

DOI: 10.13376/j.cblls/2024090

文章编号: 1004-0374(2024)07-0877-10

生物毒素抗病毒作用的研究进展

余梓荧, 曹程, 周进*

(清华大学深圳国际研究生院, 海洋工程研究院, 深圳 518055)

摘要: 随着全球病毒多样性的增加和变异速度的加快, 现有疫苗和抗病毒药物防控方法面临巨大挑战, 因此急需开发新型抗病毒药物以缓解这一压力。在这种情况下, 生物毒素的开发带来了曙光, 各类生物毒素(蜂毒、蛇毒、蝎毒、藻毒素等)表现出很强的抗病毒活性, 具有成为新型抗病毒药物的潜力。基于此, 本文以近10年的文献为重点, 综述了主要天然毒素的有效成分、抗病毒机制和应用情况, 并对生物毒素的成药机遇和挑战进行了展望。

关键词: 生物毒素; 抗病毒活性; 新型药物; 开发潜力

中图分类号: Q939.4; R99 **文献标志码:** A

Research progress of biotoxins in the antiviral field

SHE Zi-Ying, CAO Cheng, ZHOU Jin*

(Institute of Ocean Engineering, Tsinghua Shenzhen International Graduate School, Shenzhen 518055, China)

Abstract: With the increasing viral diversity and their mutation probability globally, the current methods (such as vaccines and antiviral therapies) are facing great challenges. Therefore, it is urgent for us to develop novel antiviral drugs. Under such circumstances, various types of biotoxins (for example bee venom, snake venom, scorpion venom, and algal toxins, etc.) show antiviral potential and can act as new candidates for antiviral drug resources. Based on this, we review the active ingredients, antiviral mechanisms, and possible applications of major biotoxins over the past 10 years. In addition, we provide an outlook on the opportunities and challenges of biotoxin drugs, hoping to gather new ideas for the development of antiviral drugs.

Key words: biotoxins; anti-viral activity; novel drugs; development potential

病毒是一类典型的病原体, 由内部的遗传物质脱氧核糖核苷酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 或核糖核苷酸 (ribonucleic acid, RNA) 和外部的保护性蛋白质外壳组成, 可通过吸附、穿透、解壳、复制、释放过程感染细胞^[1-2]。在过去的十多年里, 流感、丙肝、艾滋病、麻疹、登革热、新冠等病毒在全球肆虐造成了严重的疫情。据世界卫生组织 (WHO) 统计, 仅由新型冠状病毒感染 (COVID-19) 导致的病例已近8亿, 登革热病毒已在125个国家中传播^[3]。面对病毒的快速传播、高频变异及其带来的健康风险, 当前的疫苗和抗病毒药物面临着巨大挑战, 迫切需要开发创新的抗病毒策略来革新现有手段, 缓解当下压力^[4-5]。

所幸的是, 天然产物是一类重要的药源宝库。

以生物毒素为例, 它们由丰富而复杂的活性化合物构成, 其中的一些活性物质具有广谱而高效的抗菌、抗病毒作用。研究人员发现, 动物毒素中的抗菌肽 (antimicrobial peptides, AMPs) 能够直接杀死病毒, 或通过调节免疫系统、抑制病毒复制等多种途径发挥抗病毒作用^[6-7]。近年来, 学者们陆续证明蜂毒、蛇毒、蝎毒、藻毒素等多种毒素中的成分对流感、丙肝、艾滋病、登革热等多种病毒具有灭活作用,

收稿日期: 2024-04-04; 修回日期: 2024-06-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(41976126); 广东省普通高校创新团队项目(自然科学)(2023KCXTD052);

深圳市科技计划(KCXFZ20230731093402005)

*通信作者: E-mail: zhou.jin@sz.tsinghua.edu.cn

因此天然生物毒素具有开发成为新型抗病毒药物的潜力^[8-13]。

为了系统地认识生物毒素的抗病毒作用,丰富抗病毒资源库,本文尝试综述了主要生物毒素的活性成分及其抗病毒机制,总结了新近的研究进展,以为为抗病毒药物的开发和生物毒素的利用提供新的思路。

1 生物毒素的类型及主要成分

许多生物在捕食、自卫或竞争等过程中会分泌出一种含有毒素的液体,这些液体具有神经毒性、血液毒性、心脏毒性等^[5]。毒液通常包含十分复杂的成分,单一毒液可能含有上百种毒素,且种间差异很大,甚至同一个体在不同生长阶段也存在差异^[5]。目前的抗病毒作用研究主要集中在蜂毒、蛇毒和蝎毒。

1.1 蜂毒

蜂毒是由工蜂毒腺和副腺分泌出的一种透明液体,包含18种以上的药理学活性成分,主要有蜂毒肽(melittin, MLT)、蜂毒明肽(apamin)^[10]、磷脂酶A2(phospholipases A2, PLA2)等。其中,蜂毒肽是蜂毒最主要的成分,占蜂毒干重的40%~60%,由26个氨基酸残基组成,其寡聚体通过在细胞膜上形成亲水性小孔致使膜渗透性发生改变,从而导致细胞组织的溶解^[14]。蜂毒明肽占蜂毒干重的1%~2%,是由2个二硫键连接的18个氨基酸残基构成的小分子动物毒素,可以影响细胞内钙离子代谢,通过与细胞中钙依赖的钾离子通道结合来破坏膜极化^[14]。PLA2占蜂毒干重的10%~12%,是一种由128个氨基酸残基组成的N-聚糖蛋白,其肽链的第13位天冬酰胺与碳水化合物共价结合,具有溶血活性。

1.2 蛇毒

蛇毒是一类主要由蛋白质和多肽组成的混合物,具有高效的催化作用、良好的热稳定性和抗蛋白质水解的能力,主要成分为酶类和非酶蛋白。前者包括PLA2、L-氨基酸氧化酶(L-amino acid oxidase, LAO)、金属蛋白酶、透明质酸酶、乙酰胆碱酯酶和丝氨酸蛋白酶等;后者包括三指毒素、C型凝集素样蛋白、解离素、富含半胱氨酸的分泌蛋白和蛋白酶抑制剂等^[15-17]。蛇毒的成分组成在不同个体之间存在较大的差异,甚至同一个体在不同环境、不同年龄阶段时毒液成分都会有所不同^[18]。上述成分中,PLA2和LAO是大多数蛇类毒液中

的重要成分。PLA2能够催化甘油磷脂中酯键的水解反应,释放出游离脂肪酸和溶血磷脂酸,从而改变膜流动性和通透性,最终导致细胞死亡,因此具有肌毒性、心毒性和神经毒性等^[17]。LAO是一种同源二聚体黄素酶,具有共价连接的黄素腺嘌呤二核苷酸,可能通过产生大量的H₂O₂导致氧化应激增加,进而引起细胞死亡^[17]。

