

综述

抗登革病毒感染药物的研究进展

高雅琪, 张力健, 姚秋凤, 朱锐熙, 卿立群, 秦照玲*

(海军军医大学生物医学防护教研室, 上海市医学生物防护重点实验室, 上海200433)

摘要: 登革热是一种由登革病毒(dengue virus, DENV)感染引起的蚊媒传染病, 主要在热带、亚热带地区呈高发态势。全球每年约有320万感染病例, 死亡2.2万例, 是较为严重的全球性公共卫生问题。由于各种血清型病毒之间的交叉保护力弱以及存在抗体依赖性增强感染现象, 登革热疫苗的预防效果有限, 且尚无特效治疗药物。因此, 研究开发新型抗DENV感染药物迫在眉睫。迄今为止, 学术界已针对DENV感染开展了多种药物和候选化合物的抗病毒活性研究。本文对这些候选药物和化合物的种类进行分类, 并对其研究进展和局限性展开综述。

关键词: 登革病毒; 病毒感染; 黄病毒; 抗病毒药物

Research progress on drugs against dengue virus infection

GAO Yaqi, ZHANG Lijian, YAO Qiufeng, ZHU Ruixi, QING Liqun, QIN Zhaoling*

(Department of Medical Biodefense, Naval Medical University, Shanghai Key Laboratory of Medical Biodefense, Shanghai 200433, China)

Abstract: Dengue fever is a mosquito-borne infectious disease caused by dengue virus (DENV) infection, mainly in tropical and subtropical areas. Every year, there are about 3.2 million infections and 22 000 deaths worldwide, so dengue virus infection is a serious global public health problem. Due to the heterologous infection of various serotypes and the increasing antibody dependence, the preventive effect of dengue vaccine is limited. There is no specific drug, so it is urgent to develop new anti-DENV infection drugs. Up to now, studies on antiviral activity of several drugs and candidate compounds have been carried out for DENV infection. In this paper, we classify the types of these candidate drugs and compounds, and their research progress and limitations are reviewed.

Key Words: dengue virus; viral infection; flavivirus; antiviral drugs

登革热是一种由登革病毒(dengue virus, DENV)感染引起的急性传染病, 临床症状包括轻度发热、重度登革出血热、登革休克综合征等, 主要通过伊蚊叮咬传播, 在热带、亚热带地区发病率较高。据估计, 全球约25亿人面临登革感染风险, 每年约有320万例DENV感染病例, 约2.2万

例死亡, 是较为严重的全球性公共卫生问题^[1]。DENV属于黄病毒科, 有四种不同的血清型(DENV-1、DENV-2、DENV-3和DENV-4)。它是一种含有正链核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)基因组的球形包膜病毒。其基因组RNA分为三部分: 5'非翻译区、开放阅读框区和3'非翻译区。其中, 开

收稿日期: 2024-03-01

第一作者: E-mail: gyq030606@163.com

*通信作者: E-mail: zhlingqin@smmu.edu.cn

放阅读框区主要编码一个多聚蛋白, 然后经细胞和病毒蛋白酶加工剪切, 形成三种结构蛋白(包膜蛋白E、膜蛋白prM/M和衣壳蛋白C)和七种非结构蛋白(non-structural protein, NS)(NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B和NS5)。目前, 登革热四价减毒活疫苗仅Dengvaxia®获得许可, 另有两种候选疫苗(TAK-003和TV003/TV005)在研, 其中TAK-003已经完成Ⅲ期临床试验, 并已经在多国获得批准使用, TV003/TV005仍在Ⅲ期临床试验中。由于DENV各种血清型之间的交叉保护力弱以及存在抗体依赖性增强感染现象, 疫苗预防效果有限, 且尚无特效治疗药物, 因此, 研究治疗DENV的特异性药物至关重要。

目前, 学术界对于候选药物的研究主要集中在核苷及其类似物、生物碱、胺类、类黄酮类、二蒽酮类、二苯基庚炔类、萜类、各类抑制剂, 以及部分暂无明确分类的物质。药物再利用策略为抗DENV感染药物的发现和利用提供了新的思路: 通过对已批准药物进行筛选, 发现新的适应症, 从而缩短新药研发周期, 加快抗DENV药物研究进度。一些抗病毒药物、抗疟药物、抗癌类药物以及中草药等均显示出抗DENV感染活性, 然而, 这些药物却普遍存在药效较低或缺乏临床试验结果支持等问题。本文就近些年所开展的抗DENV感染的多种候选药物相关研究进展及其局限性作一

