维普资讯 http://www.cqvip.com

Q939.45; R978.7
核苷类药物，抗病毒药，靶位，构效关系

核苷类物抗病毒活性靶位及构效关系研究进展

病毒性肝炎研究所 杨 林 综述 张定凤 审校

中图分类号 Q525; Q939.45

随着化学、分子生物学技术的发展及对病毒复制过程研究的深化，核苷类抗病毒药物的研究取得了很大进展。本文就核苷类物抗病毒活性靶位及构效关系作一综述。

I 核苷类药物抗病毒活性靶位

研究表明，不同抗病毒药物可分别作用于病毒的吸附、穿入、脱壳、病毒复制、基因组转录、翻译、病毒编码酶及病毒包装成熟等多个环节，而核苷类物主要以病毒复制过程中某些专属酶为靶点[1]；其次对病毒进入后的脱壳也有一定作用[1,2]。

胸苷酸合成酶 该酶是胸苷激酶缺陷型疱疹病毒(TK－HSV)及痘病毒复制必需的酶。C－5位带较小电负性基团的2'一脱氧尿苷(dIIrd)、如氟化物、三氟甲基、硝基、甲酰基或其它拉电子基团类似物的尿苷能抑制胸苷酸合成酶；TK^-HSV突变株比之TK^+HSV毒株对以上化合物及其5'－单磷酸酯、3',5'－环磷酸酯的抑制作用更敏感，而这些化合物的抗TK^+HSV活性极易被胸苷逆转[1]，也说明胸苷酸合成酶是这类2'－脱氧尿苷的靶物。

胸苷激酶 TK^+HSV及其它疱疹病毒(如VZV)能诱导胸苷激酶(TK)。一些核苷类物是病毒TK的专一性底物，只能在病毒感染的细胞被病毒TK磷酸化，这使TK成为选择性抗TK^-病毒的重要靶点。C－5含乙基或乙烯基的胸苷衍生物，如5－乙基脱氧尿苷，5－溴乙烯、5－碘乙烯脱氧尿苷；无环鸟苷类，如无环鸟苷(ACV)、二羟基丁基鸟嘌呤(DHBG)、二羟基丙氧鸟嘌呤(DHPG)；C－5位碘或甲基、C－2'氟阿糖核苷类，如氟碘阿糖尿苷(FIAU)、氟甲阿糖尿苷(FMAU)、氟碘阿糖胞苷(FIAC)均在病毒感染细胞专一性地或优先由病毒TK磷酸化，而选择性抗TK^+HSV[1,3,4,5,6]。同时，ACV、FIAC、FIAU及FMAU还具有较Ara－AMP更强的抗乙型肝炎病毒(HBV)活性[1,5]，其机制不太明了，可能与这类化合物还能作用于DNA聚合酶或其它靶点有关[3,4,5]。

DNA与RNA聚合梅 HSV科病毒如HSV－Ⅰ、HSV－Ⅱ、VZV、巨细胞病毒(CMV)、爱泼斯坦一巴尔病毒(EBV)能诱导DNA聚合酶，HBV也编码DNA聚合酶。前述先由病毒TK磷酸化的核苷类物及碳环2'－脱氧鸟苷(2'－CDG)进一步由细胞激酶三磷酸化后，其最终靶点是DNA聚合梅[3,4,5]；不需病毒TK预先磷酸化，而直接由细胞激酶磷酸化的Ara－A、以腺嘌呤为原料制备的膦酸衍生物，如(S)－9－(3－羟基－2膦酸甲氧丙基)腺嘌呤、乙基腺嘌呤等也能抑制DNA聚合酶活性[1,7,8]。核苷类物三磷酸盐影响病毒DNA聚合酶的机制为

维普资讯 http://www.cqvip.com

[3,9,10]：1）作为DNA聚合酶替代底物，竞争性抑制聚合酶对正常底物的利用。2）掺入DNA中形成假的，缺损DNA，导致病毒颗粒感染力低下。3）减慢或终止DNA链延伸。无3′－羟基的ACV、DHPG等被DNA聚合酶利用而掺入DNA后，既不能被病毒（如HSV）核酸外切酶切除，又不能进一步形成3′、5′－磷酸二酯键，导致DNA链终止。