1.3 蝎毒

蝎毒在漫长的进化过程中形成了分子多样性,其主要成分除了脂质、核苷酸、游离氨基酸和其他有机酸等非蛋白成分外,还包含了离子通道结合肽、酶毒素、蛋白酶抑制剂和宿主防御肽等活性成分,包括神经毒素、细胞溶解肽、蝎毒肽、磷脂酶、金属蛋白酶等^[19-20]。

蝎毒中的毒素主要分为酶毒素和非酶毒素两大类。酶毒素主要包括PLA2、透明质酸酶、蛋白酶等,通过催化特定的生化反应对生物体产生影响^[5]。非酶毒素则根据其结构特点和生物学功能被细分为二硫键肽(disulfide-bridged peptides, DBPs)和非二硫键桥肽(non-disulfide-bridged peptides, NDBPs)。DBPs通常由13~70个氨基酸和3~4个二硫键组成,包括多种可以改变离子通道通透性的毒素,如钠通道毒素、钾通道毒素等。NDBPs则通常由13~56个氨基酸组成,其二级构象主要为 α 螺旋结构,具有较强的水溶性和阳离子特性,能够与细胞膜紧密结合,具有广谱的抗菌、抗病毒和抗癌功效^[5,21]。

1.4 其他生物毒素

其他生物毒素包括蜘蛛毒素、蛙毒素等。蜘蛛毒液毒素的功能成分为多肽,具有抗菌、抗肿瘤、抗病毒和镇痛功能,其作用机制涉及到对机械敏感通道、酸敏感离子通道及钙激活钾离子通道等的调节^[22-24]。蛙毒素的研究聚焦于其皮肤分泌物中的宿主防御肽,包含8~48个氨基酸残基,并富含40%~70%的疏水性氨基酸,通常为阳离子和疏水性分子,具有广谱活性^[25-26]。

水生环境也蕴含多种具有研究价值的生物毒素,如蓝藻毒素、芋螺毒素和狮子鱼毒素等。蓝藻毒素主要包括损害肝脏的微囊藻毒素、影响神经的氰肽素和损伤细胞的细胞毒素^[27-28]。芋螺毒素是由海洋软体动物芋螺的毒腺所分泌的一系列富含二硫键的生物活性肽,能特异性地靶向结合细胞膜上的离子通道和神经受体,引发细胞毒性^[29]。狮子鱼毒素是一种来自深海环境的生物毒素。狮子鱼的背鳍、盆骨和肛棘部位均有毒腺组织,可以分泌含有神经

毒素的毒液, 有效成分包含蛋白质、神经肌肉毒素和乙酰胆碱等^[30]。

结合前文所述, 表 1 汇总了主要生物毒素及其活性成分, 图 1 展示了它们的常见化学结构。

2 生物毒素的抗病毒机制

尽管生物毒素的抗病毒成分具有极高的多样性, 但大多数毒素的抗病毒活性都与正电荷、过量的碱性氨基酸和高等电点有关。不同生物毒素的抗病毒作用机制不尽相同, 常见的抗病毒机制包括阻止病毒进入及释放、破坏病毒结构和抑制病毒复制等^[3]。以蜂毒、蛇毒和蝎毒为例分述如下。

2.1 蜂毒的抗病毒机制

蜂毒的抗病毒机制主要是通过病毒和蜂毒肽的直接相互作用来破坏病毒结构、抑制病毒的增殖。对包膜病毒而言, 蜂毒肽能够与包膜病毒的脂质双层相互作用, 导致病毒膜的破裂和病毒颗粒的解体; 对于非包膜病毒, 蜂毒肽可通过干扰病毒基因表达来抑制病毒的复制^[10]。此外, 蜂毒还能够激发宿主细胞的抗病毒状态, 产生干扰素和其他抗病毒因子, 从而增强宿主对病毒的抵抗力^[10]。

2.2 蛇毒的抗病毒机制

PLA2 为蛇毒的主要抗病毒成分之一, 其抗病毒作用主要发生在病毒的吸附阶段, 能通过多种方式阻止病毒与细胞结合, 但对病毒的翻译和释放阶段的影响较小^[34]。Muller 等^[9]发现 PLA2 通过水解病毒脂质双层膜的甘油磷脂, 使得病毒表面糖磷脂发生裂解, 病毒 RNA 暴露, 导致病毒无法与细胞受体结合, 失去感染性和结合能力。Siniavin 等^[34]发现 PLA2 能够抑制病毒包膜糖蛋白 gp120 与细胞表面的 CD4 和趋化因子受体的结合, 从而阻止病毒与细胞的融合。除此之外, PLA2 还能够抑制病毒介导的细胞间融合, 干扰病毒刺突蛋白与血管紧张素转换酶 2 的结合, 从而阻止病毒进入。除了自身成分的抗病毒作用, 蛇毒 PLA2 能够与现有的抗逆转录病毒药物 (如拉米夫定和替诺福韦) 产生协同抗病毒效果^[13]。

2.3 蝎毒的抗病毒机制

蝎毒及其衍生肽作为抗病毒领域的潜在资源, 对包括 HIV、HCV、HBV、HSV-1 和流感 H5N1 在内的多种病毒具有显著的抑制效果。蝎毒及肽成分通过多种机制抑制病毒, 包括破坏病毒膜结构、干

表1 具有抗病毒活性的生物毒素

毒素来源	毒素名称	抑制病毒	有效成分	文献
Bee venom 蜂毒	Melittin 蜂毒肽	H1N1、BoHV-1、RSV、HSV、 EV-71、SARS-CoV-2	多肽	[10]
<i>Bothrops jararacussu</i> 巴西矛头蝮	(pBthTX-I) ₂ K 蛇类毒素	SARS-CoV-2	多肽	[12]
<i>Bungatus fasciatus</i> 金环蛇	BF-PLA2-I 蛇类毒素	HIV	磷脂酶	[13]
<i>B. fasciatus</i> 金环蛇	BF-PLA2-II 蛇类毒素	HIV	磷脂酶	[13]
<i>Crotalus durissus terrificus</i> 南美响尾蛇	Cdt 蛇类毒素	Measles	粗毒液	[31]
<i>C. d. terrificus</i> 南美响尾蛇	Crotoxin、PLA2-CB 响尾蛇毒素、磷脂酶A2	HCV、DENV-2、Rocio、 Mayaro、Oropouche	复合物	[9,32]
<i>Naja haje haje</i> 埃及眼镜蛇	PLA2 磷脂酶A2	BCoV、RV SA-11	磷脂酶	[33]
<i>Vipera nikolskii</i> 尼古拉基蝰蛇	HDP-1P 蛇类毒素	HIV	磷脂酶	[13]
<i>V. nikolskii</i> 尼古拉基蝰蛇	HDP-2P 蛇类毒素	HIV、SARS-CoV-2	磷脂酶	[34]
<i>Vipera ursinii renardi</i> 草原蝰东方亚种	Vur-PL 蛇类毒素	HIV	磷脂酶	[13]
<i>Androctonus australis</i> 黄肥尾蝎	<i>A. australis</i> venom 蝎类毒素	HCV	粗毒液	[35]