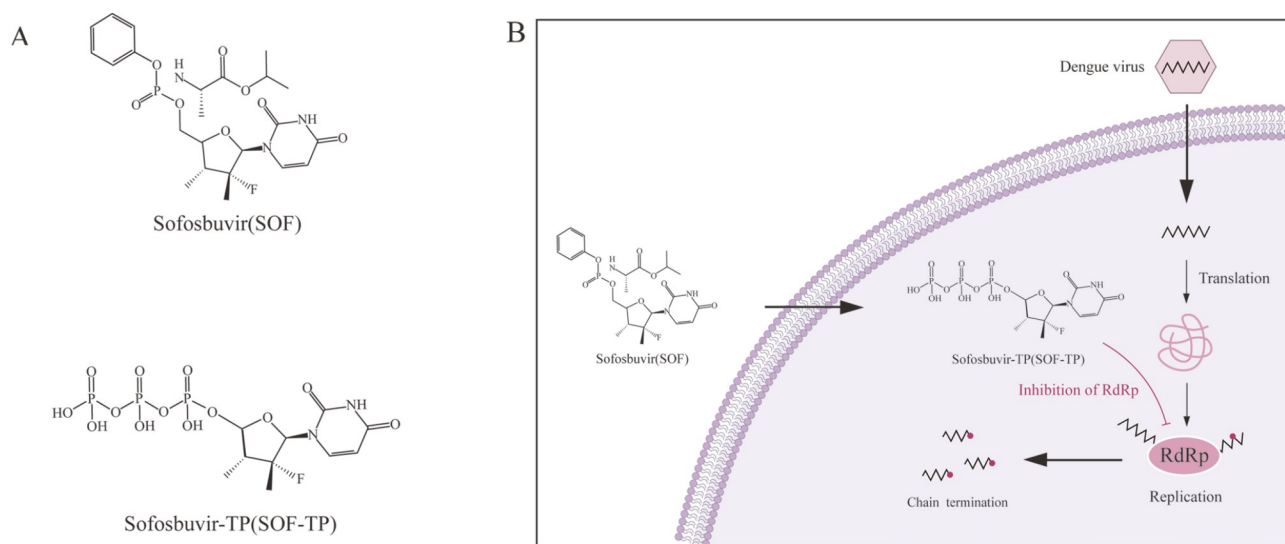
综述。

1 抗DENV药物介绍

1.1 核苷及其类似物

1.1.1 索非布韦

索非布韦(Sofosbuvir, SOF)是一种尿苷类似物, 是经美国食品药品监督管理局批准用于治疗丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染的药物。体外细胞实验显示, SOF可抑制人肝癌细胞(human hepatocellular carcinoma cell line, Huh-7)中的DENV感染, 且抑制病毒RNA合成[半数效应剂量(median effective dose, EC_{50})为 $9.9 \mu\text{mol/L}$]^[2]。研究显示, SOF的活性代谢物三磷酸类似物(sofosbuvir triphosphate, SOF-TP)(图1)能够靶向DENV NS5的RNA依赖性RNA聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)活性, 从而终止DENV RNA的合成, 抑制DENV感染活性^[3]。另一项研究显示, SOF在Huh7细胞中的磷酸化途径与传统理论中核苷类似物抗DENV RdRp的磷酸化机制不同: SOF不依赖5'-磷酸化代谢为活性物质, 而是在羧酸酯酶-1、组氨酸三合核苷酸结合蛋白1和核苷酸激酶的作用下代谢为SOF-TP, 从而发挥作用。而这一过程在其他动物细胞, 如仓鼠肾细胞BHK-21和猴肾Vero细胞中不存在。因而SOF在人肝癌细胞中的抗DENV作用是独特的, 可为抗



A: SOF和SOF-TP的结构式; B: SOF抗DENV感染机制

图1 SOF及其活性代谢物SOF-TP抗DENV感染机制

DENV感染的体内研究提供参考依据^[4]。

1.1.2 利巴韦林

利巴韦林(Ribavirin, RBV)是一种尿苷类似物, 具有广谱抗病毒活性, 主要用于人呼吸道合胞病毒和HCV感染治疗。体外实验发现, RBV具有抗DENV感染活性, 100 $\mu\text{mol/L}$ RBV(25 $\mu\text{g/mL}$)可使DENV载量降低3 $\log_{10}$ 以上, 但高浓度RBV(50 $\mu\text{g/mL}$)会抑制细胞生长^[5]。

1.1.3 虫草素(3'脱氧腺苷)

虫草素是冬虫夏草中的一种主要生物活性物质, 可显著降低Vero细胞中的DENV-2感染。研究显示, 虫草素在DENV-2感染后显著降低细胞中的E蛋白表达水平, 经非线性回归估算其 EC_{50} 为26.94 $\mu\text{mol/L}$; 用50 $\mu\text{mol/L}$ 和100 $\mu\text{mol/L}$ 虫草素处理24 h可将细胞上清中的病毒滴度由 2.3×10^5 分别降低至 3.4×10^4 和 6.9×10^2 FFU/mL, 提示虫草素可有效抑制子代病毒颗粒的释放^[6]。另外, 分子对接模型显示, 虫草素可与DENV-2 NS5的甲基转移酶(methyltransferase, MTase)和RdRp结构域结合, 通过抑制病毒RNA复制, 从而发挥抗DENV感染活性。虫草素的抗DENV活性具有血清型特异性, 仅对DENV-2和DENV-3有较好的抗病毒活性, 而对DENV-1和DENV-4的抗病毒效果无统计学意义, 提示其抗病毒机制可能存在结构特异性。作为一种候选药物前体, 虫草素具有成为抗DENV-2和DENV-3感染药物的潜力^[6]。

1.1.4 NITD-203

NITD-499是一种腺苷类似物, 研究发现其可抑制所有四种血清型的DENV感染, 但是在小鼠和大鼠动物实验中存在口服给药(25 mg/kg)后血浆内药物浓度较低(最大血浆内药物浓度均为0.27 $\mu\text{mol/L}$)且生物利用度较低(1%)的问题^[7]。将NITD-449与异丁酸共价连接获得NITD-203, 它是腺苷核苷药物前体, 口服NITD-203(25 mg/kg, 2次/d, 持续3 d)可使DENV感染的AG129小鼠病毒血症峰值下降到空白组的三十分之一, 大大提高了抗病毒活性和药代动力学特性, 从而改善了口服NITD-449后血浆药物含量和生物利用度较低的问题。然而, NITD-203具有线粒体毒性, 这一不良反应使得该化合物无法获得美国食品药品监督管理局批准。因此, NITD-203作为药

