

HIV进入抑制剂研究进展

王凡文, 劳兴珍, 郑珩*, 顾觉奋**

(中国药科大学生命科学与技术学院, 江苏 南京 210009)

[摘要] HIV进入抑制剂主要干预病毒包膜与靶细胞膜融合过程, 可有效预防HIV感染。在HIV进入细胞过程中, HIV包膜糖蛋白gp120首先与宿主细胞膜上的CD4分子结合, 使gp120构型变化, 继而与CCR5或CXCR5等辅助受体结合, 诱使跨膜亚基gp41构型改变, HIV包膜与细胞膜空间靠近, 最终融合。基于这一过程, 可通过筛选与gp120结合的化合物、设计CD4模拟物、研制CD4或CCR5单抗、构建辅助受体抑制剂等方法, 从各个方面干预HIV的进入。对HIV进入抑制剂的靶标和药物研发进展进行概述。

[关键词] HIV进入抑制剂; 抗病毒活性; 模拟物

[中图分类号] R978.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2018) 02-0113-09

Research Progress in HIV Entry Inhibitors

WANG Fanwen, LAO Xingzhen, ZHENG Heng, GU Juefen

(School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] HIV entry inhibitors can effectively prevent HIV infection mainly by interfering with the fusion process of virus envelope and cell membrane. During the entry of HIV into cells, HIV-coated glycoprotein gp120 first binds with CD4 molecules on host cell membrane to cause conformational changes of gp120. Then, the subsequent binding of gp120 with CCR5 or CXCR5 induces conformational changes of gp41, making the virus further approach and finally fuse to target cell. Strategies like screening for compounds that bind to gp120, designing CD4 mimics, developing CD4 or CCR5 monoclonal antibodies and constructing accessory receptor inhibitors have been developed to prevent viral entry. The progresses in targets of HIV entry inhibitors and new drugs R&D have been reviewed in this paper.

[Key words] HIV entry inhibitor; antiviral activity; mimics

艾滋病(AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(HIV)引起的重大传染疾病, 迄今已导致3 500多万人死亡, 2016年有100万人死于艾滋病相关疾病^[1]。HIV具有高度变异性, 1983年发现至今仍未有安全有效的抗HIV疫苗问世。1987年, 第1个抗HIV药物齐多夫定(zidovudine, AZT)获批准上市。抗HIV药物按照作用机制可以分为核苷类逆转录酶抑制剂(typically 2 nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTIs)、非核苷类逆转录酶抑制剂(non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTIs)、蛋白酶抑制剂(protease inhibitors, PIs)、整合酶抑制剂(integrase inhibitors, INIs)和进入抑制剂(entry inhibitors), 批准上市的NRTIs有13种, NNRTIs 6种, PIs 11种, INIs 3种,

进入抑制剂2种^[2], 以NRTIs和PIs为主。高效抗逆转录病毒疗法(highly active anti-retroviral therapy, HAART)联合使用这些抑制剂, 在病毒进入与复制的各个时期进行干扰, 在很大程度上取得疗效, 但不能治愈, 会有不同程度的毒副作用与耐药性。

抑制HIV进入即阻止HIV与靶细胞的融合被认为是预防HIV感染的关键。HIV进入CD4⁺T细胞的过程主要依靠细胞表面的CD4分子与辅助受体。首先, 暴露在外的gp120通过连接处与CD4进行结合, 随着结合的深入, gp120内外部发生相对的空间移动, 构型变化, 有助于与辅助受体CCR5和CXCR4结合, 其中, gp120 V3环顶端与CCR5的ECL2结合, V3基部及连接处与受体N端相结合。Gp41的N末端7个重复序列(N-terminal heptad repeat, NHR)伸展成发夹结构, 与C末端7个重复序列(C-terminal heptad repeat, CHR)反向平行形成六螺旋束(6-HB)构象, 插入细胞膜中。病毒包膜上的3个6-HB可固定融合孔, 拉近病毒包膜与细胞膜的距离, 保证HIV RNA的顺利进入, 最终发生膜融合。故按作用机制可将HIV进入抑制剂分为以下3类: 1) 黏附抑制剂, 以gp120

接受日期: 2018-01-09

项目资助: 江苏高校优势学科建设工程资助项目;

***通讯作者:** 郑珩, 副教授;

研究方向: 微生物和生物制药研究;

Tel: 025-83271001; **E-mail:** zhengh18@hotmail.com

****通讯作者:** 顾觉奋, 教授;

研究方向: 微生物和生物制药研究;

E-mail: juefengu@126.com

和 CD4 为研究靶点; 2) 辅助受体抑制剂, 以 CCR5 和 CXCR4 为研究靶点; 3) 融合抑制剂, 以 gp41 的 NHR 和 CHR 以及近膜外侧区 (membrane-proximal external region, MPER) 为研究靶点。HIV 进入抑制剂可以是蛋白多肽类、中和抗体类, 也可以是有机小分子。已获 FDA 批准的有针对 gp41-NHR 的融合抑制剂恩夫韦肽 (enfuvirtide, ENF)^[3] 和 CCR5 辅助受体拮抗剂马拉韦罗 (maraviroc, MVC)^[4], 处于临床研究阶段的有 cenicriviroc、PRO 140 和 fostemsavir (GSK3684934/BMS-663068, **1**) (见表 1)。大多的进入抑制剂有着良好的药动学特征, 不会引发严重不良反应。HIV 进入抑制剂耐药性产生的主要原因有: gp120 与 gp41 序列的改变^[5]、HIV *Env* 区变异以及 gp120 与其他非高频