表1 具有抗病毒活性的生物毒素(续表)

毒素来源	毒素名称	抑制病毒	有效成分	文献
<i>Chaerilus tryznai</i>	Ctry2459	HCV	多肽	[36]
西藏特里豚蝎	蝎类毒素			
<i>C. tryznai</i>	Hp1090	HCV	多肽	[37]
西藏特里豚蝎	蝎类毒素			
<i>Hemiscorpius lepturus</i>	<i>H. lepturus</i> venom	HIV-1	粗毒液	[38]
纤尾半蝎	纤尾半蝎毒素			
<i>Heterometrus petersii</i>	Hp1036	HSV	多肽	[39]
彼得异蝎	蝎类毒素			
<i>H. petersii</i>	Hp1239	HSV	多肽	[39]
彼得异蝎	蝎类毒素			
<i>Lychas mucronatus</i>	Mucroporin-M1	Measles、SARS-CoV、H5N1	多肽	[8]
细尖狼蝎	蝎类毒素			
<i>Mesobuthus martensii</i>	BmKDfsin4	HCV	多肽	[40]
东亚钳蝎	蝎类毒素			
<i>Scorpio maurus palmatus</i>	<i>S. m. palmatus</i> venom	HCV	粗毒液	[35]
以色列阔爪金蝎	蝎类毒素			
<i>S. m. palmatus</i>	Smp76	HCV、DENV	多肽	[11]
以色列阔爪金蝎	蝎类毒素			
<i>Alopecosa nagpag</i>	Av-LCTX-An1a	DENV2、ZIKV	多肽	[41]
纳帕海舞蛛	蛛类毒素			
<i>Lachesana tarabaevi</i>	Latarcin	DENV	多肽	[42]
拟平腹蛛科蜘蛛	蛛类毒素			
<i>Boana raniceps</i>	Figainin 2	CHIKV 181/25、DENV4、YFV	多肽	[26]
查科树蛙	蛙类毒素			
<i>Pelophylax porosus</i>	Brevinin-1	HSV-1、HSV-2	多肽	[43]
达摩蛙	蛙类毒素			
<i>Phyllomedusa sauvagei</i>	Dermaseptin S4	HSV-1	多肽	[44]
蜡白猴树蛙	蛙类毒素			
<i>Nostoc ellipsosporum</i>	Cyanovirin-N	HIV-1、HIV-2、SIV	蛋白质	[45]
椭圆念珠藻	蓝藻抗病毒蛋白N			
<i>Trichodesmium erythraeum</i>	Debromoaplysiatoxin	CHIKV	非核糖体肽合 成酶类似物	[27]
红海束毛藻	脱溴海兔毒素			
<i>T. erythraeum</i>	3-methoxy debromoaplysia toxin	CHIKV	非核糖体肽合 成酶类似物	[27]
红海束毛藻	3-甲氧基脱溴海兔毒素			
<i>Conus marmoreus</i>	MrIA	DENV	多肽	[46]
大理石芋螺	芋螺毒素			
<i>Pterois volitans</i>	PV-PLA2	HIV	磷脂酶	[30]
斑鳍蓑鲉	磷脂酶A2			
<i>Fusarium sp.</i>	T-2	Rabies、HSV-2	单端孢霉烯 族化合物	[47-48]
镰刀菌	镰刀菌毒素			
<i>Aspergillus sp.</i> SCSIO XWS02F40	Asteltoxin E(2)	H3N2、H1N1	天冬毒素类 似物	[49]
曲霉菌	曲霉菌毒素			
<i>Aspergillus sp.</i> SCSIO XWS02F40	Asteltoxin F(3)	H3N2	天冬毒素类 似物	[49]
曲霉菌	曲霉菌毒素			

注: BCov, 牛冠状病毒; BoHV-1, 牛疱疹病毒I型; CHIKV, 基孔肯雅病毒; DENV2, 登革病毒II型; DENV4, 登革病毒IV型; EV-71, 肠道病毒71型; HIV-1, 人类免疫缺陷病毒I型; HIV-2, 人类免疫缺陷病毒II型; H1N1, 甲型H1N1流感病毒; H3N2, 甲型H3N2流感病毒; H5N1, 甲型H5N1流感病毒; HCV, 丙型肝炎病毒; HSV, 单纯疱疹病毒; Mayaro, 马亚罗病毒; Measles, 麻疹病毒; Oropouche, 奥罗普切病毒; Rabies, 狂犬病病毒; RV SA-11, SA11型轮状病毒; Rocio, 罗西奥病毒; SARS-CoV-2, 严重急性呼吸综合征冠状病毒II型; SIV, 猴免疫缺陷病毒; YFV, 黄热病毒。

