

HIV-1 包膜糖蛋白 gp120 小分子抑制剂的研究进展

谢明卉, 汪 昭, 孙彦莹, 姜向毅, 展 鹏*, 刘新泳*, 康东伟*

(山东大学药学院药物化学研究所, 化学生物学教育部重点实验室, 山东 济南 250012)

摘要: 人类免疫缺陷病毒 1 型 (human immunodeficiency virus-1, HIV-1) 包膜糖蛋白 gp120 与 CD4 的结合是病毒侵入细胞的第一步, 干扰此过程就能阻止病毒识别靶细胞而抑制其复制, 因此 HIV-1 gp120 作为 HIV-1 生命周期中的重要靶标, 针对该靶标的药物已成为当前抗艾滋病药物研发的热点。其中, gp120 小分子抑制剂 BMS-626529 经前药策略修饰后得到的磷酸酯前药福替沙韦 (fostesavir) 已分别于 2020 年和 2021 年被美国和欧洲批准上市用于治疗具有多重耐药性 HIV-1 感染的成年患者。该篇综述从药物化学的角度重点描述了靶向 gp120-CD4 相互作用环节的各种结构类型小分子抑制剂的研究进展, 以期对 gp120 抑制剂的研究提供启发。

关键词: 人类免疫缺陷病毒 1 型; 侵入抑制剂; gp120; BMS-626529; NBD-14270

中图分类号: R914 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)03-0616-13

Advances in the research of HIV-1 envelope glycoprotein gp120 inhibitors

XIE Ming-hui, WANG Zhao, SUN Yan-ying, JIANG Xiang-yi, ZHAN Peng*,
LIU Xin-yong*, KANG Dong-wei*

(Institute of Medicinal Chemistry, Key Laboratory of Chemical Biology, School of Pharmaceutical,
Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract: From the process of human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) invading cells, the combination of gp120 and CD4 is the first step for HIV-1 to invade cells. Interfering with this process can prevent HIV from recognizing target cells and inhibit virus replication. Therefore, HIV-1 gp120 is an important part of the HIV-1 life cycle. Fostesavir, a phosphatate prodrug derived from the gp120 inhibitor BMS-626529 modified by the prodrug strategy, was approved for the treatment of adult patients with multidrug resistant HIV-1 infection by the US FDA and the European Medicines Agency in 2020 and 2021, respectively. In this review, we focus on the research progress of small molecule inhibitors targeting the interaction of gp120-CD4 from the perspective of medicinal chemistry, in order to provide reference for the subsequent research of gp120 inhibitors.

Key words: human immunodeficiency virus-1; entry inhibitor; gp120; BMS-626529; NBD-14270

艾滋病 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS), 即获得性免疫缺陷综合征, 是一种主要由人类免疫缺陷病毒 1 型 (human immunodeficiency virus-1,

HIV-1) 感染引起的严重危害人类健康的慢性传染性疾病。截至 2021 年, 全球约有 3 840 万艾滋患者, 且当年新增感染病例约 150 万, 艾滋病防治仍是全球公共卫生的主要挑战之一^[1,2]。目前, 临床上治疗艾滋病常采用两种核苷类逆转录酶抑制剂 (nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTI) 与一种非核苷类逆转录酶抑制剂 (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTI) 或一种蛋白酶抑制剂 (protease inhibitor,

收稿日期: 2022-09-19; 修回日期: 2022-10-15.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81903453, 81973181); 山东省优秀青年基金资助项目 (ZR2020YQ61).

*通讯作者 E-mail: zhanpeng1982@sdu.edu.cn; xinyongl@sdu.edu.cn;
kangdongwei@sdu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-1063

PI) 结合的联合抗逆转录病毒疗法 (combinational anti-retroviral therapy, cART)^[3-6]。该疗法可显著改善艾滋病患者的生存现状,降低艾滋病患者的死亡率。但由于艾滋病毒具有高基因重组率和高突变率,使得其对现有药物迅速产生了不同程度的耐药性,严重降低了它们的临床疗效^[7]。因此,研发具有新作用机制的抗艾滋病药物对解决当前药物的耐药性问题具有重要意义。

HIV-1 在宿主细胞内的复制周期主要包括吸附与融合、逆转录、整合、转录与翻译、组装、出芽及成熟等过程。理论上,阻断病毒复制周期的任何一个环节,都可以中断病毒在体内的复制。其中,HIV-1 侵入到宿主细胞是其体内复制的第一步,而 gp120 与 CD4 的结合是 HIV-1 完成侵入过程的先决条件,干扰此过程理论上能阻止所有类型的 HIV-1 识别宿主细胞而阻断病毒复制。因此,作用在侵入环节的抑制剂在提高药物的抗耐药性和临床用药可选择性方面有显著的优势,已成为当前抗艾滋病药物研究的热点领域。

