DJ, Li J, Zhang J. Simultaneous stereoselective 4-amination with cyclic secondary amines and 2-O-deacetylation of peracetylated sialic acid derivatives [J]. *Tetrahedron Lett*, 2007, 48: 4023–4027.
- [33] Tindal DJ, Dyason JC, Thomson RJ, et al. Synthesis and evaluation of 4-O-alkylated 2-deoxy-2, 3-didehydro-N-acetylneuraminic acid derivatives as inhibitors of human parainfluenza virus type-3 sialidase activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17: 1655–1658.
- [34] Ye DJ, Deng GH, Liu WF, et al. Simultaneous 2-O-deacetylation and 4-amination of peracetylated Neu5Ac: application to the synthesis of (4/4)-piperazine derivatives linked sialic acid dimers [J]. *Tetrahedron*, 2008, 64: 6544–6550.
- [35] Smith PW, Starkey ID, Howes PD, et al. Synthesis and

- influenza virus sialidase inhibitory activity of analogues of 4-guanidino-Neu5Ac2en (GG167) with modified 5-substituents [J]. *Eur J Med Chem*, 1996, 31: 143–150.
- [36] Alymova IV, Taylor G, Takimoto T, et al. Efficacy of novel hemagglutinin-neuraminidase inhibitors BCX 2798 and BCX 2855 against human parainfluenza viruses *in vitro* and *in vivo* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48: 1495–1502
- [37] Bamford MJ, Pichel JC, Husman W, et al. Synthesis of 6-carbon, 7-carbon and 8-carbon sugar analogs of potent antiinfluenza 2, 3-didehydro-2, 3-dideoxy-*N*-acetylneuraminic acid-derivatives [J]. *J Chem Soc Perkin Trans 1*, 1995: 1181–1187.
- [38] Honda T, Masuda T, Yoshida S, et al. Synthesis and antiinfluenza virus activity of 7-*O*-alkylated derivatives related to zanamivir [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12: 1925–1928.
- [39] Masuda T, Shibuya S, Arai M, et al. Synthesis and antiinfluenza evaluation of orally active bicyclic ether derivatives related to zanamivir [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13: 669–673.
- [40] Yamashita M, Tomozawa T, Kakuta M, et al. CS-8958, a prodrug of the new neuraminidase inhibitor R-125489, shows long-acting anti-influenza virus activity [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53: 186–192.
- [41] Macdonald SJF, Cameron R, Demaine DA, et al. Dimeric zanamivir conjugates with various linking groups are potent, long-lasting inhibitors of influenza neuraminidase including H5N1 avian influenza [J]. *J Med Chem*, 2005, 48: 2964–2971.
- [42] Watson KG, Cameron R, Fenton RJ, et al. Highly potent and long-acting trimeric and tetrameric inhibitors of influenza virus neuraminidase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14: 1589–1592.
- [43] Wen WH, Lin M, Su CY, et al. Synergistic effect of zanamivir-porphyrin conjugates on inhibition of neuraminidase and inactivation of influenza virus [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 4903–4910.
- [44] Atigadda VR, Brouillette WJ, Duarte F, et al. Hydrophobic benzoic acids as inhibitors of influenza neuraminidase [J]. *Bioorg Med Chem*, 1999, 7: 2487–2497.
- [45] Brouillette WJ, Bajpai SN, Ali SM, et al. Pyrrolidinobenzoic acid inhibitors of influenza virus neuraminidase: modifications of essential pyrrolidinone ring substituents [J]. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11: 2739–2749.
- [46] Chand P, Kotian PL, Morris PE, et al. Synthesis and inhibitory activity of benzoic acid and pyridine derivatives on influenza neuraminidase [J]. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13: 2665–2678.
- [47] Zhang J, Wang Q, Fang H, et al. Design, synthesis, inhibitory activity, and SAR studies of hydrophobic *p*-aminosalicylic acid derivatives as neuraminidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 16: 3839–3847.
- [48] Kim CU, Lew W, Williams MA, et al. Influenza neuraminidase inhibitors possessing a novel hydrophobic interaction in the enzyme active site: design, synthesis, and structural analysis of carbocyclic sialic acid analogues with potent anti-influenza activity [J]. *J Am Chem Soc*, 1997, 119: 681–690.
- [49] Yun NE, Linde NS, Zacks MA, et al. Injectable peramivir mitigates disease and promotes survival in ferrets and mice infected with the highly virulent influenza virus, A/Vietnam/1203/04 (H5N1) [J]. *Virology*, 2008, 374: 198–209.
- [50] Williams MA, Lew W, Mendel DB, et al. Structure-activity relationships of carbocyclic influenza neuraminidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1997, 7: 1837–1842.
- [51] Lew W, Wu H, Chen X, et al. Carbocyclic influenza neuraminidase inhibitors possessing a C3-cyclic amine side chains: synthesis and inhibitory activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2000, 10: 1257–1260.
- [52] Zhang L, Williams MA, Mendel DB, et al. Synthesis and evaluation of 1, 4, 5, 6-tetrahydropyridazine derivatives as influenza neuraminidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1999, 9: 1751–1756.
- [53] Hanessian S, Wang J, Montgomery D, et al. Design, synthesis, and neuraminidase inhibitory activity of GS4071 analogues that utilize a novel hydrophobic paradigm [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12: 3425–3429.
- [54] Wong CH, Fang JM, Shie JJ, et al. Synthesis of oseltamivir containing phosphonate congeners with anti-influenza activity: WO, 2009029888 [P]. 2005-05-03.