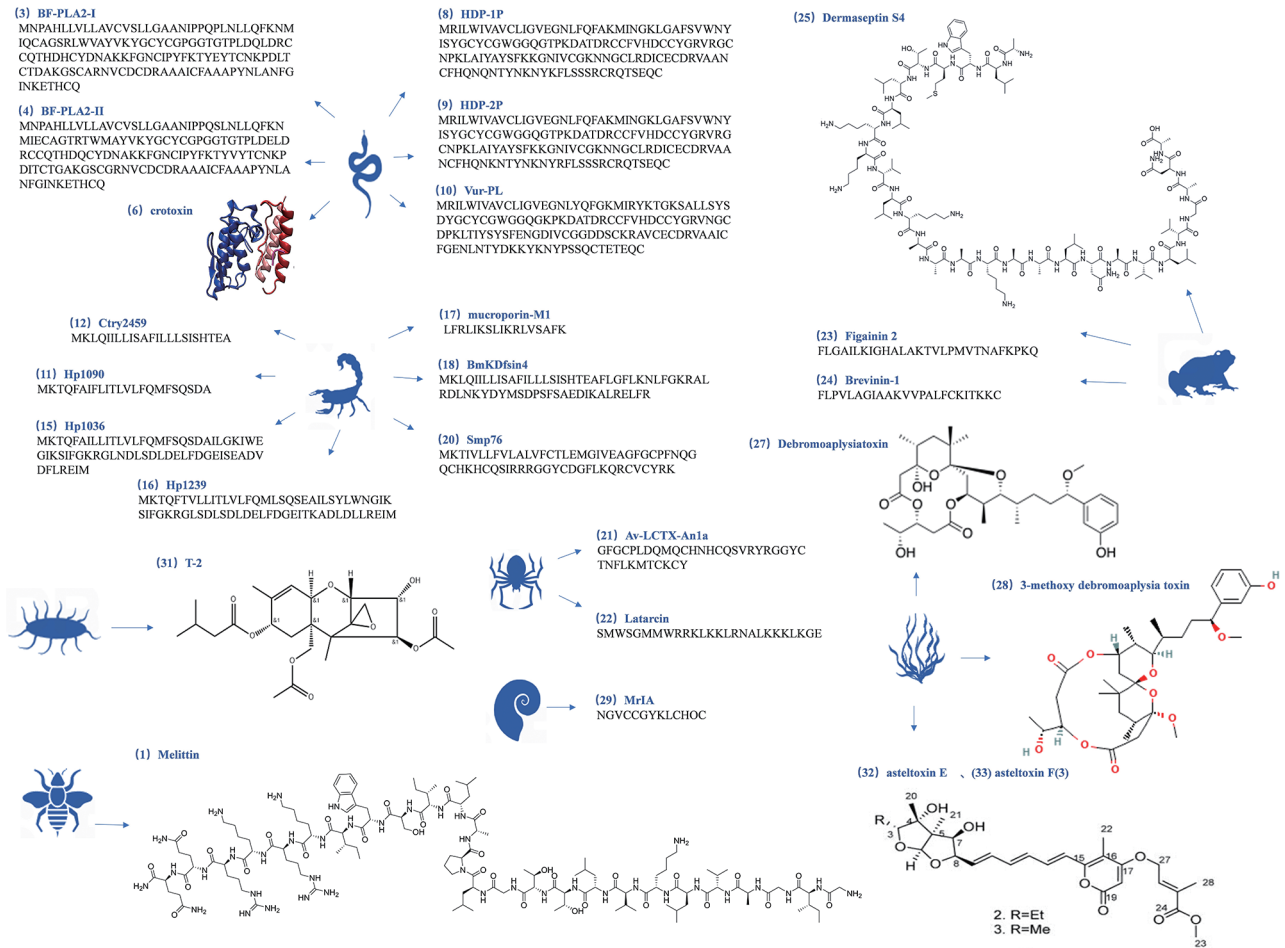


图1 常见生物毒素的化学结构

扰病毒复制周期^[37]、阻断病毒进入宿主细胞^[39]等。例如 Yan 等^[37]从蝎子中提取出的 α -螺旋肽 Hp1090, 其 α -螺旋结构和带正电荷的特征使其能够与病毒膜中的负电荷磷脂相互作用从而破坏病毒膜完整性, 进而抑制 HCV 病毒的 RNA 复制和蛋白质表达。相似地, Hong 等^[39]从蝎子中提取的 Hp1036 和 Hp1239 也通过破坏病毒膜完整性, 阻止病毒附着和进入, 抑制其活性和感染性。

2.4 其他毒素的抗病毒机制

蜘蛛毒素可通过抑制关键的病毒蛋白酶活性来减少病毒的复制, 从纳帕海舞蛛 (*Alopecosa nagpag*) 毒液中提取的抗菌肽 Av-LCTX-An1a (Antiviral-Lycotoxin-An1a), 已被证实能通过与其与登革热病毒 II 型 (DENV2) 的 NS2B-NS3 蛋白酶相互作用来抑制病毒的复制和颗粒形成^[41]。相似地, 来自拟平腹蛛科蜘蛛 (*Lachesana tarabaevi*) 毒液中的抗菌肽 laticarin (Ltc1), 也展示其对登革热蛋白酶 NS2B-NS3 pro 的显著抑制效果^[42]。蛙类毒素的抗病毒机制则主要体现在直接灭活病毒颗粒、破坏病毒颗粒的稳定性以

及干预病毒在胞内的复制周期^[25]。

在水生环境中, 蓝藻产生的 cyanovirin-N 通过与 HIV-1 和 HIV-2 病毒外层包膜上的糖蛋白 gp120 或高甘露糖寡糖相互作用, 有效阻断病毒传播^[45]。此外, 红海束毛藻 (*Trichodesmium erythraeum*) 中分离的 aplysiatoxin 通过干扰基孔肯雅病毒 (CHIKV) 复制周期实现抑制作用^[27]。芋螺毒素通过干扰细胞膜离子通道或钝化病毒蛋白酶发挥抗病毒效果^[29,46]。狮子鱼毒素类似于蜂毒和蛇毒, 能够阻止 HIV 病毒衣壳蛋白在宿主细胞内释放, 阻断病毒进入^[30]。图 2 对这些生物毒素的抗病毒机制进行了总结。

3 生物毒素的抗病毒应用

3.1 蜂毒

蜂毒及其肽类成分对 BoHV-1、RSV、HSV、H1N1、EV-71 和 SARS-CoV-2 显示出明显的抗病毒活性。研究表明, 蜂毒肽能降低病毒感染性、滴度和复制能力^[10], 提高宿主存活率, 减少病变^[10],