物前体, 用于抗DENV药物的开发仍需进一步优化完善^[8]。

1.1.5 巴拉比拉韦

巴拉比拉韦是4'-氮胞苷的三异丁酸酯前药。4'-氮胞苷是一种核苷类似物, 通过转化为5'-三磷酸衍生物抑制HCV复制酶, 阻断病毒RNA合成。研究发现, 它对Huh-7细胞、原代人巨噬细胞和树突状细胞中的DENV感染均具有抗病毒效果(EC_{50} 分别是1.9~11.0 $\mu\text{mol/L}$ 、1.3~3.2 $\mu\text{mol/L}$ 和5.2~6.0 $\mu\text{mol/L}$)^[9]。巴拉比拉韦还被用于一项双盲随机安慰剂对照试验, 该试验的对象是四组感染DENV且发烧时间少于48 h的成年男性患者, 其中两组为接受安慰剂的对照组, 另外两组分别接受1 500 mg和3 000 mg巴拉比拉韦治疗(2次/d, 连续5 d)^[10]。结果显示, 接受巴拉比拉韦治疗的患者出现的轻微不良反应与对照组相同, 说明该化合物在人体中的耐受性较好。然而, 在3 000 mg巴拉比拉韦治疗组中发现, 尽管在治疗后的前12 h内血药浓度与巴拉比拉韦的有效体外浓度相当, 但体内病毒感染标志物、退烧时间、血浆细胞因子浓度和全血转录谱却并未因治疗而降低, 说明该化合物在体内外的抗病毒活性存在一定差异。在针对该差异的一项后续研究中发现, 体内细胞因子对4'-氮胞苷向其三磷酸衍生物的转化有负面影响, 这也部分解释了巴拉比拉韦在临床试验中失败的原因^[9]。

1.2 生物碱

1.2.1 Sinococuline

多毛木防己是一种多年生攀援植物, 主要分布在热带和亚热带地区。有研究发现, 多毛木防己水提取物中含有一种活性成分——Sinococuline, 它能抑制DENV感染的细胞释放NS1, 保护小鼠免遭病毒的二次感染, 从而降低AG129小鼠血清病毒血症、组织病毒载量和促炎细胞因子的产生。研究显示, 每天用2.0 mg/kg的Sinococuline给药2次是保护严重感染DENV的AG129小鼠的最有效方法^[11]。这一研究表明, Sinococuline具有控制重症感染的潜力, 经进一步开发和临床试验, 将有望成为新型抗DENV感染药物。

1.2.2 小檗碱

小檗碱属于异喹啉类生物碱, 是东南亚和其他

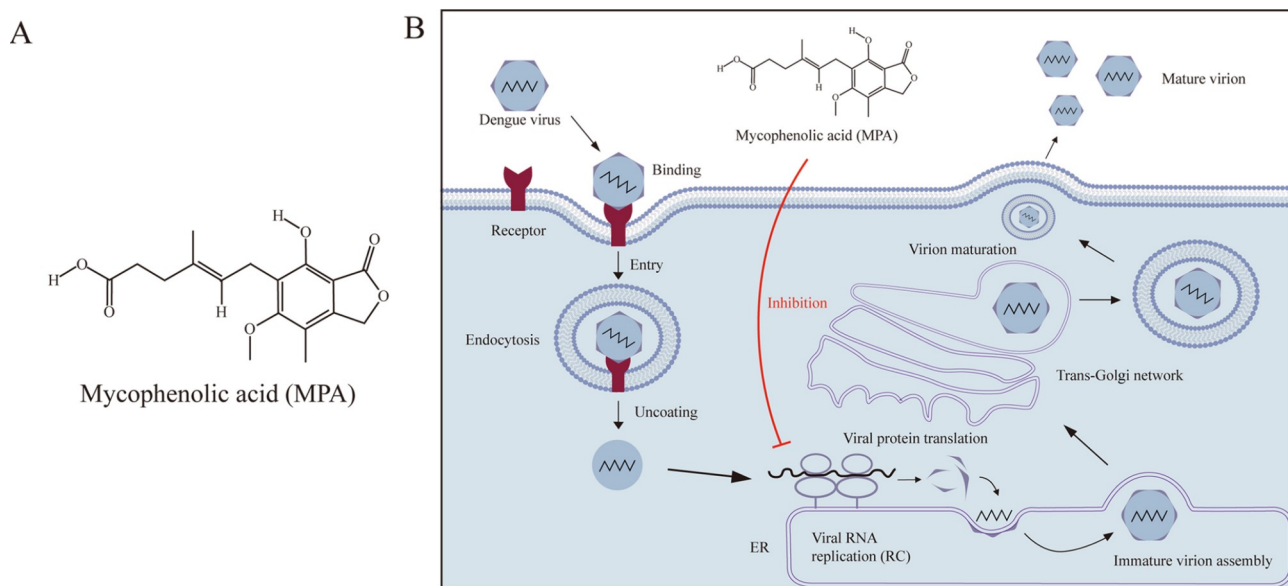
地区使用的一些传统药用植物中的主要成分。研究发现,小檗碱对DENV感染有双重作用:(1)具有直接杀病毒作用;(2)发挥细胞效应,有助于减少子代病毒颗粒的产生。对于小檗碱的直接杀病毒活性,病毒空斑实验结果表明,100 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱可使登革热病毒滴度下降1 $\log_{10}$ [半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC_{50})为42.87 $\mu\text{mol/L}$]^[12]。目前,关于小檗碱发挥细胞效应的机制还不明确,仍有待进一步研究。另外,小檗碱对寨卡病毒和基孔肯雅病毒也表现出一定的抗感染活性,表明小檗碱可能是一种广谱的抗病毒药物。

