

·学科进展·

# 抗病毒抗生素 17997 体内外抗病毒作用及抑制机制的研究

陶佩珍 姜志贤 姚天爵

(中国医学科学院,中国协和医科大学医药生物技术研究所,北京 100050)

**[摘要]** 17997 是由我国云南省思茅地区分离的一株链霉菌所产生的广谱抗病毒抗生素,为非核苷类化合物。在细胞培养内,对单纯疱疹病毒 I 型、II 型,人免疫缺陷病毒 I 型,水疱性口炎病毒及柯萨奇病毒 B<sub>3</sub> 均有明显抑制作用,IC<sub>50</sub> 在微摩尔或低于微摩尔水平。体内实验对小鼠单纯疱疹病毒 I 型及 II 型脑炎有统计显著性的治疗效果,可降低死亡率,延长小鼠平均生存日;对恒河猴的猴免疫缺陷病毒急性感染,17997 预防加治疗给药可降低血浆病毒滴度;对家兔单纯疱疹病毒 I 型角膜炎有统计意义的治疗效果;对豚鼠单纯疱疹病毒 I 型皮肤感染及乳牛乳头纤维瘤均有治疗作用。17997 无直接灭活病毒作用,不影响病毒吸附及释放,对病毒核酸聚合酶无抑制活性,可能作用于病毒复制循环的早期阶段。

**[关键词]** 抗病毒抗生素,单纯疱疹病毒,人免疫缺陷病毒

病毒性急性传染病如艾滋病、病毒性乙型肝炎、病毒性丙型肝炎、流行性出血热、流感、婴幼儿病毒性肺炎、病毒性心肌炎等,居传染病之首,在全世界广泛流行,对人类健康形成莫大的威胁。虽然疫苗在控制病毒性疾病方面发挥了巨大作用,但有的病毒病如艾滋病、流感,由于病毒易突变,给疫苗研究带来很大困难;病毒性乙型肝炎,虽有疫苗,但由于感染人数太多(全球有 3 亿人携带病毒,中国占 1/3 以上),研究高效低毒的抗病毒药物成为当今国际热点。自 80 年代初期至今,抗病毒药物已有了突飞猛进的发展,目前临床上应用的抗病毒药物已近 30 多种,其中以抗艾滋病的药物发展最快,已上市 11 种,其次为抗疱疹病毒药物也已上市 11 种<sup>[1-3]</sup>。这些药物绝大多数为核苷类药物(如抗艾滋病的首选药叠氮胸苷,抗疱疹病毒感染的首选药无环鸟苷等),其作用靶点均为病毒复制过程中的关键酶,如人免疫缺陷病毒的逆转录酶、疱疹病毒的 DNA 合成酶,它们以酶反应底物类似物的形式与正常底物竞争,掺入病毒核酸链,造成病毒核酸复制中断,发挥抑制病毒作用。这些药物的共同缺点是易产生耐药毒

株,抗病毒谱窄,不能根除病毒,有的毒性大,价格高昂或药理特性不理想。因此,当前亟待加强新药的研究与开发。

我们在国家自然科学基金重大项目“云南放线菌生态分布及其资源前期开发”的研究中,由云南省思茅地区分离到一株链霉菌,其发酵产物在细胞培养内具有广谱抗病毒活性,该抗生素暂定为 17997。现已分离纯化黄色结晶,纯度达 95% 以上,为非核苷类化合物。对 17997 的研究结果综述如下。

## 1 17997 在细胞培养内抗病毒活性<sup>[4]</sup>

### 1.1 17997 的抗病毒谱

17997 在不同细胞培养内对单纯疱疹病毒 I 型(HSV-I),单纯疱疹病毒 II 型(HSV-2),水疱性口炎病毒(VSV),柯萨奇病毒(Cox B<sub>3</sub>)及人免疫缺陷病毒(HIV-1)均有显著抑制活性,且治疗指数(TD<sub>50</sub>/IC<sub>50</sub>)较宽(表 1,2)。

### 1.2 比较 17997 与阿昔洛韦(ACV)对 HSV-1 的抑制作用

阿昔洛韦是目前临床治疗疱疹病毒感染的首选

国家自然科学基金重大项目,批准号 39390012.

本文于 1998 年 10 月 19 日收到.