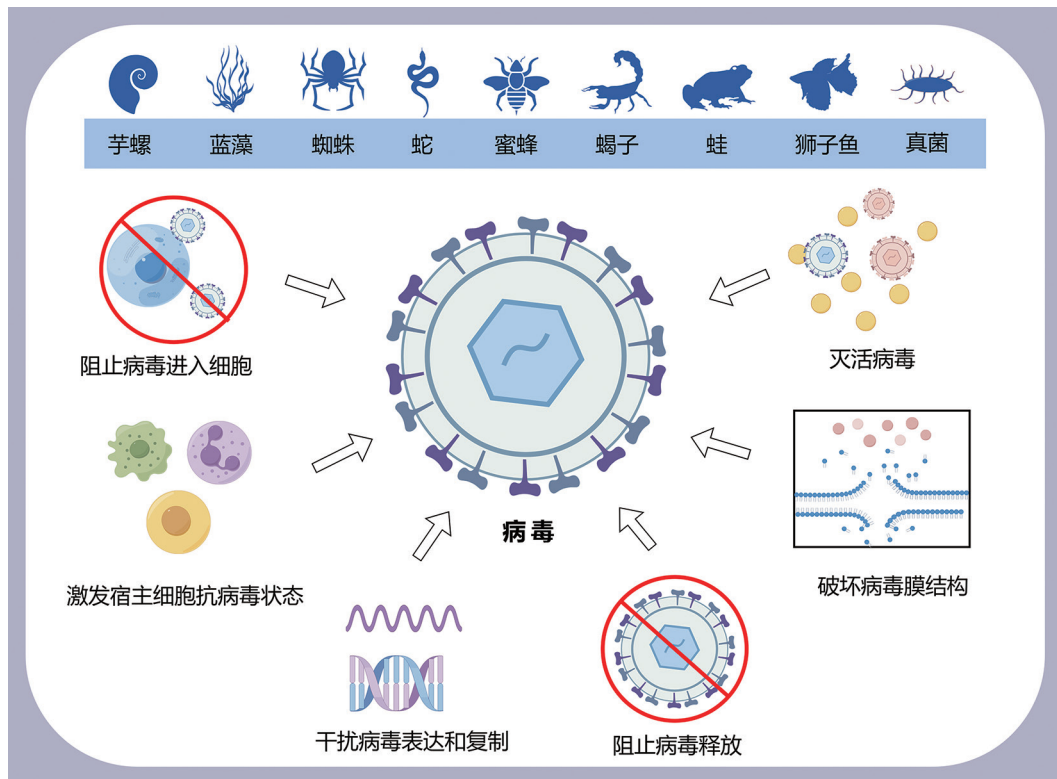


图2 生物毒素的抗病毒机制

且与其他成分联用后显示出协同效果^[50]。这些研究为开发新型抗病毒药物和阐明蜂毒肽抗病毒作用机制提供了重要信息。其主要应用如下：

牛疱疹病毒 I 型 (BoHV-1)。在实验室条件下，利用 MDBK (Madin Darby Bovine Kidney) 细胞进行体外抗病毒实验，观察到蜂毒肽展现出显著的抗 BoHV-1 活性，在不损伤细胞活性的浓度下，有效降低了该病毒的感染性和病毒滴度。此外，尽管蜂毒明肽单独使用时未显示出抗病毒效果，但与蜂毒肽联用时却表现出了协同增强的抗 BoHV-1 活性^[50]。这一研究为开发针对 BoHV-1 的新型抗病毒药物提供了可能性，并为理解抗病毒药物联合作用机制提供了有价值的信息。

呼吸道合胞病毒 (RSV)。Uddin 等^[10]在实验室中采用 Hep2 细胞对蜂毒及蜂毒肽进行了体外抗病毒实验，发现经蜂毒处理的 RSV-GFP 的绿色荧光蛋白表达明显减少为原来的 1/3，病毒滴度降低为原来的 1/8，这表明蜂毒能有效降低 RSV 的感染性和复制能力，具有开发为抗 RSV 病毒药物的潜力。

单纯疱疹病毒 (HSV)。Uddin 等^[10]在 Vero 细胞中测试了蜂毒和蜂毒肽对 HSV 的抗病毒活性，发现经蜂毒处理的病毒滴度下降为原来的 1/10，经蜂毒肽处理可下降为原来的 1/17，证实了这两种蜂

毒成分显著抑制 HSV 感染。研究表明，蜂毒肽对 HSV-1 具有抑制效果，使用 100 μL 的 9-CC₅₀ 蜂毒肽可抑制 66.51% 的病毒增殖。相比市售药物阿昔洛韦，虽然目前在效果上还存在差距，但其具有优化的空间^[51]，有望在不远的将来成为阿昔洛韦的替代品。

流感病毒 (H1N1)。Uddin 等^[10]在 MDBK 细胞中的体外抗病毒实验显示，使用 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的蜂毒肽处理 PR8-GFP 病毒 30 min，可显著降低 GFP 表达，且病毒滴度下降为原来的 1/6。此外，该团队还在 C57BL/6 小鼠中评估了蜂毒肽对甲型 H1N1 流感病毒的抗病毒效果，结果表明蜂毒肽能提高小鼠存活率，减少肺部病毒载量及炎症，且具有良好的安全性^[10]。

肠道病毒 (EV-71)。EV-71 是手足口病的主要病原体。研究表明，蜂毒预处理的细胞在感染 EV-71 后，细胞病变效应显著减轻，细胞存活率有效提高，病毒滴度降低为原来的 1/132，且 EV-71 的 VP1 mRNA 表达量下降为原来的 1/3，这些结果表明蜂毒对肠道病毒 EV-71 具有卓越的抑制效果^[10]。

冠状病毒 (SARS-CoV-2)。Enayathullah 等^[52]通过体外抗病毒实验探索了蜂毒肽对 SARS-CoV-2 的抗病毒活性，发现实验测定的 EC₅₀ 值为 0.656

$\mu\text{g/mL}$, 表明在细胞毒性极低的条件下, 蜂毒肽能够有效降低病毒载量, 提示蜂毒具有开发为抗 SARS-CoV-2 病毒药物的潜力。

3.2 蛇毒

蛇毒对 Measles、HCV、BCoV、RV SA-11、HIV 和 SARS-CoV-2 等病毒具有抑制效果, 其作用机制包括直接作用于病毒、阻断与宿主细胞结合、干扰复制周期等^[9], 其应用场景主要包括以下几类:

麻疹病毒 (Measles)。Petricevich 等^[31]发现南美响尾蛇 (*Crotalus durissus terrificus*) 的毒液具有抑制麻疹病毒生长的潜力, 可以在不损伤细胞的情况下在感染前或感染期间阻断病毒与细胞的结合, 从而抑制病毒的复制和释放。

丙型肝炎病毒 (HCV)。Shimizu 等^[32]从南美响尾蛇 (*C. d. terrificus*) 的毒液中提取出了复合毒素亚基磷脂酶 A2 (PLA2-CB)、响尾蛇毒素 (crotoxin, CX) 及一种酸性成分 (crotopotin, CP)。体外抗病毒实验揭示, PLA2-CB 能直接作用于病毒颗粒或通过影响宿主细胞从而阻断 HCV 的入侵和复制, CX 能抑制病毒的进入和释放, 而 CP 通过降低细胞内脂滴的数量干扰宿主的脂质代谢, 从而抑制 HCV 释放。此外, 这些复合毒素对登革热病毒等蚊媒病毒也具有类似的抑制效果^[9]。

牛冠状病毒 (BCoV) 和猴轮状病毒 (RV SA-11)。Salama 等^[33]从埃及眼镜蛇 (*Naja haje haje*) 毒液中分离的 PLA2 显示出对 BCoV 和 RV SA-11 的抗病毒活性, 其通过与病毒衣壳相互作用, 阻止病毒与宿主细胞结合, 从而抑制病毒感染。PLA2 对 BCoV 和 RV SA-11 展示出良好的抑制效果, 治疗指数分别为 33.6 和 16.0, 对病毒复制的抑制率分别为 63.0% 和 41.7%。

人类免疫缺陷病毒 (HIV)。先前的研究已证实生物毒素中的 PLA2 能够抑制艾滋病毒的复制并防止病毒核衣壳蛋白在细胞内释放^[53]。Siniavin 等^[13]进一步研究了包括蝰蛇 (*Vipera ursinii renardi*)、尼古拉基蝰蛇 (*Vipera nikolskii*) 和金环蛇 (*Bungarus fasciatus*) 在内的多种蛇毒 PLA2, 发现它们展现出显著的抗 HIV 活性, 且与 HIV 核苷类逆转录酶抑制剂具有协同作用, 能够共同抑制 HIV-1 引起的细胞病变。此外, 具有催化活性的 PLA2 亚基 HDP-2P 在抑制病毒复制方面的效果显著优于失活的亚基, 表明 PLA2 的抗 HIV 活性与其催化活性密切相关。