1.2.3 亚胺糖栗树精胺

亚胺糖栗树精胺是一种天然生物碱,不仅可以作为细胞葡萄糖苷酶抑制剂,还能减少有包膜的RNA和DNA病毒感染。亚胺糖栗树精胺对4种血清型的DENV均有显著的抗感染活性。其中,亚胺糖栗树精胺可抑制Huh-7和仓鼠肾细胞BHK-21细胞中DENV-2的感染, IC_{50} 分别为85.7 $\mu\text{mol/L}$ 和1 $\mu\text{mol/L}$ 。另外,按每天10~250 mg/kg的剂量治疗近交系小鼠,其存活率可达85%。经研究,亚胺糖栗树精胺的作用机制很可能是干扰病毒prM和E蛋白的折叠,使这些蛋白质结构不稳定从而影响包膜糖蛋白的加工^[5]。

1.3 免疫抑制剂——霉酚酸

霉酚酸(mycophenolic acid, MPA)是一种肌苷-5'-单磷酸脱氢酶的可逆性抑制剂,临床上通常用于预防器官移植的排异反应。有研究显示,MPA可通过抑制肌苷单磷酸脱氢酶,使细胞内鸟苷-5'-三磷酸耗竭,从而抑制DENV RNA的合成,最终抑制DENV感染(图2)。且在感染DENV-2的肝细胞中,它的效力比RBV高约65倍(MPA的 IC_{50} 为0.1 $\mu\text{g/mL}$,即0.31 $\mu\text{mol/L}$);在恒河猴肾细胞中,MPA和RBV抑制子代DENV-2复制的 IC_{50} 分别为 0.4 ± 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 和 50.9 ± 18 $\mu\text{mol/L}$ 。在临床药物治疗水平上,MPA(10 $\mu\text{g/mL}$,即30 $\mu\text{mol/L}$)可使病毒载量降低6 $\log_{10}$ 。研究显示,10 $\mu\text{g/mL}$ 的MPA具有50%的细胞生长抑制作用,而外源鸟苷的加入可完全逆转MPA的细胞毒性,这一作用已在三种肝癌细胞系(Huh-7、CRL8024和HepG2)中得到证实,且在这三种细胞系中,MPA均表现出比RBV更高的抗DENV感染活性^[5]。另外,有研究设计出了一种纳米递送平台硫化锌量子点,与MPA作用形成偶联物,能够在细胞中持续稳定地释放MPA。荧光酶素测定结果显示,与单纯MPA处理组[EC_{50} 为 1.229 ± 0.0814 $\mu\text{mol/L}$;半数致死量(median lethal dose, LD_{50})为 3.823 ± 1.134 $\mu\text{mol/L}$;安全指数(safety index, SI_{50} , LD_{50} 与 EC_{50} 的比值)为3.11]相



A: MPA结构式; B: MPA抗DENV感染的机制

图2 MPA抗DENV感染机制的模式图

比, 偶联物处理组的 $EC_{50}(4.543 \pm 0.0368 \mu\text{mol/L})$ 变化不大, 但 LD_{50} 和 $SI_{50}(1867 \pm 1.099 \mu\text{mol/L}$ 和410.9)显著上升, 这表明该偶联物比单纯MPA更加安全有效。这一创新性的纳米递送平台设计为MPA抗DENV感染药物的开发提供了新思路^[13]。

另一项研究显示, DENV感染能诱导细胞自噬, 且其复制依赖于自噬小体的形成, 而MPA可通过抑制参与自噬小体形成的自噬相关基因的表达, 以及自噬标志物微管相关蛋白1A/1B-轻链3表达和自噬接头蛋白p62降解, 阻止细胞自噬, 从而抑制DENV复制^[14]。

1.4 胺类化合物——4-羟苯基视黄酰胺

4-羟苯基视黄酰胺(4-hydroxyphenylretinamide, 4-HPR)是一种抗癌药物。研究显示, 它也具有一定的抗DENV活性。主要是通过抑制DENV NS5蛋白和宿主核转运蛋白importin- α/β 1之间的相互作用来抑制DENV感染活性, 并且在被DENV感染的Huh-7细胞中可显著抑制所有血清型DENV的NS5蛋白的核聚集。在动物实验中, 4-HPR也可有效降低小鼠病死率以及组织中的病毒载量^[3]。4-HPR对其他黄病毒(如HCV、西尼罗病毒)的复制也具有抑制作用, 提示其可作为广谱抗病毒药物, 为抗DENV感染药物的开发提供新思路。

1.5 类黄酮化合物——水飞蓟素和黄芩素

水飞蓟素和黄芩素分别是从小飞蓟根和黄芩根中提取或分离的类黄酮类化合物。研究显示, 这两种化合物对四种血清型DENV均具有良好的抗病毒作用, 可显著抑制Vero细胞中的DENV感染, 如水飞蓟素和黄芩素对DENV-3感染的抑制率分别达到95.13%和99.78%^[15]。二者在Vero细胞中的半数最大细胞毒性浓度(median cytotoxic concentration, CC_{50})分别为749.70 $\mu\text{g/mL}$ 和271.03 $\mu\text{g/mL}$, 说明该细胞对水飞蓟素具有较好的耐受性, 而对黄芩素的耐受性相对较差。从抗病毒机制来看, 水飞蓟素主要通过病毒表面蛋白直接相互作用, 从而阻止病毒进入细胞, 且其对HCV、基孔肯雅病毒、肠道病毒71型均表现出较好的抗病毒活性; 黄芩素则对DENV有直接杀病毒作用, 可通过灭活胞外DENV-3和新释放的子代病毒, 有效阻断病毒与Vero细胞的黏附, 且黄芩素抑制病毒黏附的效果要