相对来说，以RNA聚合酶为靶点的核苷类抗病毒研制较少，现有药物中，三氮唑核苷（RBV）的靶点之一为OMP(IFV）的RNA聚合酶[10]。

逆转录酶（RT）　RT是逆转录病毒(RTV)特有的依赖RNA的DN聚合酶，与一般遗传信息流向相反，该酶以RNA为模板反转录DNA。已知HTV为RTV，HBV DNA聚合梅也有RT活性。以RT为靶位的核苷类物有以下共同结构特点[11]：1)2′、3′位双脱氧，2)C－3′位替代修饰，3)碱基上一般不修饰。国外已合成多种HIV RT抑制剂，其中2′，3′一二脱氧－3′叠氮胸苷(AZT)、2′，3′一二脱氧次黄嘌呤核苷(DDI)已应用于临床，2′，3′－二脱氧－2′，3′一三脱氢胸苷（D_4T）及活力更强的2′，3′一三脱氧胞苷DDC处于试用阶段[11,12]。此外，3′－氟－3′－脱氧胸苷（FLT）、3′－氟－2′，3′－二脱氧尿苷（FDDU）、碳环2′，3′－二脱氢－2′，3′－二脱氧鸟苷、带丁烷环的核苷类似物如Cyclobut A和Cyclobut G等也以RT为靶点[11,13]。已明确，AZT在HTV感染及非感染细胞被细胞激酶同等磷酸化，其三磷酸AZT对HIV RT的亲和力比对细胞DNA聚合酶的亲和力约高100倍，从而选择性与RT结合，抑制RT活性，并掺入正在合成的DNA链，终止其延伸[12]。

5′－胞苷三磷酸（CTP）合成酶　CTP合成酶催化尿苷三磷酸转变为胞苷三磷酸。胞苷的碳环（环戊基、环戊烯基）类似物干扰CTP合成酶而具有独特抗病毒谱，包括DNA病毒、（±）RNA病毒、双股RNA病毒；并对TK^-HSV的抑制作用强于对TK^+HSV。

S—腺苷同型半胱氨酸（S－AdoHcy）水解酶　该酶功能上与mRNA戴帽过程中的转甲基化有关。多数病毒mRNA都要戴帽，这种5′端帽化结构是病毒mRNA翻译、病毒在真核细胞中复制必需的[14]，因而S－AdoHcy水解酶是设计广谱抗病毒剂的重要途径。已明确无环腺苷和碳环腺苷类似物的靶位之一是S－AdoHcy水解酶，（S）－9—（二羟丙基）腺嘌呤[（S）－DHPA]、3—（腺苷基－9）－2—羟基丙酸[（RS）－AHPA]、Neplan－ocin A、碳环－3—脱氮腺苷及毒性更低的9－（trans－2′－rnas－3′－dihydroxyclopent－4′－enyl）adenine（DHCeA）、9－（trans－2′－trans－3′－dihydroxyclopentanyl）adenine（DHCaA）、β－4′－methyl－DHCaA、3－deaza－DHCeA、（z）－4′、5′－didehydro－5′－deoxy－5′－fluoroadenine等均通过抑制S－AdoHcy水解酶而发挥抗病毒作用[1,14,15]。水解酶抑制剂的选择性可能在于病毒感染和非感染细胞对甲基化的定量或定性差异[1]。

乳清苷酸脱羧酶　该酶催化乳清苷酸转变为UMP，是6－氮杂尿苷及其它具有抗病毒活性的抗代谢物的靶位[1]。

核苷酸还原酶　核苷酸还原酶催化核糖核苷二磷酸转化为脱氧核糖核苷二磷酸，在DNA合成中起重要作用。该酶是Ara－A、（E）－5－（2－溴）脱氧尿苷（BVDU）的靶物之一，三磷酸Ara－A及BVDU通过抑制该酶及DNA聚合酶而显示抗HSV、EBV活性[16,17]。

肌苷酸脱氢酶　肌苷酸脱氢酶是GTP生物合成的关键酶之一，催化肌苷酸转化为黄嘌呤核苷酸，进而合成GMP和GTP。该酶是RBV的靶物之一，在体内单磷酸RBV抑制肌苷酸脱氢酶，降低细胞内GTP，进而