1 gp120 的结构与作用机制

HIV-1 通过包膜糖蛋白 (envelop glycoprotein, Env) 介导的病毒-细胞膜融合实现对宿主细胞的感染。病毒 env 基因编码的蛋白在细胞内转运过程中经蛋白酶水解为表面糖蛋白 gp120 和 gp41。在 HIV-1 侵入阶段 (图 1A), gp120 首先特异性识别并结合宿主 T 细胞表面的 CD4 受体,经蛋白质变构之后构象改变,协同受体结合位点暴露,进而与宿主细胞膜上的协同受体 CCR5 或 CXCR4 相互作用,诱导 gp41 的构象变化,介导病毒与宿主细胞的膜融合,使得病毒核心物质释

放进去宿主细胞^[8-11]。随着结构生物学的发展及病毒侵入机制研究的深入,针对此环节的抑制剂的研发已取得长足进展。迄今为止,多种小分子^[12-14]和肽类^[15,16]侵入抑制剂被发现,主要分为干扰 gp120-CD4 相互作用的吸附抑制剂、辅助受体拮抗剂、靶向 gp41 的膜融合抑制剂三大类。在此,主要针对靶向 gp120-CD4 相互作用环节抑制剂的研究进展进行了综述。

gp120 单体包含 5 个保守结构域 (C1~C5) 和 5 个可变结构域 (V1~V5),它们形成 3 个关键的结构区域 (图 1B),即内部结构域 (inner domain)、外部结构域 (outer domain) 和桥接片段 (bridging sheet)^[17,18]。其中,内部区域含有大量保守片段,对于病毒侵入宿主细胞有着至关重要的作用;外部结构域上的部分氨基酸残基组成 CD4 受体结合空腔,与 CD4 上 Phe43 结合的位点位于该空腔的中央,即“Phe43 结合口袋” (图 1C);桥接片段含有 4 个反向平行的 β 折叠,有助于 gp120 与 CD4 以及辅助受体的结合。目前,基于对 gp120 和 CD4 结构功能及相互作用机制的研究,通过阻断或变构干扰 gp120 上 CD4 的结合位点发现了多类可有效抑制 gp120-CD4 相互作用的小分子化合物。

2 氮杂吡啶酰基哌嗪类侵入抑制剂

美国百时美施贵宝公司 (BMS) 通过细胞水平的高通量筛选实验得到氮杂吡啶酰基哌嗪类的苗头化合物 1^[19] (图 2),其对 HIV-1 表现出强有效的抑制活性,其 EC_{50} 为 $4 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结构生物学研究表明,氮杂吡啶酰基哌嗪类化合物结合于 gp120 内外域的界面,位于外部域 $\beta 20$ - $\beta 21$ 环状结构下的诱导型口袋,靠近与内部域 α -1 螺旋的 C 末端。该类抑制剂可以稳定闭合的