冠状病毒 (SARS-CoV-2)。Siniavin 等^[34]发现草原蝰蛇 (*V. nikolskii*) 毒液中的 PLA2 对 SARS-CoV-2

也具有活性, 其能够抑制 SARS-CoV-2 刺突蛋白介导的细胞间融合, 同时干扰病毒刺突蛋白与血管紧张素转换酶的结合, 阻止病毒的进入, 因此有望用于开发针对 SARS-CoV-2 的抗病毒药物。Freire 等^[12]发现巴西矛头蝮 (*Bothrops jararacussu*) 毒液中的肌毒素 bothropstoxin-I 的非毒性二聚肽 (pBthTX-I)₂K 及其类似物在微摩尔浓度范围内对 SARS-CoV-2 显示出抗病毒活性和低细胞毒性效应, 为其作为潜在抗病毒药物提供了科学依据。

3.3 蝎毒

蝎毒中的活性成分对 HIV、HCV、HBV、HSV-1 和 H5N1 具有显著的抗病毒活性。通过瓦解病毒的膜结构、阻碍病毒对宿主细胞的侵袭以及抑制病毒的复制过程, 蝎毒展现出作为新型抗病毒药物的潜力, 其应用主要包括以下几类:

人类免疫缺陷病毒 (HIV)。Zabihollahi 等^[38]从纤尾半蝎 (*Hemiscorpius lepturus*) 中提取出粗毒液并评估其抗病毒活性, 结果显示: 在 $73 \mu\text{g/mL}$ 浓度下, *H. lepturus* 粗毒液可以抑制 HIV 的复制和感染, 并能抑制游离病毒颗粒, 且对细胞无毒性。

丙型肝炎病毒 (HCV)。从彼得异蝎 (*Heterometrus petersii*) 毒液中发现的 α -螺旋肽 Hp1090 能通过与病毒膜结合破坏其结构来抑制 HCV 的感染^[37]。Hong 等^[36]从蝎毒素库中筛选出了新肽 Ctry2459, 同样表现出对 HCV 的灭活能力。此外, El-Bitar 等^[35]的研究进一步揭示了以色列阔爪金蝎 (*Scorpio maurus palmatus*) 和黄肥尾蝎 (*Androctonus australis*) 的毒液对 HCV 的抑制效果, 其半数抑制浓度 IC_{50} 值分别为 $(6.3 \pm 1.6) \mu\text{g/mL}$ 和 $(88.3 \pm 5.8) \mu\text{g/mL}$ 。此外, El-Bitar 等^[11]从以色列阔爪金蝎毒液中分离得到了 76 个氨基酸的天然肽 Smp76, 其不仅能阻断 HCV 的初次和二次感染, 还对登革热病毒具有灭活作用。

乙型肝炎病毒 (HBV)。Zeng 等^[40]从东亚钳蝎 (*Mesobuthus martensii Karsch*) 中分离出蝎毒液肽 BmKDfsin4, 并在 HepG2.2.15 细胞培养中证实其能显著抑制 HBV 的乙型肝炎 e 抗原和乙型肝炎表面抗原, 同时能够减少病毒遗传物质及病毒蛋白的生成, 且细胞毒性较低, 表明 BmKDfsin4 具有优异的抗 HBV 活性。

单纯疱疹病毒 (HSV-1)。Hong 等^[39]发现两种蝎毒肽 Hp1036 和 Hp1239 在非细胞毒性浓度下对 HSV-1 具有强烈的抗病毒活性, 它们能够与病毒的膜结合, 破坏其结构完整性, 阻断病毒的进入, 降

低宿主细胞内的病毒感染能力,抑制病毒的复制;除此之外,还能够破坏病毒的形态结构,导致病毒包膜和核酸的损伤,从而抑制病毒的释放。

流感病毒(H5N1)。Li等^[8]利用氨基酸取代技术优化细尖狼蝎(*Lychas mucronatus*)毒液的阳离子宿主防御肽得到了 mucroporin-M1,实验发现其对麻疹、SARS-CoV和H5N1的抗病毒活性较原始肽显著增强,EC₅₀值分别为3.52 μmol/L、7.12 μmol/L和1.03 μmol/L,具有较好的生物安全性。

3.4 其他生物毒素的应用

蜘蛛毒素。Rothan等^[42]从拟平腹蛛科蜘蛛(*L. tarabaevi*)毒液中提取出了一种天然抗菌肽Ltc1,实验发现在正常体温(37°C)下Ltc1肽对登革热蛋白酶NS2B-NS3pro具有显著的抑制作用[IC₅₀=(12.68 ± 3.2) μmol/L],在40°C下具有更强的抑制作用[IC₅₀=(6.58 ± 4.1) μmol/L]。相似地,另一种蜘蛛纳帕海舞蛛(*A. nagpaga*),其防御肽Av-LCTX-An1a也能够靶向抑制病毒的NS2B-NS3蛋白酶,具有抗登革热病毒和寨卡病毒的能力^[41]。这些从蜘蛛毒液中提取的肽为寻找新型的抗寨卡、登革热病毒药物提供了新思路。

蛙毒素。Yasin等^[43]从达摩蛙(*Pelophylax porosus*)的皮肤分泌物中提取出的抗菌肽Brevinin-1能够有效抑制HSV-1和HSV-2的感染。Belaid等^[44]发现来自蜡白猴树蛙(*Phyllomedusa sauvagei*)的dermaseptin S4对HSV-1病毒的吸附过程具有抑制作用。Santana等^[26]从查科树蛙(*Boana raniceps*)的皮肤分泌物中分离出的多功能防御肽figainin 2,不仅具有抗菌、抗原虫、抗病毒、抗癌和免疫调节活性,还展现出抑制蚊媒病毒CHIKV 181/25、DENV4和YFV的潜力。

蓝藻毒素。最初从椭圆念珠藻(*Nostoc ellipsosporum*)中提取的cyanovirin-N,可通过特异性结合HIV病毒表面的包膜糖蛋白gp120,展现出对HIV-1、HIV-2及SIV的灭活效果^[45]。此后,Gupta等^[27]从海洋蓝细菌(*T. erythraeum*)中分离出阿泼利西阿毒素(aplysiatoxin)相关化合物脱溴海兔毒素(debromoaplysiatoxin)和3-甲氧基脱溴海兔毒素(3-methoxydebromoaplysiatoxin),这两种毒素均表现出抗CHIKV的能力,其EC₅₀值分别为1.3和2.7 μmol/L,主要通过干扰病毒复制周期来发挥作用。此外,近期研究指出,蓝藻提取物能延迟单链DNA和单链RNA病毒感染长达48 h,证实了其抑制病毒感染的潜力^[28]。

其他一些应用包括芋螺毒素抑制登革热病毒^[46],狮子鱼毒素抗HIV病毒^[30],海洋真菌毒素抗流感H1N1、H3N2病毒^[49],以及镰刀菌毒素抑制狂犬病病毒等^[47-48]。

4 总结与展望

生物毒素因其高度的特异性、种类多样性和功能多样性,展现出作为特定病毒防控剂的巨大潜力。现有研究证明生物毒素具有直接攻击病毒、阻止病毒进入、抑制病毒复制以及激活免疫系统效果,是一种抗病毒药物的宝贵资源^[6]。然而,考虑到病毒的复杂性和变异性以及使用的安全性,生物毒素药用开发仍面临诸多挑战。