使用辅助受体结合等。本文主要介绍一些在研 HIV 进入抑制剂的研究进展。

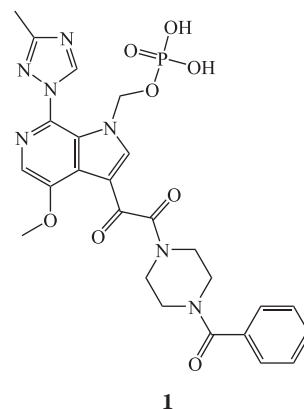


表1 已上市和处于临床研究阶段的HIV进入抑制剂

Table 1 HIV entry inhibitors listed and in clinical development

通用名	类型	研发状况	公司
马拉韦罗 (maraviroc)	CCR5辅助受体拮抗剂	2007年上市	辉瑞
恩夫韦肽 (enfuvirtide)	融合抑制剂	2003年上市	罗氏
fostemsavir	CD4结合抑制剂	III期临床	ViiV
PRO 140	CCR5受体单克隆抗体	IIb/III期临床	CytoDyn
cenicriviroc	CCR5/CCR2受体拮抗剂	IIb期临床	Tobira Therapeutics
艾博韦泰 (albuvirtide)	融合抑制剂	III期临床	前沿生物

1 黏附抑制剂

HIV gp160 是靶细胞内质网中由 *Env* 基因合成的前体蛋白, 在高尔基体中经由一系列糖基化修饰与酶切形成大小不同的 2 种蛋白: gp120 和 gp41, 2 种蛋白通过非共价形式连接形成病毒包膜的 3 个刺突。由于其暴露在外, 是病毒中可被中和抗体识别的唯一结构。其中 gp120 具有 18 个半胱氨酸残基, 含 5 个可变区 V1~V5 以及间隔在其中的 5 个保守区 C1~C5, 通过二硫键连接 V1 和 V4 成环, 结构如图 1 所示。V1/V2 区高度糖基化, 保护 gp120 的保守区域, 遮掩受体结合位点, 并保护病毒免受抗体的侵害^[6]。V3 区参与同辅助受体的结合, 还能诱导产生抗体中和。有研究发现, 截弃 V3 环后, *Env* 蛋白将丢失部分功能, HIV-1 变异株对中和抗体更加敏感^[7]。

Fostemsavir 是百时美施贵宝公司研制的一种新型 HIV 进入抑制剂, 可与 HIV gp120 结合, 从而抑制病毒对 CD4⁺T 细胞的侵害。试验结果表明, fostemsavir 可以与不同机制的抗 HIV-1 药物联合使用, 具有协同作用, 对 HIV 的 EC₅₀ 低于 10 nmol·L⁻¹。Landry 等^[8]评估了

不同剂量 fostemsavir 的临床疗效, 观察到给药组 HIV 病毒 RNA 拷贝数均降低, 每日给药 2 次比每日给药 1 次效果更好, 其中 600 mg (bid) 被认为是开展进一步临床研究的最适剂量。

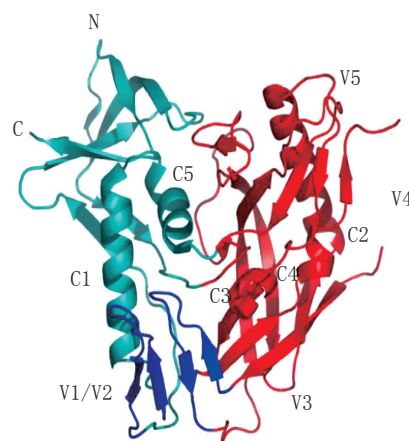


图1 HIV gp120三维结构图

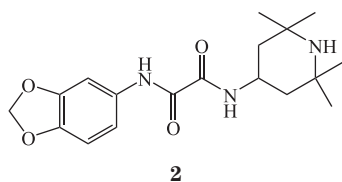
Figure 1 Three-dimensional structure of HIV gp120

在 gp120 与 CD4 结合时, gp120 上有个凹槽可以与 CD4 的 Phe43 结合并固定 gp120 与 CD4 的结合

体, 被称为 Phe43 凹槽 (Phe43 cavity)。CD4 模拟物可与病毒 gp120 结合, 从而阻止病毒与 CD4⁺T 细胞的结合, 例如 Morellato-Castillo 等^[9]对 CD4 模拟蛋白 (miniCD4s) 上 Phe43 残基用 11 种非天然苯丙氨酸进行替换, 从中筛选得到 M48U12, 该蛋白与 gp120 亲和力较强, 对 HIV 毒株具有良好的抑制活性。类似地, Curreli 等^[10]用非天然氨基酸替换, 并用叔丁氧羰基 (Boc) 和苄氧羰基 (Fmoc) 修饰得到一种新的 CD4 模拟蛋白 882376, 其对大部分 HIV 亚型如 A、A/G 和 B 型有良好的抑制作用, 抑制病毒包膜与细胞膜融合的 IC₅₀ 为 10 μmol·L⁻¹, 将 882376 的保护基团 Boc 和 Fmoc 移除, 抗病毒活性丧失。

TaiMed Biologics 公司研制的 ibalizumab (TMB-355), 是一种人源 IgG4 抗 CD4 单抗, 可以与 CD4⁺T 细胞受体的结构域 2 相结合。目前在申报新药阶段。已有研究报道, ibalizumab 联合优化背景疗法 (optimized background therapy, OBR) 治疗多药耐药的 HIV 患者, 具有一定的效果, 没有明显的毒副作用^[11]。Ibalizumab 与抗 gp120 抗体的联合使用也展现了良好的前景^[12]。

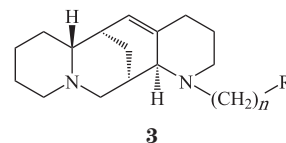
Mizuguchi 等^[13]报道了一种小分子的 CD4 模拟物 (2), 其哌啶环可以与 Phe43 凹槽内的 Val430 结合, 还可以增强 4C11 (一种 CD4 诱导的单抗) 与表达 Env 蛋白的细胞的结合力。对 R5 型 T2M-bl 细胞的 IC₅₀ 值为 6.2 μmol·L⁻¹, 但该化合物没有明显的毒副作用, 且体内半衰期长 (105 min), 是一种很有前景的先导化合物。