优于水飞蓟素。该研究表明, 水飞蓟素和黄芩素具有抗DENV感染活性并可作为可能的药物前体进一步开发。

1.6 酯类化合物——苦木素19

长叶苜蓿是一种传统草药, 是著名的壮阳药和民间治疗疟疾的药物之一。苦木素19是长叶苜蓿的主要成分之一, 可抑制DENV-2 E和NS1蛋白表达, 而且可以直接靶向NS5 RdRp结构域, 阻断病毒复制, 从而发挥抗DENV-2感染作用(EC_{50} 为 $0.39 \pm 0.02 \mu\text{mol/L}$)^[16]。作为一种新型有效的抗DENV感染的药物前体, 其安全性和有效性仍需进一步通过开展动物实验和临床试验来研究。

1.7 二萜酮类化合物——金丝桃素

金丝桃素是一种从天然中草药贯叶连翘中提取的二萜酮类化合物, 具有抗病毒、抗炎、抗肿瘤和抗抑郁等作用。有研究显示, 金丝桃素可以抑制BHK-21细胞中DENV-2 RNA的复制, 其 EC_{50} 为3.544 $\mu\text{mol/L}$, 且蛋白免疫印迹结果显示金丝桃素可抑制DENV-2 E蛋白的表达, 但其抗DENV感染的具体作用机制有待进一步阐明^[17]。

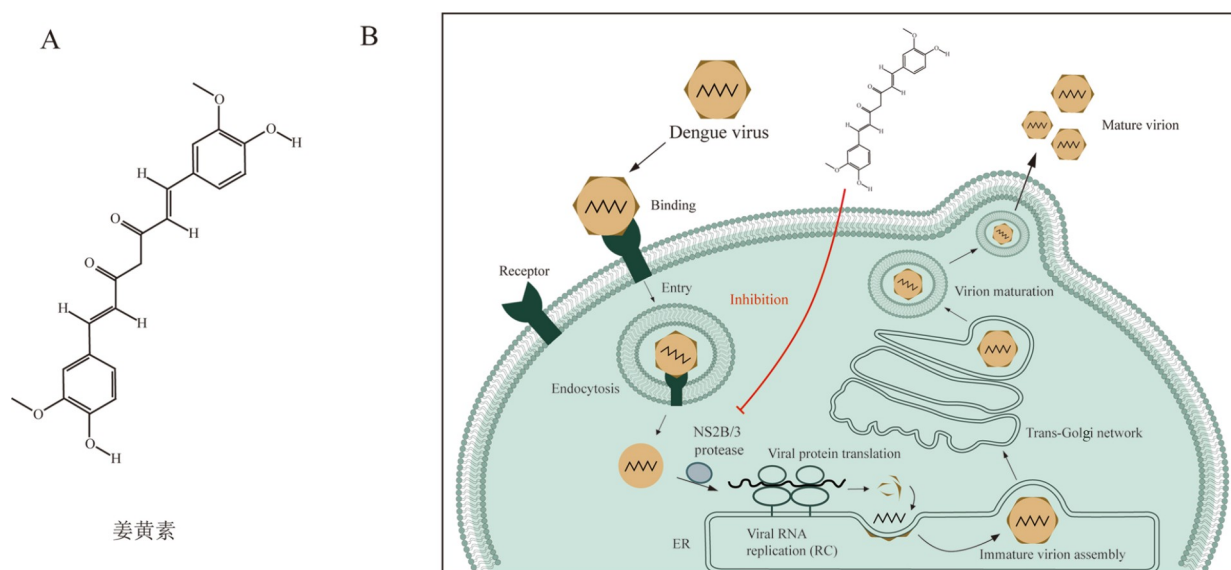
1.8 二苯基庚烷类化合物——姜黄素

姜黄素是一种二苯基庚烷类化合物, 是中国和印度用于治疗多种疾病的传统药物, 也是一种已使用千年的食品添加剂。近年来, 有研究发现姜黄素具有抗DENV-2感染活性, 其抗病毒活性可能不是直接针对病毒本身, 而是可能通过对细胞骨架、泛素-蛋白酶体系统或细胞凋亡等多种细胞生理活动的调节, 使病毒蛋白在细胞内积累, 从而发挥抗DENV感染作用。在被DENV感染的BHK-21细胞中, 姜黄素的 CC_{50} 为29.5 $\mu\text{mol/L}$ 、 IC_{50} 为11.51 $\mu\text{mol/L}$ ^[18]。另一项研究显示, 姜黄素可作为一种抑制剂, 破坏DENV NS2B-NS3蛋白酶的构象, 抑制蛋白酶活性, 从而抑制DENV感染(图3)^[19]。由于姜黄素的溶解度和细胞摄取率较低, 其药物开发受阻, 虽然通过纳米乳化技术产生的纳米姜黄素克服了这些问题, 但后者表现出较高的细胞毒性。

1.9 萜类化合物

1.9.1 罗汉松型二萜

石栗的果实石栗子和其枝叶都是传统中药材, 主要成分含有脂肪酸类和萜类化合物, 有镇痛、



A: 姜黄素的化学式; B: 姜黄素通过抑制NS2B/3蛋白酶活性来抑制DENV感染活性

图3 姜黄素抑制DENV感染的机制

止血、抗炎、抗病毒和抗肿瘤等功效。罗汉松型二萜(3 α ,5 β ,10 α -13-methoxypodocarpa-8,11,13-triene-3,12-diol, MPTD)是一种从石栗枝叶中分离得到的萜类化合物。体外研究显示, MPTD能够显著抑制Vero细胞中的DENV RNA合成和E蛋白表达, 且对四种血清型DENV感染均有抑制作用(EC_{50} 分别为 2.72 ± 0.39 、 10.99 ± 5.18 、 18.72 ± 0.21 和 $0.48 \pm 0.28 \mu\text{mol/L}$)^[20]。在Vero细胞和Huh-7细胞中, MPTD的细胞毒性较小, 其 CC_{50} 均大于 $200 \mu\text{mol/L}$, 表明MPTD在抑制DENV感染方面具有潜在的应用价值。