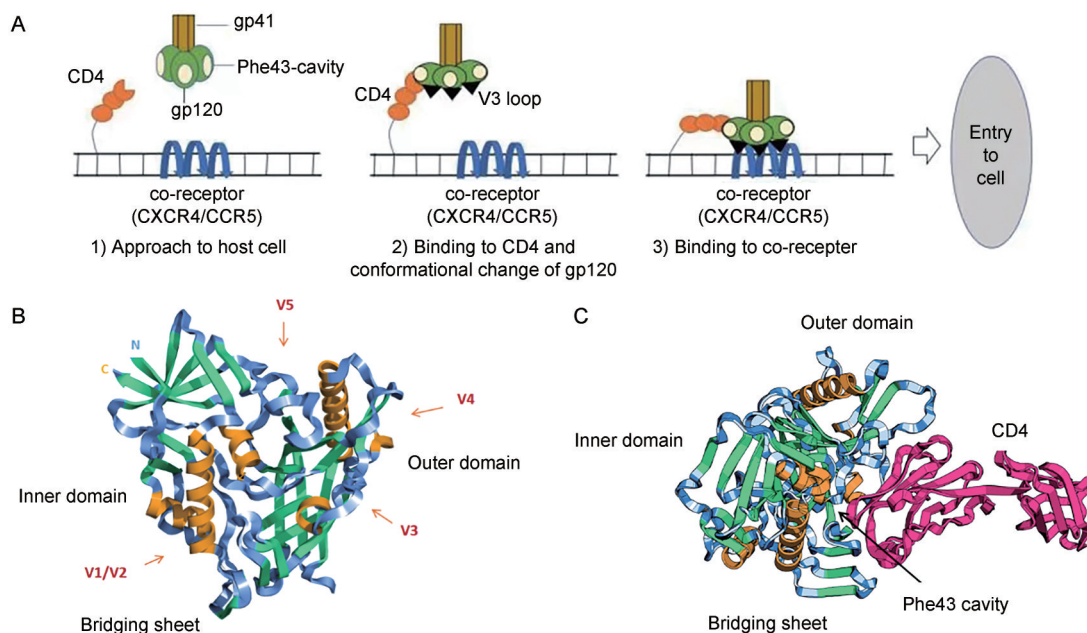


Figure 1 (A) Virus intrusion process. (B) The structure of HIV-1 envelope glycoprotein gp120. (C) The structure of "Phe43 pocket"

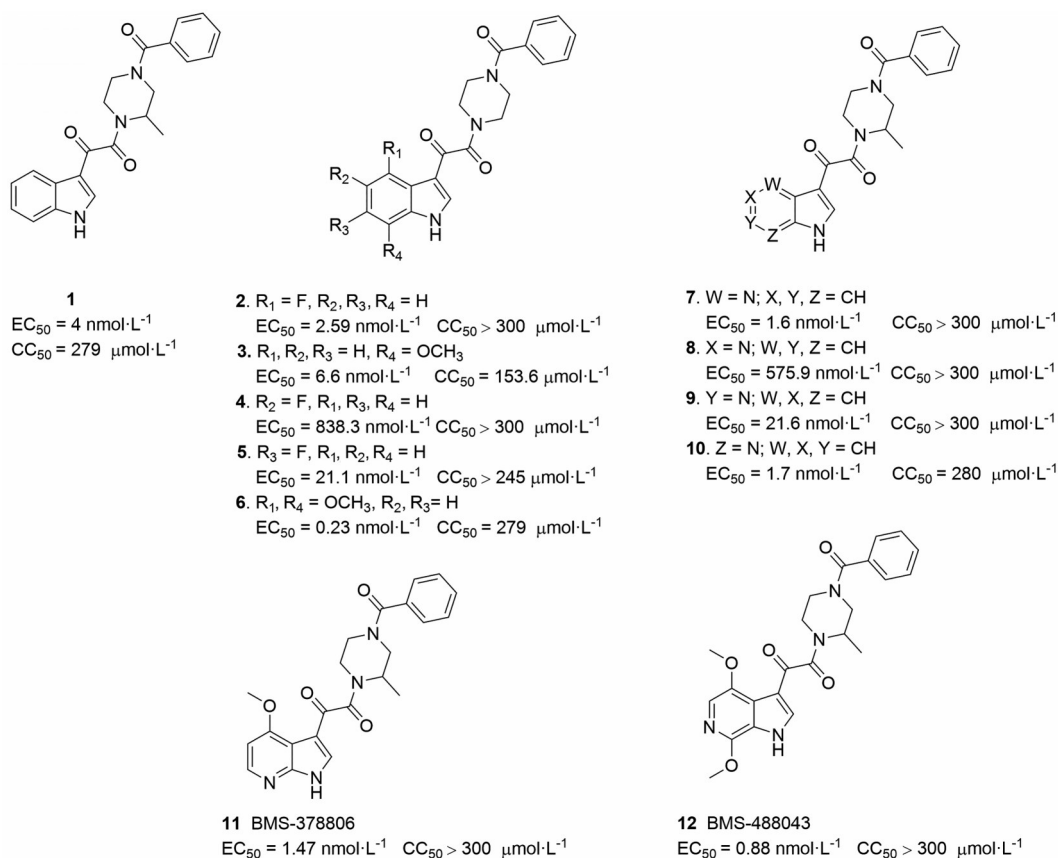


Figure 2 Structures of compounds 1–12 derived from modification of the indole ring

Env三聚体状态,使其构象重排受阻,阻断与CD4的结合进而阻断病毒入侵过程^[20]。以化合物**1**为先导,研究人员对其进行了全面的结构修饰,发现了多个具有高效抑制活性的小分子化合物。