淋巴趋化因子 XCL1 具有趋化 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞的能力, 与经典的 HIV 抑制趋化因子如 CCL5/RANTES 不同, XCL1 可直接与病毒包膜糖蛋白相互作用。XCL1 的 β 型的异构体 W55D 可与糖胺聚糖 GAGs 反应, 而不与 XCL1 受体反应, 具有良好的抗病毒能力。将 W55D 第 40 位环上的碱性氨基酸 K42 和 R43 用 Ala 替代, 则不能与 gp120 结合; 此外, 对 R18、R35 和 K16 进行单个点突变, 抑制 HIV 病毒的能力将丧失; 而用 Arg 替换 K42 不影响其生物活性^[14]。

Dang 等^[15]研究表明, 苦豆碱及其衍生物 (结构通

式为 3) 可以抑制 HIV 进入细胞, 其中当 n 为 4 且 R 为对三氟甲基苯甲酰胺时, 化合物具有最强的抗 HIV-1 活性, EC₅₀ 为 0.69 μmol·L⁻¹; 当 n 为 4 且 R 为对三氟甲氧基苯乙酰胺时, EC₅₀ 为 0.75 μmol·L⁻¹, 其对 HIV B/C/G 亚型以及一些流行重组型 (CRF) 均有效。苦豆碱的衍生物还可以对 BMS-806 耐药病毒 YU2-T198P 和 8x 产生抑制作用。



Kanizsai 等^[16]报道了另一类进入抑制剂, 其代表化合物巯基嘧啶衍生物 DS53, 可以抑制 HIV-1_{IIIb} 和 HIV 假病毒的侵入。CD4 与 gp120 上的 -SH 对 HIV 进入均是必需的, 当 HIV 与淋巴细胞发生反应的时候, 会有成簇的二硫键分布在 gp120 结合位点附近。而 CD4 结构域上的二硫键具有氧化还原的特性, 由 T 细胞分泌的表面硫氧蛋白所调控。DS53 可以与 -SH 反应, 抑制 CD4 与 gp120 的结合, 对于具有 CCR5 或 (和) CXCR4 辅助受体的假病毒有很高的抗病毒活性, 大约是 4- 硫代尿苷酸 (UD29)^[17] 的 14 倍。

2 辅助受体抑制剂

2.1 CCR5抑制剂

CCR5 为 β 趋化因子的受体, 不仅参与 HIV 的侵入, 还影响着肿瘤的发生与发展。其一级结构如图 2 所示, N 端位于胞外, C 端位于胞内, 中间有胞外环 (ECL) 和胞内环 (ICL) 各 3 个, 跨膜 α 螺旋 (TM) 7 个。CCR5 的晶体学结构显示, 其 N 末端是由 P8-S17 组成的 α 螺旋, 被 gp120 导向与其 V3 和 C4 部分的碱基进行结合。3 个 ECL 尤其是 ECL2 对于 HIV 的进入至关重要, V3 顶部的 R315 同 ECL2 的 E283 相结合, 与 ECL2 或者 ECL1 和 ECL3 序列相关的肽具有抗病毒活性。

马拉韦罗 (maraviroc, MVC), 一种 CCR5 辅助受体拮抗剂, 于 2007 年获 FDA 批准上市, 只对 R5 型有效。近年研究发现 MVC 具有降低艾滋病毒感染神经病症的作用, 可通过改善神经认知功能来治疗 HIV 神经认知障碍 (HIV-associated neurocognitive disorders, HAND)^[18]。

人源化 PA14 抗体 PRO140, 是 Cytodyn 公司研制的一种 CCR5 单克隆抗体, 可以在不影响细胞天然活性的前提下抑制 HIV 进入细胞, 阻止病毒复制。PRO140 与 CCR5 竞争性结合 gp120, 竞争效应可维持 2 个月,

且对其他融合抑制剂如 MVC 耐药毒株具有抑制作用。目前处于 IIb/III 期临床研究阶段, 治疗剂量为每周 140 或 350 mg^[19]。

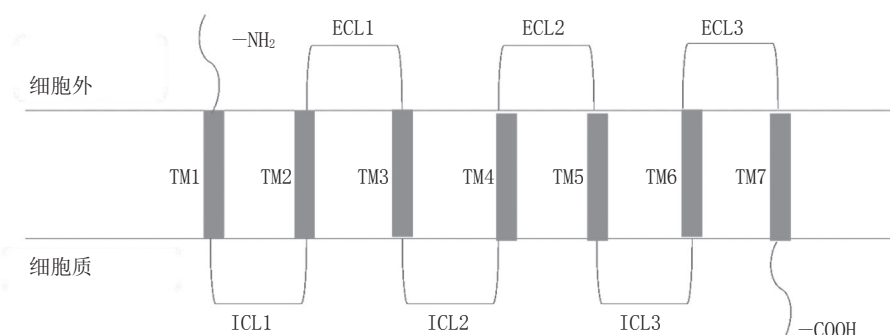
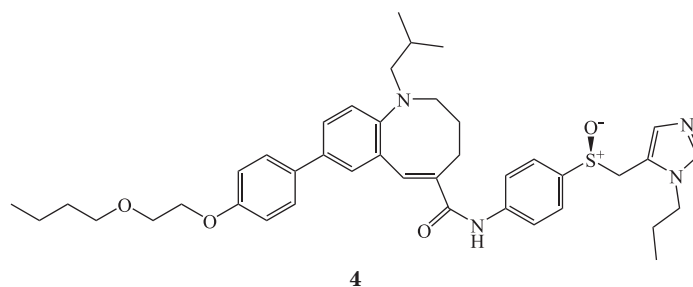