维普资讯 http://www.cqvip.com

抑制 RNA 聚合酶[16]。

病毒 DNA 或 RNA 链 5′端蛋白质　腺病毒、细小 RNA 病毒、肠道病毒基因组 DNA 或 RNA 链 5′端及嗜肝病毒（包括 HBV）DNA 负链 5′端共价连接着一蛋白质，该蛋白质在功能上是病毒 DNA 或 RNA 复制的引物，因而也是设计抗病毒药物的途径[19,20,21]。研究发现 HBV DNA 负链 5′端蛋白质是鸟苷类似物的靶点之一。Tyrell 等在 DHBV 实验感染模型中用 ddDAPR(2, 6-diaminopurine; 2, 3－dideoxyriboside) 作为 ddG(双脱氧鸟嘌呤) 的前体治疗，2 周后病毒 DNA 和 RNA 均显著降低[19]；Press 在转染了 HBV 全基因组的 2. 2. 15 细胞系的研究发现，25ng/ml 2′－CDG 即可使 HBV 停止复制，而 50ng/ mlAZT 却无抗 HBV 活性[19,22]，提示模拟鸟嘌呤的核苷类物抑制 HBV DNA 的作用强于其它核苷类物，其机制除 2′－CDG 抑制 DNA 聚合酶外，还与鸟嘌呤类核苷衍生物能结合 HBV DNA 负链 5′端蛋白进而抑制其 DNA 合成有关。

复合靶与广谱抗病毒作用　作用靶位越多抗病毒谱越广。RBV 能抑制 IMP 脱氢酶使细胞内 GTP 库消竭，影响 mRNA5′端帽化，抑制 mRNA 翻译起始及链延伸；Ara－A 通过抑制水解酶、DNA 聚合酶、核糖核苷酸还原酶、干扰 mRNA 3′端多聚腺苷酸化、掺入 DNA 中等多个环节发挥抗病毒作用。揭示可针对多个靶位设计广谱抗病毒剂。

2　核苷类抗病毒药物的构一效关系

核苷类物是人工合成的天然核苷的类似物。怎样修饰才能保持与母体核苷在结构上高度相似从而具有高效低毒性，是核苷类药物研制中的关键问题。通常有以下几种修饰方式。

碱基、戊糖环氢原子替代修饰　用于取代碱基或/ 和戊糖环上氢原子的基团多为化学性质活泼的 F、CI、I、Br，其次为甲基、－CF_3、乙基等，取代的位点多在碱基环 C－5 位、戊糖环 2′、3′位[1,5,18,23]。I、－CF_3、－CH_2CHBr 取代嘧啶环 C－5 位氢的 5－碘脱氧尿苷、三氟胸苷、溴乙烯尿苷及 F 取代戊糖环 2′或 3′位氢的 FIAC、FIAU、FMAU 均有明显抗病活性[5,18,23]。卤素取代修饰的构效机制不太清楚，根据电子等排原理，卤素取代产物在疏水性、电性及立体性方面与母体核苷相似，而具有相似特性，从而在体内发生竞争性抑制而显示抗病毒活性。Matthes 等[5]报道 FIAC、FMAU 在 2. 2. 15 细胞模型具有强于 Ara－AMP 的抗 HBV 活性，且基本无细胞毒性、结构分析提示，戊糖和碱基上同时修饰既可提高修饰产物抗病毒活性，又可降低卤素修饰的细胞毒性[5]。

戊糖 2′、3′位双脱氧及替代修饰 2′，3′位双脱氧及氟或氮替代修饰是 RT 抑制剂的结构特点[11]。这类修饰物中的 AZT、D_4T、DDC、FDDU 等具有抗 HIV 活性[1,12,17,24]。同时 D_4T 三磷酸、2′，3′三脱氧胸苷三磷酸 (ddTTP) 有抑制 HBV DNA 聚合酶活性[24]。2′、3′位双脱氧修饰物抗病毒机制可能与其缺乏 3′一羟基，不能进一步形成 3′、5′一磷酸二酯键有关[12]。