1.9.2 穿心莲内酯

穿心莲内酯是从药用植物穿心莲中分离出来的一种二萜类化合物。体外研究显示, 在蚊细胞系C6/36中穿心莲内酯最大无毒剂量为 $15.62 \mu\text{g/mL}$, 该剂量的穿心莲内酯对DENV感染的抑制率为97.23%。计算机分子对接分析显示, 穿心莲内酯可能是通过与DENV NS5蛋白相互作用而发挥抗DENV感染活性^[21]。另一项研究显示, 穿心莲内酯可通过显著下调宿主未折叠蛋白反应中的关键蛋白葡萄糖调节蛋白78, 从而抑制DENV复制^[22]。

1.10 蛋白酶抑制剂——奈非那韦

奈非那韦是一种强效蛋白酶抑制剂, 对I型人免疫缺陷病毒具有抗病毒活性。利用计算机辅助药物设计, 通过分子对接计算和分子动力学模拟

研究, 发现奈非那韦可以靶向作用于DENV NS2B-NS3蛋白酶, 进一步通过体外实验, 证实了奈非那韦对Vero细胞中的DENV感染具有较好的抗病毒活性(EC_{50} 为 $3.5 \pm 0.4 \mu\text{mol/L}$), 但其在体内外研究中抗DENV感染的作用机制仍有待进一步阐明^[5]。

1.11 受体抑制剂——布里瓦尼

布里瓦尼是血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)的抑制剂。研究发现, DENV感染可诱导体内VEGFR2增加, 且VEGFR2激动剂可促进DENV复制, 故推测VEGFR2抑制剂能够抑制DENV感染^[23]。通过实验筛选, 获得抗DENV活性最强且细胞毒性最低(IC_{50} 为 $2.5 \mu\text{mol/L}$, 且对BHK-21和人胚肾293T细胞均无细胞毒性)的布里瓦尼。布里瓦尼主要作用于DENV感染早期, 通过抑制VEGFR2与蛋白酪氨酸磷酸酶1B的直接互作来阻止腺苷酸依赖的蛋白激酶去磷酸化, 增加脂质合成, 相对抑制了DENV-2对细胞脂质的消耗, 改善了细胞内的脂质环境, 最终抑制DENV-2感染活性。在动物实验中发现, 通过口服布里瓦尼(每天 20 mg/kg 和每天 50 mg/kg)对感染DENV-2的缺乏I型干扰素受体小鼠进行治疗, 7 d后, 小鼠的存活率分别为50%和83.3%, 说明布里瓦尼可明显提高DENV-2感染小鼠的存活率。

另外, VEGFR2是高度保守的宿主蛋白, 发生

突变的可能性较低, 因此, 针对不同血清型DENV感染, 布里瓦尼仍可以通过抑制VEGFR2发挥抗病毒作用。该研究为抗DENV药物的研发提供了具有良好应用前景的药物前体。

1.12 α -葡萄糖苷酶抑制剂

1.12.1 塞戈西韦

塞戈西韦是一种亚氨基糖类物质, 是内质网 α -葡萄糖苷酶抑制剂。塞戈西韦对四种血清型DENV感染均有抑制作用(EC_{50} 范围为0.22~0.68 $\mu\text{mol/L}$)^[5]。它不仅能抑制DENV基因组的复制, 还能诱导DENV NS1错误折叠并在内质网中积累, 激活未折叠蛋白反应, 从而调节细胞内促生存蛋白和促凋亡蛋白的水平, 促进细胞存活^[24]。体外动物模型研究显示, 在DENV感染的AG129小鼠模型中, 塞戈西韦(按照75 mg/kg连续3 d给药)治疗可将小鼠体内的病毒血症水平降低88%, 有效提高了小鼠的存活率^[5]。另外, 在一项名为CLADEN的临床试验中, 与接受安慰剂的对照组相比, 在患者感染DENV后的前6 h内接受400 mg塞戈西韦, 随后, 每12 h接受200 mg塞戈西韦(共9次)治疗, 可减少患者血清中DENV NS1蛋白含量, 但是这种抗DENV感染活性并不显著, 并且与小鼠模型研究中的抗DENV感染效果差距较大, 这可能是因为该药物的抗DENV活性具有一定的病毒株和细胞类型依赖性^[25]。另一项体外动物模型研究显示, 与在DENV感染早期接受塞戈西韦治疗相比, 当在病毒血症高峰期开始接受塞戈西韦治疗时, 需要更大剂量的塞戈西韦才能降低病毒血症水平, 提示在DENV感染早期尽早采用塞戈西韦治疗的重要性^[5]。

根据已开展的塞戈西韦抗DENV感染的I期临床试验, 该试验采取随机双盲安慰剂对照, 结果显示, 患者对塞戈西韦的耐受性较好, 但患者体内的病毒载量无明显降低, 发热症状未明显改善。目前尚未展开II期临床试验^[26]。

1.12.2 CM-10-18

CM-10-18是一种抑制宿主细胞 α -葡萄糖苷酶I和II的亚糖, 通过去除DENV包膜糖蛋白N-连接寡糖中3个末端的葡萄糖, 影响后续的糖蛋白折叠和病毒颗粒组装, 从而抑制DENV感染。研究发现, CM-10-18不仅在体外实验中显示出良好的抗DENV感染活性, 在体内实验中, 它也能降低病毒

血症, 当使用剂量为100 mg/kg时, 在大鼠体内显示出良好的药代动力学特征, 并且当CM-10-18与RBV联合使用时, 其抗DENV感染活性比单独使用利巴韦林的活性更强^[27]。