图2 CCR5一级结构

Figure 2 Primary structure of CCR5

Cenicriviroc (TAK-652, CVC, **4**) 是由 Tobira 公司研制的 CCR5 受体抑制剂, 通过与免疫细胞表面的 CCR5 相结合, 抑制 R5 病毒侵入细胞。TAK-652 还可以与 2 型 C-C 趋化因子配体 (CCR2) 相结合, 从而产生抗炎作用。Gp120 V3 区是产生 TAK-652 抗性的关键区域^[20]。该药目前正处于 II b 期临床研究阶段。Thompson 等^[21]将 143 例患者分为 3 组, 分别给予 CVC 100 mg ($n=59$)、200 mg ($n=56$) 和依法韦仑 (efavirenz, EFV) 600 mg ($n=28$), 联合其他抗逆转录药物进行为期 48 周的双盲试验。治疗 24 周时病毒

抑制率分别为 76%、73%、71%; 治疗 48 周时分别为 68%、64%、50%。当 CVC 最低血浆浓度为 $47.8 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 无病毒学反应。CVC 治疗组有 5 例受试者出现了耐药。CVC 组总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇降低, 而 EFV 组增加。随着 CVC 剂量的增加, CCL2 数目增加, 可溶性 CD14 数目降低, 脂多糖性炎症反应受到影响。CVC 比 EFV 更易耐受, 很少有因不良反应引发停药的状况。CVC 在初治 HIV-1 感染者中显示了较好的安全性和抗病毒活性, 有望进入 III 期临床试验。



4

Abayev 等^[22]研制了一种 CCR5-ECL2 相关肽 (CCR5 序列 168~197 的肽段) ECL2S, 将 ECL2 的 Cys178 替换成 Ser, N 端与 C 端分别连一个 GSGS (Gly-Ser-Gly-Ser tag), 使其在中性条件下可溶, 并避免了二硫键产生的影响。ECL2S 与 gp120 结合时, V3 区没有明显变化, 末端芳香族氨基酸可直接与 gp120 反应。当低于生理 pH 值时, V3 区的参与反而降低 ECL2S 与 gp120 的结合率。

2.2 CXCR4 抑制剂

CXCR4 是嗜 T 细胞性病毒的辅助受体, 有学者提出 gp120 中 V3 区第 11 与 25 位氨基酸的电荷性质以及 V4 区的负电荷量会影响 HIV 对于辅助受体的选择, 当 V3 两个位点的氨基酸均带正电荷时, 倾向于与 CXCR4 结合^[23-24]。

SDF-1 α 又称 CXCL 12 α , 与其受体 CXCR4 一同参与趋化信号转导, 并参与肿瘤的转移、血管生成以

及发生发展。低浓度的 SDF-1 α 就可以干扰 HIV-1 与 CXCR4 的结合,一方面, SDF-1 α 与 CXCR4 间通过天冬氨酸和谷氨酸之间形成盐桥进行结合,产生空间障碍^[25],另一方面, SDF-1 α 介导细胞表面 CXCR4 的内吞作用使其下调,从而抑制 HIV 感染。

CXCR4 拮抗剂如 AMD3100 和 AMD0070 均可以减少 X4 病毒装载量,然而进入 II 期临床的 AMD3100 被报道口服生物利用度低,且会导致心脏功能紊乱。Wu 等^[26]在其基础上用嘌呤替换喹唑啉核心,侧链的 m 与 n 位置处添加亚甲基,合成的新化合物可以与 CXCR4 的关键残基产生疏水作用,抑制 SDF-1 α 与 CXCR4 反应, IC₅₀ 为 16.4 nmol·L⁻¹,抗病毒活性是 AMD3100 的 130 倍,且两者在高剂量下均可以动员 CXCR4⁺/CD34⁺ 干细胞。喹唑啉核心的替换大大降低了细胞毒作用,亚甲基的加入增强了抗 HIV 活性,末端环己基基团的加入同样有着不可替代的作用。Puig

de la Bellacasa 等^[27]合成了 3 种对甲基胺苯的衍生物,构效关系研究结果表明,中心苯环两旁的亚甲基对其活性也有重要作用, EC₅₀ 在 0.072~0.362 μ mol·L⁻¹ 之间,活性优于 AMD3100。

3 融合抑制剂

HIV-1 gp41 由胞外域、跨膜结构域和细胞质结构域组成,如图 3 所示,胞外域又包括融合肽(fusion peptide, FP)、NHR 和 CHR。3 个 NHRs 组成内核,与 3 个 CHRs 反向并联,形成 6-HB。晶体学分析表明 NHR 三聚体中的每个凹槽含有深疏水口袋,在 gp41 介导的膜融合中起重要作用。利用 NHR 或 CHR 制成的肽类物质,可形成稳定的 6HB 结构,抑制膜融合。目前在研的 NHR 类似物有 N36、N42、N36F10 等,在溶液中会产生多聚体,而 CHR 类似物在溶液中以单体形式呈现,具有更好的抗病毒效果。