其一,生物毒素的高毒性是其在自然生态系统中进行攻击和防御的关键特性,然而这一特性是将其开发为药物时的主要安全考量。尽管大多数毒素表现出抗病毒活性时其使用浓度极低,但其细胞安全性仍然需要谨慎。此外,目前大多数研究仅限于体外细胞实验,这并不足以全面反映毒素在体内的作用机制及长期应用的安全性。因此,需要继续深入研究毒素对生物体的影响以及相关安全性和剂量效应等^[5]。

其二,目前对于毒素抗病毒机制的研究仍不够深入,不同的毒素可能针对病毒生命周期中的多个环节发挥作用,而对于这些作用机制的深入理解尚待加强。因此,需要深入探讨不同毒素的作用机制以寻找不同感染阶段的有效抗病毒策略^[41]。

其三,在充分研究毒素的毒理机制和药理活性的基础上,毒素原料来源少、毒素提取产率低也是限制毒素开发为药物的瓶颈之一,因此开发高效且经济有效的制备方法至关重要,例如采用新化学提纯与合成法、体外蛋白重组等技术来获取毒素的活性成分以保证药物开发的原材料供应^[15]。

其四,毒素在生物体中仍存在稳定性低、选择性低的问题,目前已有研究通过优化氨基酸序列、改善毒素的药代动力学特性、与蛋白质载体或聚合物化学偶联、与脂肪酸酰化等方法来对化合物进行优化改良,但仍需要针对性的研究以找出最合适的优化方法^[54-55]。

所幸的是,得益于科技进步,对毒素这一潜在药物宝库的探索步伐正在加快,通过分子筛选和高通量识别技术,人们能够更迅速地在庞大的毒素库中筛选出与特定病毒相互作用的候选药物,这极大地提高了新药发现的效率,并有助于更精确地识别

出具有高度特异性的毒素。此外, 人工智能和机器学习技术正助力精确药物剂量的确定, 优化疗效并减少副作用。再者, 基因编辑以及合成生物学构建技术的出现, 使合成毒素并优化其结构成为可能, 增强了其针对性和抗病毒效力。新方法、新技术的出现, 为解决生物毒素的高毒性、低稳定性、低选择性和低得率性带来了巨大希望, 也为开发新一代抗病毒药物铺平了道路, 未来针对生物毒素的药源应用具有广阔的前景。

[参 考 文 献]

- [1] Koonin EV, Senkevich TG, Dolja VV. The ancient virus world and evolution of cells. *Biol Direct*, 2006, 1: 29
- [2] Correa AMS, Howard-Varona C, Coy SR, et al. Revisiting the rules of life for viruses of microorganisms. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19: 501-13
- [3] Lima WG, Maia CQ, de Carvalho TS, et al. Animal venoms as a source of antiviral peptides active against arboviruses: a systematic review. *Arch Virol*, 2022, 167: 1763-72
- [4] Chen B, Tian E, He B, et al. Overview of lethal human coronaviruses. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5: 89
- [5] Utkin Y, Siniavin A, Kasheverov I, et al. Antiviral effects of animal toxins: is there a way to drugs? *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 3634
- [6] Oliveira I, Ferreira I, Jacob B, et al. Harnessing the power of venomous animal-derived toxins against COVID-19. *Toxins (Basel)*, 2023, 15: 159
- [7] da Mata ÉCG, Mourão CBF, Rangel M, et al. Antiviral activity of animal venom peptides and related compounds. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 2017, 23: 3
- [8] Li Q, Zhao Z, Zhou D, et al. Virucidal activity of a scorpion venom peptide variant mucroporin-M1 against measles, SARS-CoV and influenza H5N1 viruses. *Peptides*, 2011, 32: 1518-25
- [9] Muller VD, Soares RO, dos Santos NN Jr., et al. Phospholipase A2 isolated from the venom of *Crotalus durissus terrificus* inactivates dengue virus and other enveloped viruses by disrupting the viral envelope. *PLoS One*, 2014, 9: e112351
- [10] Uddin MB, Lee BH, Nikapitiya C, et al. Inhibitory effects of bee venom and its components against viruses *in vitro* and *in vivo*. *J Microbiol*, 2016, 54: 853-66
- [11] El-Bitar AMH, Sarhan M, Abdel-Rahman MA, et al. Smp76, a scorpine-like peptide isolated from the venom of the scorpion *Scorpio maurus palmatus*, with a potent antiviral activity against hepatitis C virus and dengue virus. *Int J Pept Res Ther*, 2020, 26: 811-21
- [12] Freire MC, Noske GD, Bitencourt NV, et al. Non-toxic dimeric peptides derived from the bothropstoxin-I are potent SARS-CoV-2 and papain-like protease inhibitors. *Molecules*, 2021, 26: 4896
- [13] Siniavin AE, Grinkina S, Osipov A, et al. Anti-HIV activity of snake venom phospholipase A2s: updates for new enzymes and different virus strains. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 1610
- [14] 陈会良, 贺绍君. 蜂毒化学成分及其作用机理研究进展. *安徽农业科学*, 2014, 42: 1406-8
- [15] 董德刚, 王万春, 邓中平. 蛇毒研究进展: 从致命毒素到新药开发. *药学报*, 2020, 55: 2019-26
- [16] Munawar A, Ali SA, Akrem A, et al. Snake venom peptides: tools of biodiscovery. *Toxins (Basel)*, 2018, 10: 474
- [17] Hiu JJ, Yap MKK. Cytotoxicity of snake venom enzymatic toxins: phospholipase A2 and L-amino acid oxidase. *Biochem Soc Trans*, 2021, 48: 719-31
- [18] Sampat GH, Hiremath K, Dodakallanavar J, et al. Unraveling snake venom phospholipase A2: an overview of its structure, pharmacology, and inhibitors. *Pharmacol Rep*, 2023, 75: 1454-73
- [19] Ma Y, He Y, Zhao R, et al. Extreme diversity of scorpion venom peptides and proteins revealed by transcriptomic analysis: implication for proteome evolution of scorpion venom arsenal. *J Proteomics*, 2012, 75: 1563-76
- [20] Simone Y, Van der Meijden A. Armed stem to stinger: a review of the ecological roles of scorpion weapons. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 2021, 27: e20210002
- [21] Xia Z, He D, Wu Y, et al. Scorpion venom peptides: molecular diversity, structural characteristics, and therapeutic use from channelopathies to viral infections and cancers. *Pharmacol Res*, 2023, 197: 106978
- [22] Rash LD, Hodgson WC. Pharmacology and biochemistry of spider venoms. *Toxicon*, 2002, 40: 225-4
- [23] 毕建云, 刘尧, 杨文翠, 等. 蜘蛛毒素及蜘蛛丝的结构与药理作用研究进展. *中国现代应用药学*, 2021, 38: 2475-80
- [24] Guo R, Guo G, Wang A, et al. Spider-venom peptides: structure, bioactivity, strategy, and research applications. *Molecules*, 2023, 29: 35
- [25] Conlon JM, Mechkarska M, Lukic ML, et al. Potential therapeutic applications of multifunctional host-defense peptides from frog skin as anti-cancer, anti-viral, immunomodulatory, and anti-diabetic agents. *Peptides*, 2014, 57: 67-77
- [26] Santana CJC, Magalhães ACM, Prías-Márquez CA, et al. Biological properties of a novel multifunctional host defense peptide from the skin secretion of the Chaco tree frog, *Boana raniceps*. *Biomolecules*, 2020, 10: 790
- [27] Gupta DK, Kaur P, Leong ST, et al. Anti-Chikungunya viral activities of aplysiatoxin-related compounds from the marine cyanobacterium *Trichodesmium erythraeum*. *Mar Drugs*, 2014, 12: 115-27
- [28] Zheng S, Lee V, Meza-Padilla I, et al. Antiviral discovery in toxic cyanobacteria: low hanging fruit in the age of pandemics. *J Phycol*, 2024, 60: 574-80
- [29] Gray WR, Luque A, Olivera BM, et al. Peptide toxins from *Conus geographus* venom. *J Biol Chem*, 1981, 256: 4734-40
- [30] Sommeng AN, Arya RMY, Ginting MJ, et al. Antiretroviral activity of *Pterois volitans* (red lionfish)