药。从表 3 列出的两药 IC<sub>50</sub> 的比较显示,无论是我们实验室的结果或文献结果,应用相同细胞及相同方法,17997 之 IC<sub>50</sub> 较 ACV 强。

## 2 17997 在体内抗病毒疗效

### 2.1 17997 治疗小鼠单纯疱疹病毒性脑炎的疗效

昆明种小鼠腹腔感染 HSV-1 或 HSV-2,感染后

给予 17997 不同途径及不同给药方案治疗。观察每组小鼠存活率及平均存活日。将小鼠分为阿昔洛韦阳性对照组、病毒感染组及药物毒性组,结果显示,17997 体内抗 HSV-1 及 HSV-2 感染疗效突出,明显优于 ACV,存在量效关系;腹腔给药优于皮下给药,一日两次给药优于一日一次给药。

表 1 17997 在细胞培养内抗病毒活性

病毒	细胞培养	IC <sub>50</sub> <sup>1)</sup> /μM·L <sup>-1</sup>			TD <sub>50</sub> <sup>2)</sup> /μM·L <sup>-1</sup>		TD <sub>50</sub> /IC <sub>50</sub>
		细胞病变法	蚀斑法	P24	MIT	HTdR	
单纯疱疹病毒 I 型	VERO	2.03 ± 0.95	0.020		182		9 100
单纯疱疹病毒 II 型	VERO	4.00 ± 1.84	0.024		182		7 583
水疱性口炎病毒	VERO	1.52 ± 1.68	0.38		182		479
柯萨奇病毒 B <sub>3</sub>	VERO	3.35 ± 2.77	1.13		182		161
人免疫缺陷病毒 I 型	C8166			0.036		40	1 111
	H9 <sup>3)</sup>			0.048		3.2	67
柯萨奇病毒 B <sub>6</sub>	VERO	—	—				
流感病毒甲型	MDCK	—	—				
流感病毒乙型	MDCK	—	—				

1)IC<sub>50</sub>为抑制 50% 病毒复制的药物浓度,2)TD<sub>50</sub>为抑制 50% 细胞活性的药物浓度,3)H9 为 HIV-1 慢性感染细胞株。

表 2 17997 抗 HIV-1 的 IC<sub>50</sub>

细胞	HIV-1 病毒株	IC <sub>50</sub> /μM	TD <sub>50</sub> /μM <sup>1)</sup>	TD <sub>50</sub> /TC <sub>50</sub>
C8166	III B	0.036	40	1111
H9	III B	0.048	3.2	66.7
H9 <sup>2)</sup>	III B	0.15	0.71	4.7
PBMC	O18a	0.018	0.018	1
PBMC	O18c <sup>3)</sup>	0.022	0.018	0.83

1)TD<sub>50</sub>为<sup>3</sup>H 脱氧胸苷参入法,2)H9 为 HIV-1 慢性感染细胞株,3)O18c 为 HIV-1 之 AZT 耐药毒株。

表 3 17997 与阿昔洛韦(ACV)抗 HSV-1 活性的比较

药物	细胞	实验方法	IC <sub>50</sub> /μM	TD <sub>50</sub> /IC <sub>50</sub>	备注
17997	VERO	蚀斑法	0.02	9100	本室实验
ACV	VERO	蚀斑法	8.48	> 519	本室实验
ACV	VERO	蚀斑法	0.089—6.7		文献资料

### 2.2 17997 对 SIV 在恒河猴体内增殖的抑制作用

SIV 猴实验感染模型是当前评价抗 HIV 药物体内疗效最好的动物模型。雄性恒河猴静脉感染 2MID<sub>100</sub> SIVmac251 1.0 mL/只,感染前一天及感染前 15 min 预先腹腔(ip)注射 17997,以后每天 ip 给药一次,共 22 d,停药后观察六周。感染猴随机分 5 组。其中治疗组每组 3 只,ip 给药两组,皮下(ac)给药两组,分别为 0.06 mg/kg 及 0.12 mg/kg 两个剂量。对照组为 4 只猴,未给任何处理。感染后,间隔一定时间连续采血,血浆病毒滴度的动态变化见图 1,图 1(a)为皮下 ac 给药组,图 1(b)为 ip 给药组。结果显示 ip 给药优于 ac 给药,且有量效关系<sup>[5]</sup>。