碳环核苷　一个亚甲基代替戊糖环中氧原子的化合物为碳环核苷[17]。碳环核苷的化学性质可看成嘌呤的 N_9 烷基取代物，而多羟基环戊烷在构象上与呋喃糖核苷极相似，因此，更引起研究者的兴趣。碳环核苷具有对体内各种水解酶较稳定，可避免被过早降解失活等优点[17]。研究发现碳环 5－碘－2′－脱氧尿苷、BVDC 等有抗病毒活性[17]。2′－CDG 在细胞及动物模型均有显示抗 HBV 活性，并且 HBV DNA 聚合酶对 2′－CDGTP 的 Ki 值比真核细胞 DNA 聚合酶对 2′－CDGTP 的 Ki 值低 6 倍，因而 2′－CDG 具有高选择性[6,25]。

无环或开环核苷　从结构上看无环或开环核苷乃 N_9 位连一无环侧链，因此并不是

维普资讯 http://www.cqvip.com

真正的核苷，但其功能似核苷，在体内磷酸化后与天然 dNTP 竞争性地被利用，掺入 DNA 链，但不能形成 3′，5′－磷酸二酯键而终止 DNA 链延伸。其中，N_6 位接 2－羟乙氧基甲基的 ACV 及衍生物 DHPG 有抗 HSV、HBV 活性[4]。然而，9－[3－羟－2－(磷甲氧)丙基]嘌呤或嘧啶的 3′－氨类似物(HPMPA、PG、PC)在细胞模型无抗 HBV 活性，揭示无环鸟苷类核苷分子中磷甲醚基中的 β 氧原子(3′氧原子)的存在与抗病毒活性相关，可能与其进一步磷酸化有关[4,26]。

阿糖替代核糖的核苷修饰　阿糖与核糖的区别在于前者 2′羟基在上，后者在下方。阿糖核苷与母体核苷极相似，而以 5′磷酸化形式与母体核苷竞争，抑制病毒 DNA 聚合酶。这类修饰物中的 Ara－A、FIAC、FIAU、FMAU 均有抗 HSV、HBV 活性[5,17]。

磷酸化修饰　核苷类物在体内被病毒或细胞激酶磷酸化后发挥作用，磷酸化的位置多在 5′位羟基。因此，从理论上看体外磷酸化修饰核苷应有抗病毒活性。Ara－AMP 抗病毒作用强于 Ara－A，且溶解性增大，其活性增强可能与 Ara－AMP 抵抗脱氨酶灭活有关。Kim 报道单磷酸 ACV、单磷酸 DHPG 抗 HSV 作用分别强于 ACV 及 DHPG，机制不太清楚，ACV 在体内被病毒 TK 磷酸化的同时增强胸苷酸合成酶活力，使体内胸苷酸增多，而胸苷酸对 ACV 有拮抗作用，因此，体外磷酸化 ACV 绕过体内病毒 TK 磷酸化过程，避免了增多的胸苷酸的拮抗，故单磷酸 ACV 作用强于 ACV[3]。Meisel 等报道 D_4T、DDT 的三磷酸盐对 HBV DNA 聚合酶有抑制作用[24]。而磷酸化鸟苷几乎无抗病毒活性，可能与其不能透过细胞膜有关。看来，磷酸化修饰的结果不尽一致，值得进一步探讨。

戊糖环 3′碳被硫替代修饰　严格地说，此修饰物并非核苷结构，但与核苷极相似。Chang 等[27]报道戊糖 3′碳被 S 替代的 2′，3′—二脱氧—3′－硫胞苷 [(±)－Sddc] 及 2′，3′—二脱氧－3′－硫—5 氟胞苷具有抗 HBV 及 HIV 作用，其中(－)－Sddc 的活力强于(＋)－Sddc，这可能与(－)－Sddc 能抵抗脱氨酶的灭活有关。此类化合物抗 HBV 机制可能是其对 HBV DNA 聚合酶的抑制[27]。

3　结语

改进或研制高效、低毒的核苷类药物是寻求新型抗病毒药物的重要途径。药学、化学及合成技术的发展；核苷类抗病毒药物作用靶位的阐明及构效关系研究的深化，使定向设计、合成高选择性、高效性、低毒性核苷类抗病毒药物成为可能。同时，电子计算机技术的发展及定量构效关系(QSAR)的研究将使药物设计更合理化、科学化。因此，核苷类抗病毒药物的前景是不可估量的。