1.13 其他

1.13.1 RK-0404678

RK-0404678是从一个小分子化合物库中筛选到的具有抗DENV感染活性的物质。体外研究显示, RK-0404678可通过靶向DENV RdRp结构域, 从而抑制四种血清型DENV感染, 该化合物抑制DENV NS5蛋白功能的 IC_{50} 分别为46.2 $\pm$ 2.8 $\mu\text{mol/L}$ 、201 $\pm$ 4.9 $\mu\text{mol/L}$ 、287 $\pm$ 11 $\mu\text{mol/L}$ 和445 $\pm$ 23 $\mu\text{mol/L}$; 且DENV-2连续传代9次后, 病毒没有出现耐药性突变, 说明RK-0404678对DENV-2具有较高的耐药屏障^[28]。

1.13.2 蘑菇提取物

一些马来西亚种蘑菇的水提取物具有抗DENV感染活性而不显示细胞毒性。有研究发现, 一种从台湾特有的菌类牛樟芝中分离得到的展库酸C和4,7-二甲氧基-5-甲基-1,3-苯并二恶茂具有抗DENV感染活性, 在体外感染的人成巨核细胞系Meg-01中, 这两种物质通过增强细胞内干扰素 α 的表达和白介素6、白介素8的分泌, 从而抑制DENV复制^[29]。

1.13.3 Diasarone- I

Diasarone- I是一种从石菖蒲的乙醇提取物中分离得到的物质。研究显示, 它对DENV-1、DENV-2和DENV-4均有抑制作用, EC_{50} 分别为4.27、4.50和4.54 $\mu\text{mol/L}$, 并且 CC_{50} 均大于80 $\mu\text{mol/L}$ 。此外, 计算机分子对接分析显示, Diasarone- I可能通过抑制DENV NS5的2'-O-甲基转移酶, 从而抑制DENV复制^[30]。

2 展望

综上, 经蚊媒传播的DENV感染是当前亟待解决的全球公共卫生问题, 学术界正在对抗DENV感染的候选药物和化合物进行广泛研究(详见表1)。目前, 处于实验研究阶段的抗DENV感染药物普遍存在抗病毒机制不明、临床试验效果不佳等问题。由于药物研发是一个漫长、严格且耗费巨大的过程, 药物再利用策略为抗DENV感染药物的发现提供了新思路。本篇综述涵盖了数个已获批药物,

表 1 抗DENV感染药物及化合物

类别	药物或化合物名称	对DENV的作用机制	参考文献
核苷及核苷类似物	索非布韦	抑制DENV NS5 RdRp	[3]
	利巴韦林	消耗鸟嘌呤核酸	[5]
	虫草素(3'脱氧腺苷)	抑制DENV NS5 RdRp	[6]
	NITD-203	抑制DENV NS5 RdRp	[7]
	巴拉比拉韦	抑制DENV NS5 RdRp	[5]
生物碱	Sinococuline	抑制NS1释放	[11]
	小檗碱	直接杀病毒作用和细胞效应	[12]
	亚胺糖栗树精胺	干扰prM和E蛋白折叠	[5]
免疫抑制剂	霉酚酸	消耗鸟嘌呤核酸	[5]
胺类化合物	4-羟苯基视黄酰胺	抑制DENV NS5蛋白和宿主核转运蛋白importin- α / β 1之间的相互作用	[3]
类黄酮化合物	水飞蓟素	阻止病毒进入细胞	[15]
	黄芩素	灭活胞外子代病毒	[15]
酯类化合物	苦木素19	抑制病毒E和NS1蛋白表达; 抑制DENV NS5 RdRp	[16]
二萜酮类化合物	金丝桃素	抑制病毒RNA合成和E蛋白表达	[17]
二苯基庚烃类化合物	姜黄素	使细胞内病毒蛋白聚集	[18]
萜类化合物	罗汉松型二萜	抑制病毒RNA合成和E蛋白表达	[20]
	穿心莲内酯	与DENV NS5蛋白相互作用; 下调GRP78蛋白水平	[22]
蛋白酶抑制剂	奈非那韦	抑制NS2B-NS3蛋白酶	[5]
受体抑制剂	布里瓦尼	改善胞内脂质环境	[23]
α -葡萄糖苷酶抑制剂	塞戈西韦	使NS1在内质网中积累	[24]
	CM-10-18	干扰病毒糖蛋白折叠	[5]
其它	RK-0404678	抑制DENV NS5 RdRp	[28]
	蘑菇提取物	增强细胞内IFN- α 的表达和IL-6、IL-8的分泌	[29]
	Diasarone- I	抑制DENV NS5的2'-O-甲基转移酶	[30]

对这些药物的再利用可以加快抗DENV药物研制周期。然而, 迄今为止, 尚无一种候选药物和化合物对人类感染DENV的治疗具有显著疗效。因此, 有必要进一步拓宽候选药物的来源, 筛选更多具有应用前景的药物前体, 为新型抗DENV感染药物研发提供新靶标。

参考文献

[1] Roy SK, Bhattacharjee S. Dengue virus: Epidemiology, biology, and disease aetiology. *Can J Microbiol*, 2021, 67 (10): 687-702

[2] Xu HT, Colby-Germinario SP, Hassounah SA, et al. Evaluation of Sofosbuvir (β -D-2'-deoxy-2'- α -fluoro-2'- β -C-methyluridine) as an inhibitor of dengue virus replication. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6345-6355

[3] Sreekanth GP. Perspectives on the current antiviral developments towards RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) and methyltransferase (MTase) domains of

dengue virus non-structural protein 5 (DENV-NS5). *Eur J Med Chem*, 2023, 256: 115416-115427