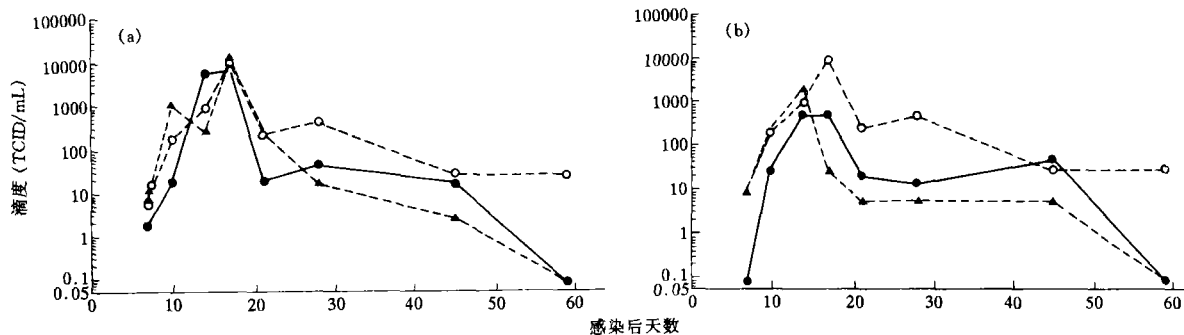


图 1 17997 组和对照组血浆病毒水平动态

(a) 17997—●—sc 0.06 mg/kg, —▲—0.12 mg/kg, —○—对照组 (b) 17997—●—IP 0.06 mg/kg, —▲—0.12 mg/kg, —○—对照组

### 2.3 17997 治疗家兔 HSV-1 角膜炎及豚鼠 HSV-1 皮肤感染的疗效

实验结果均显示统计显著性疗效。

### 2.4 17997 治疗乳牛乳头皮肤纤维瘤的疗效

牛乳头瘤病毒与人乳头瘤病毒同属乳头瘤病毒,后者无体内外模型,只能用牛乳头状瘤病毒的抑制活性,选择 12 头均患单个纤维乳头状瘤的乳牛随机分两组;一组用 17997 0.5 mg/mL 悬液局部涂抹治疗,每天给 3 次药,共给 7 d;另一组为对照,局部涂抹空白溶剂。结果显示,治疗组瘤体老化,不再生长,瘤体直径总和由治疗前 14.6 mm,缩小到 12.7 mm,且有两头奶牛的瘤体分别于第 4 周和第 5 周脱落。对照组除一头奶牛瘤体于第 5 周脱落外,其他 5 头奶牛的瘤体颜色均未发生变化,仍为皮肤色,仍处于生长期,瘤体直径总和由 20.8 mm 增到 26.4 mm。

### 3 17997 抑制 HSV-1 的作用机制研究<sup>[6]</sup>

对 17997 作用机制的初步探索,均为在细胞培养内的研究。(1)17997 与 HSV-1 在 37℃ 直接接触 1 h,对病毒感染力无影响,表明无直接灭活作用;(2)17997 不干扰 HSV-1 对宿主细胞之吸附,亦不影响子代病毒由细胞释放;(3)HSV-1 感染后 6 h,再用 17997 处理,无抑制病毒复制作用;(4)经浮密度超速离心研究,发现对细胞 DNA 复制无影响的 17997 浓度,对 HSV-1 DNA 复制有非常显著的抑制作用;(5)17997 对 HIV-1 逆转录酶及鸭肝炎病毒 DNA 聚合酶活性无明显抑制作用。这些研究结果说明 17997 抑制 HSV-1 复制周期的早期阶段,其作用靶点可能在

病毒 DNA 合成,但不是直接作用于 DNA 聚合酶。电镜的研究结果也支持这种推测(论文“17997 对 HSV-1, DNA 及蛋白质合成的选择性抑制作用”已被《中华实验和临床病毒学杂志》接受)。

### 4 讨论

17997 为非核苷类化合物,与阿昔洛韦相比有以下特点:广谱抗病毒;体内外抗单纯疱疹病毒活性均优于阿昔洛韦;不易产生耐药,对阿昔洛韦耐药毒株仍对 17997 敏感;作用靶点不在病毒核酸聚合酶。对一些病毒病之治疗,国内外学者主张早期、联合用药,尤其是作用机制不同的药物联合应用,可提高疗效、降低毒副作用及延缓耐药毒株的出现。17997 作用机制与现有抗病毒药物不同,无论是单独用药或联合用药,均有其独特之处。目前 17997 正按新药研究要求进行系统研究。