- venom in the early development of human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome antiretroviral alternative source. *Vet World*, 2019, 12: 309-15
- [31] Petricevich VL, Mendoca RZ. Inhibitory potential of *Crotalus durissus terrificus* venom on measles virus growth. *Toxicon*, 2003, 42:143-53
- [32] Shimizu JF, Pereira CM, Bittar C, et al. Multiple effects of toxins isolated from *Crotalus durissus terrificus* on the hepatitis C virus life cycle. *PLoS One*, 2017, 12: e0187857
- [33] Salama WH, Shaheen MNF, Shahein YE. Egyptian cobra (*Naja haje haje*) venom phospholipase A₂: a promising antiviral agent with potent virucidal activity against simian rotavirus and bovine coronavirus. *Arch Microbiol*, 2022, 204: 526
- [34] Siniavin AE, Streltsova MA, Nikiforova MA, et al. Snake venom phospholipase A₂s exhibit strong virucidal activity against SARS-CoV-2 and inhibit the viral spike glycoprotein interaction with ACE2. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78: 7777-94
- [35] El-Bitar AM, Sarhan MM, Aoki C, et al. Virocidal activity of Egyptian scorpion venoms against hepatitis C virus. *Virology*, 2015, 12: 47
- [36] Hong W, Zhang R, Di Z, et al. Design of histidine-rich peptides with enhanced bioavailability and inhibitory activity against hepatitis C virus. *Biomaterials*, 2013, 34: 3511-22
- [37] Yan R, Zhao Z, He Y, et al. A new natural α -helical peptide from the venom of the scorpion *Heterometrus petersii* kills HCV. *Peptides*, 2011, 32: 11-9
- [38] Zabihollahi R, Pooshang BK, Keshavarz Z, et al. Venom components of Iranian scorpion *Hemiscorpius lepturus* inhibit the growth and replication of human immunodeficiency virus 1 (HIV-1). *Iran Biomed J*, 2016, 20: 259-65
- [39] Hong W, Li T, Song Y, et al. Inhibitory activity and mechanism of two scorpion venom peptides against herpes simplex virus type 1. *Antiviral Res*, 2014, 102: 1-10
- [40] Zeng Z, Zhang Q, Hong W, et al. A scorpion defensin BmKDFsin₄ inhibits hepatitis B virus replication *in vitro*. *Toxins (Basel)*, 2016, 8: 124
- [41] Ji M, Zhu T, Xing M, et al. An antiviral peptide from *Alopecosa nagpag* spider targets NS2B-NS3 protease of flaviviruses. *Toxins (Basel)*, 2019, 11: 584
- [42] Rothan HA, Bahrani H, Rahman NA, et al. Identification of natural antimicrobial agents to treat dengue infection: *in vitro* analysis of latarcin peptide activity against dengue virus. *BMC Microbiol*, 2014, 14: 140
- [43] Yasin B, Pang M, Turner JS, et al. Evaluation of the inactivation of infectious Herpes simplex virus by host-defense peptides. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2000, 19: 187-94
- [44] Belaid A, Aouni M, Khelifa R, et al. *In vitro* antiviral activity of dermaseptins against herpes simplex virus type 1. *J Med Virol*, 2002, 66: 229-34
- [45] Boyd MR, Gustafson KR, McMahon JB, et al. Discovery of cyanovirin-N, a novel human immunodeficiency virus-inactivating protein that binds viral surface envelope glycoprotein gp120: potential applications to microbicide development. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41: 1521-30
- [46] Xu S, Li H, Shao X, et al. Critical effect of peptide cyclization on the potency of peptide inhibitors against dengue virus NS2B-NS3 protease. *J Med Chem*, 2012, 55: 6881-7
- [47] Okazaki K, Yoshizawa T, Kimura S. Antiviral activity of metabolites of T-2 toxin against herpes simplex virus type 2. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1992, 56: 523-4
- [48] 何晴, 刘铮然, 刘茜, 等. T-2毒素对狂犬病病毒体外复制的抑制作用研究. *病毒学报*, 2022, 38: 1060-8
- [49] Tian YQ, Lin XP, Wang Z, et al. Asteltoxins with antiviral activities from the marine sponge-derived fungus *Aspergillus sp.* SCSIO XWS02F40. *Molecules*, 2015, 21: E34
- [50] Picoli T, Peter CM, Vargas GD, et al. Antiviral and virucidal potential of melittin and apamin against bovine herpesvirus type 1 and bovine viral diarrhea virus. *Pesq Vet Bras*, 2018, 38: 595-604
- [51] 杨文超, 吴珍红, 缪晓青. 蜂毒肽和神蜂精体外抗HSV-1病毒研究. *中国蜂业*, 2010, 61: 14-5
- [52] Enayathullah MG, Parekh Y, Banu S, et al. Gramicidin S and melittin: potential anti-viral therapeutic peptides to treat SARS-CoV-2 infection. *Sci Rep*, 2022, 12: 3446
- [53] Fenard D, Lambeau G, Valentin E, et al. Secreted phospholipases A₂, a new class of HIV inhibitors that block virus entry into host cells. *J Clin Invest*, 1999, 104: 611-8
- [54] Silva ARP, Guimarães MS, Rabelo J, et al. Recent advances in the design of antimicrobial peptide conjugates. *J Mater Chem B*, 2022, 10: 3587-600
- [55] Bellotto O, Semeraro S, Bandiera A, et al. Polymer conjugates of antimicrobial peptides (AMPs) with d-amino acids (d-aa): state of the art and future opportunities. *Pharmaceutics*, 2022, 14: 446