- [55] Babu YS, Chand P, Banria S, et al. BCX-1812(RWJ-270201): discovery of a novel, highly potent, orally active, and selective influenza neuraminidase inhibitors through structure-based drug design [J]. *J Med Chem*, 2000, 43: 3482–3486.
- [56] Chand P, Kotian PL, Dehghani A, et al. Systematic structure-based design and stereoselective synthesis of novel multisubstituted cyclopentane derivatives with potent antiinfluenza activity [J]. *J Med Chem*, 2001, 44: 4379–4392.
- [57] Chand P, Babu YS, Bantia S, et al. Synthesis and neuraminidase inhibitory activity of multisubstituted cyclopentane amide derivatives [J]. *J Med Chem*, 2004, 47: 1919–1929.
- [58] Wang GT, Chen Y, Wang S, et al. Design, synthesis, and structural analysis of influenza neuraminidase inhibitors containing pyrrolidine cores [J]. *J Med Chem*, 2001, 44: 1192–1201
- [59] Maring CJ, Stoll VS, Zhao C, et al. Structure-based charac-

- terization and optimization of novel hydrophobic binding interactions in a series of pyrrolidine influenza neuraminidase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2005, 48: 3980–3990.
- [60] Krueger AC, Xu Y, Kati WM, et al. Synthesis of potent pyrrolidine influenza neuraminidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 1692–1695.
- [61] Zhang J, Wang Q, Fang H, et al. Design, synthesis, inhibitory activity, and SAR studies of pyrrolidine derivatives as neuraminidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17: 2749–2758.
- [62] Miki K, Nagai T, Suzuki K, et al. Anti-influenza virus activity of biflavonoids [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17: 772–775.
- [63] Shi Y, Shi RB. Relative adscriptions of components in the effective fractions of Yinqiao decoction and its composing individual herbs [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2007, 42: 192–196.
- [64] Mori S, Miyake S, Kobe T, et al. Enhanced anti-influenza A virus activity of (–)-epigallocatechin-3-*O*-gallate fatty acid monoester derivatives: effect of alkyl chain length [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 4249–4252.
- [65] Li W, Liang H, Yin T, et al. Main flavonoids from *Sphora flavescens* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 833–837.
- [66] Ryu YB, Curtis-Long MJ, Kim JH, et al. Pterocarpan and flavanones from *Sophora flavescens* displaying potent neuraminidase inhibition [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 6046–6049.
- [67] Ryu YB, Curtis-Long MJ, Lee JW, et al. Structural characteristics of flavonones and falvones from *Cudrania tricuspidata* for neuraminidase inhibition [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 4912–4915.
- [68] Roschek B Jr, Fink RC, McMichael MD, et al. Elderberry flavoids binds to and prevent H1N1 infection *in vitro* [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70: 1255–1261.
- [69] Lee CL, Chiang LC, Cheng LH, et al. Influenza A (H1N1) antiviral and cytotoxic agents from *Ferula assa-foetida* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72: 1568–1572.
- [70] Leneva IA, Fediakina IT, Gus'kova TA, et al. Sensitivity of various influenza virus strains to arbidol. Influence of arbidol combination with different antiviral drugs on reproduction of influenza virus A [J]. *Ter Arkh*, 2005, 77: 84–88.
- [71] Wang MZ, Cai BQ, Li LY. Efficacy and safety of arbidol in treatment of naturally acquired influenza [J]. *Acta Acade Med Sin (中国医学科学院学报)*, 2004, 26: 289–293.
- [72] Shi L, Xiong H, He J. Antiviral activity of arbidol against influenza A virus, respiratory syncytial virus, rhinovirus, coxsackie virus and adenovirus *in vitro* and *in vivo* [J]. *Arch Virol*, 2007, 152: 1447–1455.
- [73] Gong P, Zhao YF. 5-Hydroxyindole-3-carboxylates derivatives and their use: WO, 2005087729 [P]. 2005-09-22.
- [74] Chai HF, Zhao YF, Zhao CS, et al. Synthesis and *in vitro* anti-hepatitis B virus activities of some ethyl 6-bromo-5-hydroxy-1*H*-indole-3-carboxylates [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14: 911–917.
- [75] Verkhovskiy JG, Tsyshkova NG. 5-Substituted indol-3-carboxylic acid derivatives exhibiting antiviral activity: a method for the production and use thereof: WO, 2009058051 [P]. 2009-07-05.
- [76] Ivashchenko AV, Ivashchenko AA, Leneva IA, et al. Active substances, pharmaceutical composition and a method for the production and use thereof: WO, 2007136302 [P]. 2007-11-29.
- [77] Leneva IA. Medicinal agent for treating viral infections: EP, 1970061 [P]. 2005-12-28.
- [78] Tataridis D, Fytas G, Kolocouris A, et al. Influence of an additional 2-amino substituent of the 1-aminoethyl pharmacophore group on the potency of rimantadine against influenza virus A [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17: 692–696.
- [79] Guo ZR. Strategy of molecular drug design: hits, leads and drug candidates [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 898–904.
- [80] Matrosovich M, Klenk HD. Natural and synthetic sialic acid-containing inhibitors of influenza virus receptor binding [J]. *Rev Med Virol*, 2003, 13: 85–97.
- [81] Reuter JD, Myc A, Hayes M, et al. Inhibition of viral adhesion and infection by sialic-acid-conjugated dendritic polymers [J]. *Bioconjug Chem*, 1999, 10: 271–278.