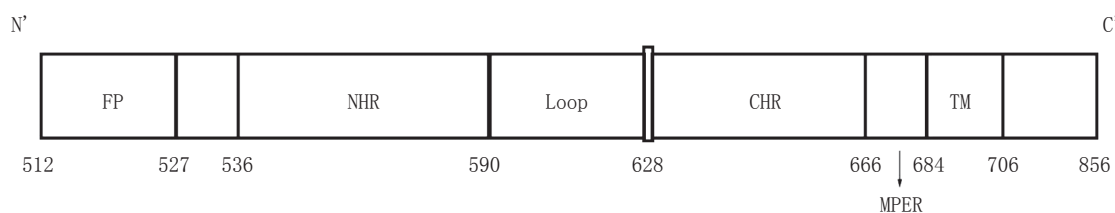


图3 HIV gp41 结构
Figure 3 Structure of HIV gp41

目前唯一获批上市的融合抑制剂 T20 是 gp41 的 CHR/MPER (638-673) 序列相关肽,体内半衰期短、肾清除快、口服生物利用度低。T20 皮下给药的频率是每天 2 次,有明显的注射位点反应,临床上多用作补救疗法。第二代药物 T1249^[28]和 T1144 旨在解决 T20 耐药性,但由于其降解速度快,生产成本低,研究人员基于 T20 和 T1144 研制出嵌合蛋白 TLT35,可在大肠埃希菌中表达,在纳摩尔水平即显示抗 HIV 活性,是 T20 或 T1144 单独用药的 10~100 倍。另一个嵌合体 2DLT,含 T1144 和 CD4 的 D1D2 区的基因,其中 D1D4 与 gp120 结合,暴露出 gp41 与 T144 结合,与其他抗病毒药物联合使用具有协同增效的作用^[29]。为了克服这些肽类抑制剂的短半衰期缺陷,研究人员对其进行了修饰,诸如对 C34 肽进行多个氨基酸置换和共价修饰而研制的艾博韦泰(albuviride, ABT/FB006M)^[30]、第 3 代 D 型肽 PIE12^[31]以及胆固醇连接肽 C34-Chol

(S007/L'644)^[32],均显示出更强的抗病毒活性和更长的半衰期。

以 gp41 N 端螺旋表面的疏水口袋为靶点的小分子抑制剂,可破坏 6-HB 的形成,从而抑制 HIV 与靶细胞膜的融合。或者设计含有 N 端疏水口袋结合域(pocket-binding domain, PBD)的 CHR 类物质与病毒 gp41 N 端结合并形成 6-HB 增加空间障碍,遏制病毒内部 6-HB 形成,发挥抗病毒活性^[33]。相对于多肽或蛋白质,小分子抑制剂生产成本低,半衰期长,口服生物利用度更高,可为广大患者带来很大便利。目前已报道的小分子抑制剂有 ADS-J1、NB-2、NB-64、A12、GLS-22、NB-206、5M038、5M041、SB-D10、H2NAsn-[Trp]-Trp-OH、C7-Mn34-Mn42 以及吡啶类化合物^[34]等。

Gp41 蛋白上 CHR 后面的 MPER 区是研究中和抗体的重要靶点。人类抗体 35O22、Z13、2F5、4E10 和 10E8 均可以与 MPER 结合,中和 HIV-1^[29]。但 MPER

结构变化比较快, 给此靶点的设计带来了很大障碍。研究人员将目光转向分离和克隆外周血中的记忆 B 细胞^[35], 无需了解靶序列即可分离出具有所需功能特征的抗体, 由此涌现出一大批极具开发前景的中和抗体, 可通过干扰 gp41 达到预期的抗病毒效果。

4 双功能抑制剂

鸡尾酒疗法的联合用药会产生药物在体内分布不均的现象, 为了改善这一缺点, Li 等^[36]用可降解的纳米聚合物封装核苷类逆转录酶抑制剂 DAAN-14f, 表面连接一个融合抑制剂 T1144, 研制了 T1144-NP-DAAN-14f (T1144-NP-14f), 如图 4 所示。T1144-NP-14f 直

径为 $(117.0 \pm 18.9) \text{ nm}$, 与纳米粒直径 $(92.8 \pm 5.3) \text{ nm}$ 相比没有显著性差异。与 T1144 相似, T1144-NP-14f 也可以结合在 gp41 N 末端的 NHR 上, 抑制 6-HB 形成, IC_{50} 为 $9.78 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。新的鸡尾酒疗法药物在不影响生物活性的前提下, 增强了 T1144 的内吞作用, 控制药物释放, 确保了足够的胞内药物浓度, 延长了药物在体循环中的时间。实验表明, T1144-NP-14f 对 HIV-1_{IIIb} 和 Bal 的 IC_{50} 均高出单个抑制剂的 20 倍以上, 且对于 NNRTI 抗性株如 A17、RTMDR1 和 T1144 抗性株以及 T20 抗性株均有良好的活性。体外细胞毒性实验表明, 该双功能抑制剂没有产生细胞毒作用, 有望成为安全高效的抗 HIV-1 病毒药物。

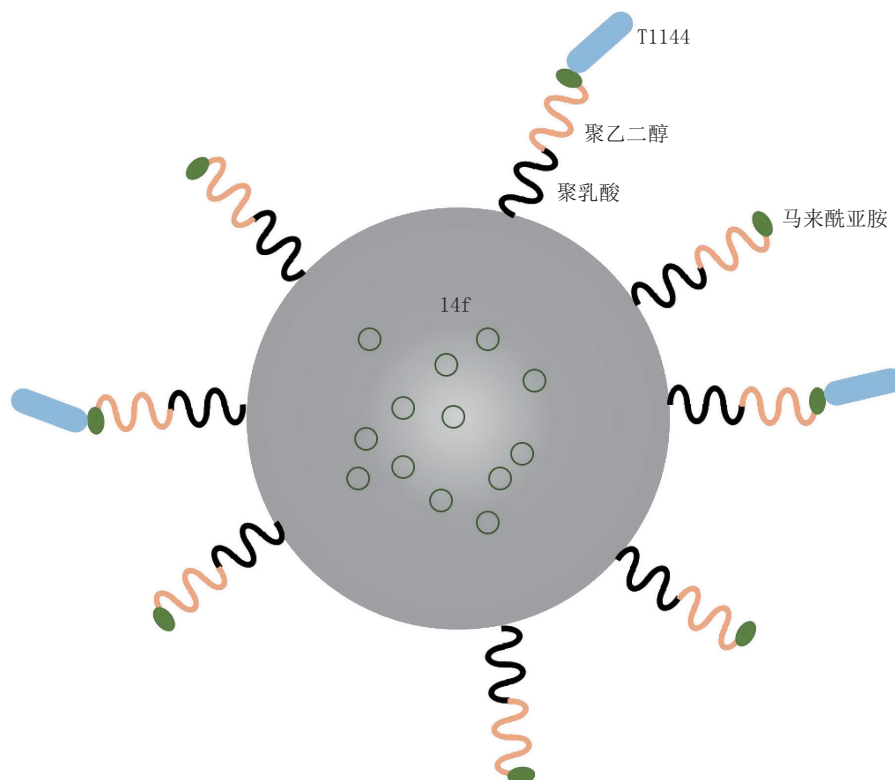


图4 T1144-NP-14f 结构
Figure 4 Structure of T1144-NP-14f

5 结语

HIV 感染仍然是一个重大的全球公共卫生问题, 2016 年新增 HIV 感染患者在 180 万左右。全球约半数的 HIV 感染者接受高效抗逆转录病毒药物治疗 (highly active anti-retroviral therapy, HAART), 显著延缓了病情发展, 寿命也得到延长。但随着 HIV 耐药株的出现, 以及现有药物自身的一些缺点, 临床上急需新的高效安全的抗病毒药物来应对。