2.1 对吲哚环的修饰 根据化合物**1**与HIV-1 gp120的共晶结构(图3A):其结构中乙酰胺羰基和氮杂吲哚环N原子分别与Trp427和Asp113形成了关键的氢键相互作用,对保持化合物的活性至关重要。因此,为进一步提高小分子化合物的活性,Meanwell等^[21]在保持关键氢键作用的前提下,对吲哚环中苯环结构进行了大量的结构修饰,分别将卤素、烷基和烷氧基取代基引入芳环的各个位置,探讨吲哚环不同位置的构效关系。其中单取代衍生物的构效关系研究结果表明,在化合物**1**的C-4或C-7位引入这些小体积取代基时可提高抗病毒活性,如化合物**2**($EC_{50} = 2.59 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)和化合物**3**($EC_{50} = 6.6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$);而在C-5或C-6位取代时活性明显降低,如化合物**4**($EC_{50} = 838.3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)和化合物**5**($EC_{50} = 21.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。多取代衍生物的构效关系研究表明,C-4和C-7位双取代会显著提高化合物抗病毒活性(**6**, $EC_{50} = 0.23 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。药代动力学研究表明,化合物**1**具有较高的体内清除速率($CL = 57 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$)和较低口服生物利用度($F =$

29%),而优化之后的化合物**6**在大鼠中表现出优异的药代动力学特性,清除率显著降低,生物利用度大幅度提高($CL = 5.2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$, $F = 107\%$)。通过人肝微粒体(human liver microsomes, HLM)代谢研究表明,化合物**6**的甲氧基可在体内氧化代谢为对苯醌结构,而醌类作为化学反应性亲电试剂,可与蛋白质和核苷酸形成与多种毒副作用相关的共价复合物^[21],因此终止了对化合物**6**的进一步开发。

为进一步改善该类化合物的成药性质,Wang等^[22]利用生物电子等排策略用吡啶环等排替换吲哚的苯环结构,设计得到四类氮杂吲哚衍生物。其中,4-氮杂吲哚衍生物**7**及7-氮杂吲哚衍生物**10**的抗HIV-1活性显著提高, EC_{50} 值分别为1.6和1.7 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。然而,当氮原子位于伸向蛋白-溶剂区的C-5和C-6位置时,化合物的抗病毒效力显著降低,如6-氮杂衍生物**9**($EC_{50} = 21.6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)与5-氮杂衍生物**8**($EC_{50} = 575.9 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。这四种衍生物在人肝微粒体中的半衰期为38.5~100 min之间,与吲哚类化合物**1**($T_{1/2} = 30 \text{ min}$)相比,代谢稳定性均有所提高。以7-氮杂吲哚衍生物**10**为先导,在吡啶环上引入优势的甲氧基结构得到首个进入临床研究的HIV-1 gp120抑制剂**11**(BMS-378806, $EC_{50} = 1.47 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。遗憾的是,在动物体内**11**未能

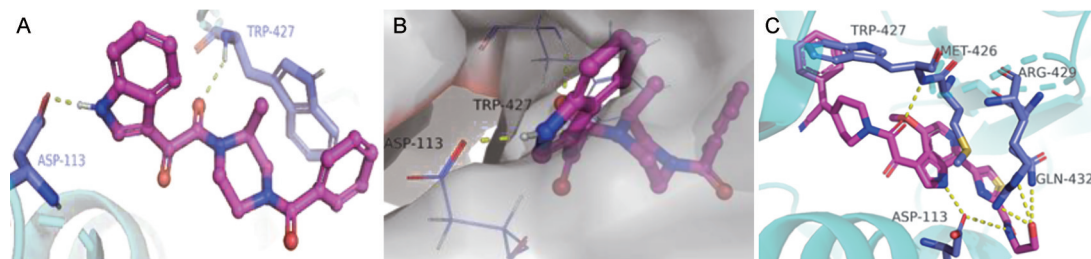


Figure 3 (A) Predicted binding modes of compound **1** with HIV-1 gp120 crystal structure. (B) Compound **1** observed looking inwards along the protein-solvent interface (PDB: 5U7O). (C) The crystal structure of BMS-818251 (**27**) in complex with HIV-1 gp120 (PDB: 6MU7). The figures were shown in Pymol

达到理想的血浆药物暴露浓度,因此终止了对该化合物的进一步研究。基于前期的构效关系研究对6-氮杂吡啶化合物的C-4和C-7位同时修饰得到抗病毒活性显著提高的化合物**12** (BMS-488047, $EC_{50} = 0.88 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$),且其具有较好的代谢稳定性 ($T_{1/2} > 100 \text{ min}$),然而在小鼠体内实验中,化合物**12**的口服生物利用度不佳 ($F = 55\%$),药代动力学性质未达到预期标准,因而没有进一步开发该化合物。