[4] Kurosawa M, Kato F, Hishiki T, et al. Sofosbuvir suppresses the genome replication of DENV1 in human hepatic huh7 cells. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(4): 2022-2036

[5] Radi M. Drug repurposing approaches to fight dengue virus infection and related diseases. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2018, 23(3): 997-1019

[6] Panya A, Songprakhon P, Panwong S, et al. Cordycepin inhibits virus replication in dengue virus-infected vero cells. *Molecules*, 2021, 26(11): 3118

[7] Chen YL, Yin Z, Lakshminarayana SB, et al. Inhibition of dengue virus by an ester prodrug of an adenosine analog. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(8): 3255-3261

[8] Nncube NB, Ramharack P, Soliman MES. Using bioinformatics tools for the discovery of dengue RNA-dependent RNA polymerase inhibitors. *PeerJ*, 2018, 6: e5068

[9] Chen YL, Abdul Ghafar N, Karuna R, et al. Activation of peripheral blood mononuclear cells by DENGUE virus

- infection depotentiates balapiravir. *J Virol*, 2014, 88(3): 1740-1747
- [10] Nguyen NM, Tran CNB, Phung LK, et al. A randomized, double-blind placebo controlled trial of balapiravir, a polymerase inhibitor, in adult dengue patients. *J Infect Dis*, 2013, 207(9): 1442-1450
- [11] Shukla R, Ahuja R, Beesetti H, et al. Sinococuline, a bioactive compound of *Cocculus hirsutus* has potent anti-dengue activity. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 1026-1038
- [12] Ratanakomol T, Roytrakul S, Wikan N, et al. Berberine inhibits dengue virus through dual mechanisms. *Molecules*, 2021, 26(18): 5501-5516
- [13] Dungdung R, Bayal M, Valliyott L, et al. A slow, efficient and safe nanoplatfrom of tailored ZnS QD-mycophenolic acid conjugates for *in vitro* drug delivery against dengue virus 2 genome replication. *Nanoscale Adv*, 2020, 2(12): 5777-5789
- [14] Manchala NR, Dungdung R, Trivedi P, et al. Mycophenolic acid (MPA) modulates host cellular autophagy progression in sub genomic dengue virus-2 replicon cells. *Microb Pathog*, 2019, 137: 103762-103773
- [15] Low ZX, OuYong BM, Hassandarvish P, et al. Antiviral activity of silymarin and baicalein against dengue virus. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 21221-21233
- [16] He X, Zheng Y, Tian C, et al. Quassinoids from *Eurycoma longifolia* with antiviral activities by inhibiting dengue virus replication. *Phytomedicine*, 2023, 110: 154650-154660
- [17] 黄慧星, 郑学礼. 金丝桃素抗登革病毒活性研究. *中国病原生物学杂志*, 2023, 18(8): 886-891, 898
- [18] Padilla-S L, Rodríguez A, Gonzales MM, et al. Inhibitory effects of curcumin on dengue virus type 2-infected cells *in vitro*. *Arch Virol*, 2014, 159(3): 573-579
- [19] Lim L, Dang M, Roy A, et al. Curcumin allosterically inhibits the dengue NS2B-NS3 protease by disrupting its active conformation. *ACS Omega*, 2020, 5(40): 25677-25686
- [20] 汪芳, 严欢, 姚债文, 等. 天然罗汉松二萜体外抗登革病毒活性研究. *药学报*, 2021, 56: 793-798
- [21] Kaushik S, Dar L, Kaushik S, et al. Identification and characterization of new potent inhibitors of dengue virus NS5 proteinase from *Andrographis paniculata* supercritical extracts on in animal cell culture and *in silico* approaches. *J Ethnopharmacol*, 2021, 267: 113541-113548
- [22] Paemanee A, Hitakarun A, Wintachai P, et al. A proteomic analysis of the anti-dengue virus activity of andrographolide. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 322-332
- [23] Wan Y, Wu W, Wan Y, et al. Brivanib alaninate inhibited dengue virus proliferation through VEGFR2/AMPK pathway. *Pharmacol Res*, 2021, 170: 105721-105731
- [24] Rathore APS, Paradkar PN, Watanabe S, et al. Celgosivir treatment misfolds dengue virus NS1 protein, induces cellular pro-survival genes and protects against lethal challenge mouse model. *Antiviral Res*, 2011, 92(3): 453-460
- [25] Low JG, Sung C, Wijaya L, et al. Efficacy and safety of celgosivir in patients with dengue fever (CELADEN): a phase 1b, randomised, double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept trial. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(8): 706-715
- [26] Evans DeWald L, Starr C, Butters T, et al. Iminosugars: a host-targeted approach to combat *Flaviviridae* infections. *Antiviral Res*, 2020, 184: 104881-104901
- [27] Chang J, Schul W, Butters TD, et al. Combination of α -glucosidase inhibitor and ribavirin for the treatment of dengue virus infection *in vitro* and *in vivo*. *Antiviral Res*, 2011, 89(1): 26-34
- [28] Shimizu H, Saito A, Mikuni J, et al. Discovery of a small molecule inhibitor targeting dengue virus NS5 RNA-dependent RNA polymerase. *PLoS Negl Trop Dis*, 2019, 13(11): e0007894
- [29] Chen YJ, Tsao YC, Ho TC, et al. Antrodia cinnamomea suppress dengue virus infection through enhancing the secretion of interferon-alpha. *Plants*, 2022, 11(19): 2631
- [30] Yao X, Ling Y, Guo S, et al. Inhibition of dengue viral infection by diasarone-I is associated with 2'O methyl-transferase of NS5. *Eur J Pharmacol*, 2018, 821: 11-20