早期的抗 HIV 药物多以 NRTIs 为主, 近年来被批准的产品以复方药居多。虽然自 ENF 和 MVC 以来, 没有其他 HIV 进入抑制剂获 FDA 批准, 但一大批具有潜力的进入抑制剂正处于临床研究阶段, 如 CVC 片剂已进入 II b 期临床, PRO 140 肌肉注射剂已进入 II b/ III 期临床, 临床不良反应小, 有望进入 III 期临床, 艾博韦泰已进入 III 期临床。表 2 总结了一些在研的 HIV 进入抑制剂。

表2 处于临床前和早期临床研究阶段的HIV进入抑制剂

Table 2 HIV entry inhibitors in preclinical and early clinical studies

分类	靶标	在研药物
黏附抑制剂	gp120	苦豆碱及其衍生物 ^[13] , W55D ^[12] , BMS-626529 ^[8]
	CD4	ibalizumab, CD4模拟物 ^[11] , DS53 ^[14]
共受体拮抗剂	CCR5	ECL2S ^[20]
	CXCR4	SDF-1 α ^[23] , AMD-3100 修饰物 ^[24]
融合抑制剂	NHR	吡啶类化合物 ^[32] , ADS-J1, 5M038, 5M041 ^[28]
	CHR	2DLT, sifuvirtide ^[28] , PIE12 ^[30] 胆固醇连接肽C34-Chol (S007/L' 644) ^[31]
双功能抑制剂		T1144-NP-14f ^[35]

为了增强抗 HIV-1 进入小分子抑制剂的活性, 改善药物特性, 研究人员主要运用以下 4 种方案设计新的药物结构: 第 1 种方案是从商业化合物与活性物文库中进行高通量筛选; 第 2 种方案是通过改变先导化合物分子结构中的个别亚基, 得到一系列的活性拮抗剂, 在增强生物活性的同时, 改善药动学参数以及稳定性和可溶性; 第 3 种方案是基于某些药效基团, 设计出具有生物活性的结构; 第 4 种方案是筛选抗体和抗体类似物。广谱中和抗体如 3BNC117、VRC01 和 10E8 可介导免疫反应, 从而抑制多种类型的 HIV-1 感染^[37]。Huang 等^[38] 筛选得到一种单抗 35O22, 其可与 gp120、gp41 表面相结合。Latinovic 等^[39] 应用纳米制剂技术或将抑制剂与免疫球蛋白连接, 以改善药物的靶向性, 增强其稳定性, 延长体内半衰期, 如 MVC 与 IgG1 的融合长效蛋白, 可显著增强对 MVC 敏感性或抗药性 R5 型 HIV 的抗病毒活性, 且患者体内产生的 IgG 可以中和

一些融合抑制剂的突变体。另外, 由于 HIV 进入抑制剂作用靶点不尽相同, 各类进入抑制剂耐药发生机制也不同, 联合用药可以对抗多种 HIV 耐药株。CHR 衍生肽 ENF 毒性较低, 与替拉那韦 (tipranavir)、地瑞那韦 (darunavir) 和 MVC 一同使用可以显著增强抗病毒效果。HIV gp120 Phe43 凹槽以及 gp41 两端的重复序列和 MPER 上的疏水口袋都是具有开发潜力的靶点。

虽然与 NRTIs 和蛋白酶抑制剂类抗 HIV 药物相比, 获得 FDA 批准的 HIV 进入抑制剂数量较少, 但由于它与 NRTIs 等药物作用靶点不同, 联合给药可以有效减缓耐药株的产生, 因此也是近年来研究的重要方向之一。目前筛选的大多数进入抑制剂还在体外实验阶段, 加之对进入抑制剂的耐药株的出现, 毒副作用及解决化合物成药性的生物利用度和溶解度等问题均需深入研究, HIV 进入抑制剂的研发还有很长一段路要走。

[参考文献]

- [1] WHO. HIV/AIDS, Fact Sheet [EB/OL]. [2017-09-11]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/>.
- [2] FDA. Antiretroviral drugs used in the treatment of HIV infection [EB/OL]. (2016-09-08) [2017-09-12]. <https://www.fda.gov/forpatients/illness/hiv/aids/treatment/ucm118915.htm>.
- [3] Lazzarin A, Clotet B, Cooper D, et al. Efficacy of enfuvirtide in patients infected with drug-resistant HIV-1 in Europe and Australia [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(22): 2186-2195.
- [4] Montaner J S, Hogg R, Wood E, et al. The case for expanding access to highly active antiretroviral therapy to curb the growth of the HIV epidemic [J]. *Lancet*, 2006, 368(9534): 531-536.
- [5] Madani N, Perdigoto A L, Srinivasan K, et al. Localized changes in the gp120 envelope glycoprotein confer resistance to human immunodeficiency virus entry inhibitors BMS-806 and #155 [J]. *J Virol*, 2004, 78(7): 3742-3752.
- [6] Yang X, Tomov V, Kurteva S, et al. Characterization of the outer domain of the gp120 glycoprotein from human immunodeficiency virus type 1 [J]. *J Virol*, 2004, 78(23): 12975-12986.
- [7] Laakso M M, Lee F H, Haggarty B, et al. V3 loop truncations in HIV-1 envelope impart resistance to coreceptor inhibitors and enhanced sensitivity to neutralizing antibodies [J]. *PLoS Pathog*, 2007, 3(8): e117.
- [8] Landry I, Zhu L, Abu T M, et al. Model-based phase 3 dose selection for HIV-1 attachment inhibitor prodrug BMS-663068 in HIV-1-infected patients: population pharmacokinetics/pharmacodynamics of the active moiety, BMS-626529 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(5): 2782-2789.