参考文献

1　De Clercq E, et al. Nucleosides Nucleotides 1987;6(1/2):197
2　Selway JMT, et al. ibid 1988;9(1/2):100
3　Prichard MN, et al. Antimicrob Agents Chemother 1993;37(3):540
4　Kim CU, et al. J Med Chem 1991;34(7):2286
5　Fourel I, et al. J Med Virol 1992;37:122
6　Lee Bennett JR. I, et al. Biochemical Pharmacology 1990;40(7):1515
7　Prisbe EJ, et al. J Med Chem 1986;29:671
8　Field AK, et al. Antiviral Res 1986;6:329
9　Hall MJ, et al. Antimicrob Chemother 1986;18(Suppl B):165
10　Gilbert BE, et al. Antimicrob Agents Chemother 1986;30:201
11　Connolly KJ, et al. Antimicrob Agents Chemother 1992;36(2):245
12　Peters D, et al. Nucleosides Nucleotides 1992;11(6):1151
13　De Clercq E, et al. nucleosides Nucleotides 1991,10(1－3):107

维普资讯 http://www.cqvip.com

237-240, 228

R741.044
R743.310.4

脑缺血 诱发电位 电生理检查

脑缺血与体感诱发电位

生理教研室 罗 勇 综述 黄仲苏 周保和 审校

中图分类号 R741.044

近年，由于电子计算机技术的应用和发展，出现了平均诱发电位[亦称叠(迭)加诱发电位]技术。通过计算机的叠(迭)加平均功能，可使时间上不规则的(随机的)"自发"脑电相互抵销，而能把微弱的、与外加刺激有一定时间关系的[即所谓"锁时"(time-locked)]，具有一定波形特征的诱发电位显示出来。其中，体感诱发电位(Somatosensory Evoked Potential，简称SEP)是临床常用的感觉诱发电位之一，并被广泛用于脑缺血研究中。

1.SEP的含义

SEP系指给予周围神经或皮肤以电刺激、磁刺激或自然刺激，神经冲动沿一定传入通路最终传至皮层引起的电位变化。在一定程度上反映特异性躯体感觉传入通路、脑干网状结构及大脑皮层的机能状态，其产生尤与内侧丘系和主要躯体皮层的完整性关系密切。现今，SEP的产生主要用脉冲电流诱发，从而可对刺激的性质、强度、持续时间、频率等参量严格加以控制，可使记录和分析方法标准化，并可对记录结果作定性和定量分析[1]。故SEP被广泛应用于临床，并已由传统的定性研究转入精确的定量研究。

2.SEP对脑缺血的临床价值

缺血性脑血管病发病、死亡、致残、复发率高，对其早期确诊、疗效估计、预后判断等十分重要。尽管近年关于该病的诊断性检查手段进展很快，但多数仅能反映神经系统的解剖状况，而不能或不能很好反映神经系统的功能状态，如CT虽能及时提供形态学资料，但却难以反映病变区的功能活动，而诱发

14 Lin S,et al.Antiviral Res 1992;19;247
15 Glazer RI,et al.Biochem Biophys Res Commun 1986;135;688
16 Hutchinson DW,et al.Antiviral Res 1985;5;193
17 Perigaud C,et al.Nucleosides Nucleotides 1992;11(2-44);903
18 Robins RK,et al.Chem Eng News 1986;64(4);26
19 Kuroki K,et al.Absteacts of Molecular Biology of HBV 1990;P80
20 Tavis JE,et al.J Virol 1994;68(6);3536
21 Mclachlan A,et al.Molecular Biology of the Hepatitis B Virus,CRC,Press,Inc Boca Raton Ann Arbor Boston London.1991;218
22 Price PM,et al.Proc.Natl.Acad,Sci.USA 1989;86;8541
23 Mattes E,et al.Biochmical Pharmacology 1993;43(7);1571
24 Meisel H,et al.J Med Virol 1990;30;147
25 Price PM,et al.Hepatology 1992;16(1);8
26 Holy Antonin,et al.Collection Czechoslovak Chem Commun 1987;52;2801
27 Chang Chien-Neng,et al.J Biological Chemistry 1992;267(20);13938

(收稿日期 1994-09-08)