### 参 考 文 献

- [1] 陶佩珍. 抗病毒药物临床应用的进展. 北京医药, 1995, (1-2): 21-29.
- [2] Erik De Clercq. Strategies for intervention with HIV infections. J. of Medical Chemistry, 1995, 38(14): 2491-2517.
- [3] Alrabiah FA, Sacks SL. New antiherpes virus agents. Drugs, 1996, 52(1): 17-32.
- [4] 陶佩珍, 姜志贤, 姚天爵等. 广谱抗病毒抗生素 17997 体内外抗病毒活性研究. 中国抗生素杂志, 1997, 22(5): 368-372.
- [5] 陶佩珍, 吴小闲, 张兴权. 抗病毒抗生素 17997 体外抗 HIV 及体内抗 SIV 活性的研究. 中国性病及艾滋病防治, 1997, 3(6): 271-274.
- [6] 陶佩珍, 杨茂, 王淑琴等. 抗病毒抗生素 17997 抗病毒作用机制的研究. 中国抗生素杂志, 1998, 23(2): 154-157.

## THE RESEARCH OF ANTIVIRAL ACTIVITIES IN VITRO AND IN VIVO AND THE INHIBITION MECHANISM OF ANTIVIRAL ANTIBIOTIC 17997

Tao Peizhen Lou Zhixian Yao Tianjue

(Institute of Medicinal Biotechnology, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050)

**Abstract** 17997 is a broad spectrum antiviral antibiotic produced by a strain of streptomyces isolated from a soil sample collected in Yunnan Province of China. It is a non-nucleoside compound. 17997 displayed strong inhibitory effects on herpes simplex virus type 1 and type 2, human immunodeficiency virus type 1, vesicular stomatitis virus, coxsackie virus B3 in cell cultures with IC<sub>50</sub> values under the lever of μM. In vivo experiments 17997 was effective in treatment of HSV-1 and HSV-2 systematic infections. The mortality of infected mice was reduced and the average survival days of infected mice were extended both with statistical significance. The plasma viral titers of rhesus monkeys infected by simian

immunodeficiency virus were reduced by prophylactic and therapeutic treatment of 17997 through ip or sc rout; the treatment efficacy of 17997 against rabbit HSV-1 keratitis was significant, 17997 also displayed therapeutic efficacy against HSV-1 infected guinea pig skin lesions and bovine papilloma virus infected fibropapillomatosis. 17997 did not directly inactivate viral activities and did not affect viral adsorption and release. 17997 did not show any inhibitory effect on viral DNA polymerase and reverse transcriptase. 17997 was still active if the treatment was started within six hours post infection in cell culture. The non-toxic concentration of 17997 could inhibit HSV-1 DNA synthesis significantly without any inhibition on cellular DNA synthesis by isopycnic ultra centrifugation. It seems that 17997 might affect the early stage of virus replication cycle. The great potential of 17997 to develop as an antiviral drug exists.

**Key words** antiviral antibiotic 17997, herpes simplex virus, human immunodeficiency virus

·资料·信息·

## 1998 年度获国家自然科学基金面上项目 资助的前 20 所科研院所名单 (按资助金额排序)

单 位 名 称	项 数(项)	资 助 金 额(万元)
中国人民解放军军事医学科学院	30	348.00
中国科学院地质研究所	17	287.00
中国科学院物理研究所	18	258.00
中国科学院化学研究所	15	237.50
中国医学科学院基础医学研究所	17	231.00
中国科学院地理研究所	15	230.00
中国科学院高能物理研究所	17	221.00
中国科学院广州地球化学研究所	13	215.60
中国人民解放军总医院	17	208.00
中国科学院植物研究所	16	198.50
中国科学院海洋研究所	13	192.00
中国科学院上海有机化学研究所	15	187.00
中国科学院金属研究所	12	184.00
中国科学院生态环境研究中心	15	180.40
中国科学院大气物理研究所	10	175.00
中国林业科学研究院	14	169.50
中国科学院动物研究所	14	168.50
中国科学院力学研究所	11	154.80
中国科学院微生物研究所	12	148.00
中国科学院地球物理研究所	8	139.00

(综合计划局信息处 供稿)