- [9] Morellato-Castillo L, Acharya P, Combes O, *et al.* Interfacial cavity filling to optimize CD4-mimetic miniprotein interactions with HIV-1 surface glycoprotein [J]. *J Med Chem*, 2013, 56(12): 5033-5047.
- [10] Curreli F, Haque K, Xie L, *et al.* Synthesis, antiviral activity and resistance of a novel small molecule HIV-1 entry inhibitor [J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23(24): 7618-7628.
- [11] Irani V, Guy A J, Andrew D, *et al.* Molecular properties of human IgG subclasses and their implications for designing therapeutic monoclonal antibodies against infectious diseases [J]. *Mol Immunol*, 2015, 67: 171-182.
- [12] Song R, Pace C, Seaman M S, *et al.* Distinct HIV-1 neutralization potency profiles of ibalizumab-based bispecific antibodies[J]. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr*, 2016, 73: 365-373.
- [13] Mizuguchi T, Harada S, Miura T, *et al.* A minimally cytotoxic CD4 mimic as an HIV entry inhibitor [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(2): 397-400.
- [14] Guzzo C, Fox J C, Miao H, *et al.* Structural determinants for the selective anti-HIV-1 activity of the all-beta alternative conformer of XCL1 [J]. *J Virol*, 2015, 89(17): 9061-9067.
- [15] Dang Z, Zhu L, Lai W, *et al.* Aloperine and its derivatives as a new class of HIV-1 entry inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2016, 7(3): 240-244.
- [16] Kanizsai S, Ongradi J, Aradi J, *et al.* New approach for inhibition of HIV entry: modifying CD4 binding sites by thiolated pyrimidine derivatives [J]. *Pathol Oncol Res*, 2016, 22(3): 617-623.
- [17] Beck Z, Kis A, Berenyi E, *et al.* 4-Thio-uridylyate (UD29) interferes with the function of protein-SH and inhibits HIV replication *in vitro* [J]. *Pharmacol Rep*, 2009, 61(2): 343-347.
- [18] Gates T M, Cysique L A, Siefried K J, *et al.* Maraviroc-intensified combined antiretroviral therapy improves cognition in virally suppressed HIV-associated neurocognitive disorder [J]. *AIDS*, 2016, 30(4): 591-600.
- [19] ClinicalTrials.gov. CytoDyn, I. Study of PRO 140 SC as Single Agent Maintenance Therapy in Virally Suppressed Subjects with CCR5-tropic HIV-1 Infection [EB/OL]. [2017-09-20]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02859961?term=HIV+entry+inhibitors&phase=2&draw=1&rank=10>.
- [20] Kuwata T, Enomoto I, Baba M, *et al.* Incompatible natures of the HIV-1 envelope in resistance to the CCR5 antagonist cenicriviroc and to neutralizing antibodies [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 60(1): 437-450.
- [21] Thompson M, Saag M, DeJesus E, *et al.* A 48-week randomized phase 2b study evaluating cenicriviroc versus efavirenz in treatment-naïve HIV-infected adults with C-C chemokine receptor type 5-tropic virus [J]. *AIDS*, 2016, 30(6): 869-878.
- [22] Abayev M, Moseri A, Tchaicheeyan O, *et al.* An extended CCR5 ECL2 peptide forms a helix that binds HIV-1 gp120 through non-specific hydrophobic interactions [J]. *FEBS J*, 2015, 282(10): 1906-1921.
- [23] Huang C C, Tang M, Zhang M Y, *et al.* Structure of a V3-containing HIV-1 gp120 core [J]. *Science*, 2005, 310(5750): 1025-1028.
- [24] Li Y, Yang D, Wang J Y, *et al.* Critical amino acids within the human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein V4 N- and C-terminals contribute to virus entry [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e86083.
- [25] Tamamis P, Floudas C A. Elucidating a key component of cancer metastasis: CXCL12 (SDF-1 α) binding to CXCR4 [J]. *J Chem Inf Model*, 2014, 54(4): 1174-1188.
- [26] Wu C H, Wang C J, Chang C P, *et al.* Function-oriented development of CXCR4 antagonists as selective human immunodeficiency virus (HIV)-1 entry inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2015, 58(3): 1452-1465.
- [27] Puig de la Bellacasa R, Gibert A, Planesas J M, *et al.* Nitrogen positional scanning in tetramines active against HIV-1 as potential CXCR4 inhibitors [J]. *Org Biomol Chem*, 2016, 14(4): 1455-1472.
- [28] Eron J J, Gulick R M, Bartlett J A, *et al.* Short-term safety and antiretroviral activity of T-1249, a second-generation fusion inhibitor of HIV [J]. *J Infect Dis*, 2004, 189(6): 1075-1083.
- [29] Yi H A, Fochtman B C, Rizzo R C, *et al.* Inhibition of HIV entry by targeting the envelope transmembrane subunit gp41 [J]. *Curr HIV Res*, 2016, 14(3): 283-294.
- [30] Chong H, Yao X, Zhang C, *et al.* Biophysical property and broad anti-HIV activity of albuvirtide, a 3-maleimidopropionic acid-modified peptide fusion inhibitor [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e32599.
- [31] Francis J N, Redman J S, Eckert D M, *et al.* Design of a modular tetrameric scaffold for the synthesis of membrane-localized D-peptide inhibitors of HIV-1 entry [J]. *Bioconjug Chem*, 2012, 23(6): 1252-1258.
- [32] Hollmann A, Matos P M, Augusto M T, *et al.* Conjugation of cholesterol to HIV-1 fusion inhibitor C34 increases peptide-membrane interactions potentiating its action [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e60302.
- [33] Liu S, Jing W, Cheng B, *et al.* HIV gp41 C-terminal heptad repeat contains multifunctional domains. Relation to mechanisms of action of anti-HIV peptides [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(13): 9612-9620.
- [34] Zhou G, Sofiyev V, Kaur H, *et al.* Structure-activity relationship studies of indole-based compounds as small molecule HIV-1 fusion inhibitors targeting glycoprotein 41 [J]. *J Med Chem*, 2014, 57(12): 5270-5281.
- [35] Huang J, Doria-Rose N A, Longo N S, *et al.* Isolation of human monoclonal antibodies from peripheral blood B cells [J]. *Nat Protoc*, 2013, 8(10): 1907-1915.
- [36] Li W, Yu F, Wang Q, *et al.* Co-delivery of HIV-1 entry inhibitor and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor shuttled by nanoparticles: cocktail therapeutic strategy for antiviral therapy [J]. *AIDS*, 2016, 30(6): 827-838.

- [37] Alam M, Kuwata T, Shimura K, *et al.* Enhanced antibody-mediated neutralization of HIV-1 variants that are resistant to fusion inhibitors [J]. *Retrovirology*, 2016, 13(1): 70.
- [38] Huang J, Kang B H, Pancera M, *et al.* Broad and potent HIV-1 neutralization by a human antibody that binds the gp41-gp120 interface [J]. *Nature*, 2014, 515(7525): 138-142.
- [39] Latinovic O S, Zhang J, Tagaya Y, *et al.* Synergistic inhibition of R5 HIV-1 by the fusion protein (FLSC) IgG1 Fc and maraviroc in primary cells: implications for prevention and treatment [J]. *Curr HIV Res*, 2016, 14(1): 24-36.



【专家介绍】郑珩：博士，副教授，中国药科大学药物生物信息学教研室主任，长期从事微生物活性物质的研究开发、计算机辅助药物设计相关的教学和科研工作。主持和参加重大新药创制专项、国家自然科学基金、江苏省高新技术产业项目等多项省部级以上课题，其中“微生物发酵法产生天然脱落酸”、“微生物发酵法产 β -胡萝卜素”等项目已和企业合作投产。近年来在国内外学术期刊发表论文50多篇，其中SCI论文10多篇，获得国家发明专利9项，软件著作权7项。



【本期栏目主编介绍】顾觉奋：中国药科大学教授、研究生导师。历年来，在中国药科大学执教的同时，从事抗生素及微生物药物领域的科研工作。领导研制并完成了微生物药物或抗生素有关的32项科研课题，曾获得多次省级科技成果鉴定证书、优秀论文奖及优秀教科书奖，在采用现代生物技术筛选抗生素高产菌的研究方面达到国际水平。80年代初筹建了中国药科大学抗生素研究室（现为微生物制药教研室），并担任学科带头人，具有较深的理论造诣和长期的科研实践经验。笔耕不倦，前后在国内一级刊物上共发表论文230余篇；主编并出版了《药学问答》、《抗生素》、《微生物药品化学与分析》、《分离纯化工艺原理》、《抗生素的合理应用》、《微生物药品研发动态——新技术、新产品及市场信息》、《生物制药工艺学》、《离子交换与吸附在制药工业上的应用》、《国内外微生物药物生产状况及市场分析》、《中华医学百科全书-微生物药物学卷》等教科书和专著10本，在国内同行中颇有声望。

《药学进展》杂志2018年征订启事

《药学进展》杂志是由中国药科大学和中国药学会主办、国家教育部主管的国家级医药科技期刊，以促进行业技术进步为宗旨，面向医药行业教学、科研、生产、管理及临床应用的专业人士，全面报道医药科研创新链、学科链、技术链、产业链的国内外研究前沿与进展，突出医药信息的前瞻性、权威性、系统性、实用性，力求打造成为药学学科进展、技术进展、新药研发技术链各环节及临床应用的高端学术交流平台。

《药学进展》编委会由国家重大专项化学药总师陈凯先院士担任主编，编委由新药研发技术链政府监管部门、高校科研院所、制药企业、临床医院、CRO、金融资本及知识产权相关机构百余位极具影响力的专家组成。

《药学进展》设有“前沿与进展”、“医药行业报告”、“专家论坛”、“热点透视”、“知识产权”、“业界关注”、“文献计量”、“临床药学”等栏目。改版至今，组稿策划了“聚焦蛋白质与多肽类药物”、“肿瘤药理学研究进展”、“聚焦心脑血管疾病药物”、“糖尿病药物研发策略”、“靶向纳米递药系统的创新药物制剂设计”等专题，刊载了数十篇报道行业领域进展且极具学术价值的综述类文章，多位院士评述，充分发挥了《药学进展》作为专业媒体引领学术发展、服务科技的作用；与科睿唯安（原汤森路透）信息机构合作，独家分享全球新药研发报告，因内容全面、资料权威、视角新颖、观点独到、数据翔实、时效性强广受好评。目前刊物已在药学学科进展、科研思路方法、靶点机制探讨、新药研发报告、临床用药分析、国际医药前沿等方面形成特色。

《药学进展》杂志为月刊，每期80页，铜版纸全彩印刷，国内外公开发行，每期定价30元，全年定价360元。CN 32-1109/R, ISSN 1001-5094, 国内邮发代号：28-112，欢迎广大读者向本刊编辑部或当地邮局订阅。

编辑部地址：南京市童家巷24号中国药科大学《药学进展》编辑部； **邮编**：210009

电话/传真：025-83271227； **E-mail**：yxjz@163.com