2.2 对氮杂吡啶环C-7位的修饰 由化合物**1**与HIV-1 gp120的共晶结构可知,化合物结构中吡啶环的C-7位伸向gp120蛋白-溶剂界面(图3B),并且在蛋白-溶剂界面处只有氮杂吡啶环N原子和Asp113形成了氢键相互作用。因此,研究人员对吡啶环C-7位进行了多样性的结构修饰,寻求与蛋白-溶剂界面处的氨基酸残基形成新的相互作用,以提高化合物的活性^[23,24]。

Meanwell等^[20,25]以化合物**2**为先导对4-氟或4-甲氧基取代的吡啶环C-7位进行修饰,引入羧酰胺类取代基得到化合物**13~15**(图4),其中单甲氨基化合物**14** ($EC_{50} = 0.52 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)具有最优的抗病毒活性。此外,在吡啶环的C-7位还引入了吡啶、四唑、噻二唑、异噻唑、噻唑、苯并噻唑和苯并咪唑等杂环,其中化合物**19**的活性尤为突出, EC_{50} 达到 $0.05 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。该课题组进而以**19**为先导,在其噻二唑基团上连接了多种类型的小体积取代基,其中氨基取代的化合物**20**的抗病毒活性较**19**提高了6倍, EC_{50} 值为 $0.0082 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,但该化合物细胞毒性大 ($CC_{50} = 43 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),在人肝微粒体中的半衰期短 ($T_{1/2} = 17 \text{ min}$),因此终止对其进一步研究。基于生物电子等排体策略对化合物**20**的噻二唑环分别进行1,2,4-三唑结构和1,2,3-三唑结构的替换得到同样具有高效体外抗病毒活性的化合物**21** ($EC_{50} = 0.07 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)及**22** (BMS-585248, $EC_{50} = 0.05 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$),特别是**22**在人类和大鼠肝微粒体稳定性实验中表现出较好的稳定性,但是在临床研究中因其暴露量不足而终止临床研究^[20,24]。随后对甲氧基-6-氮杂吡啶化合物进行优化得到了几类含三氮唑化合物,其中1,2,3-三

氮唑衍生物**23**和1,2,4-三氮唑衍生物**24**的活性较为突出。通过对1,2,4-三氮唑环进行修饰得到的3-甲基-1,2,4-三氮唑衍生物**25** (BMS-626529, temsavir),该化合物对所有测试的毒株都具有强效的抑制作用^[26]。然而化合物**25**存在水溶性差的缺点 ($\text{pH} = 2\sim 9$, $\text{Sol.} \approx 20 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),采用前药策略得到其磷酸酯前药 fostemsavir后水溶性显著提高 ($\text{pH} = 1.5\sim 8.2$, $\text{Sol.} > 11 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)。在大鼠、犬和猴子体内均表现出良好的药代动力学性质,口服生物利用度高达 $80\%\sim 122\%$ ^[20],并在2020年被FDA批准上市。

2019年,Lai等^[27]对 temsavir 衍生物化合物库筛选发现了化合物**27** (BMS-818251, $EC_{50} = 0.02 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$),其在208种临床HIV-1病毒株组成的假型病毒组测试研究中表现出了比 temsavir 高10倍以上的体外抗病毒能力。共晶结果表明(图3C)化合物**27**结构中延长的C-7侧链能够与口袋中的Arg429、Gln432和Asp113产生多重网状氢键相互作用,这也是其具备更高效抗耐药性的结构基础。Wang等^[28]尝试使用萘环和喹啉环对BMS类化合物的吡啶环结构进行等排替换,得到了一系列高效低毒的化合物。其中,C-7位被2-噻唑取代的化合物**28**具有最优的抗病毒活性, EC_{50} 达到了 $0.03 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,具有进一步开发的潜力。

2.3 对哌嗪环的修饰 为探讨该类化合物结构中哌嗪环对活性的影响,Wang等^[29]在哌嗪环上引入多样性的烷基基团(图5)。活性结果表明哌嗪环是保持抗病毒活性的关键药效团结构。在哌嗪环的C-1位引入甲基之后(**30**, $EC_{50} = 0.56 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)活性略有提高;与引入消旋的甲基相比,在C-1位引入(*R*)-甲基异构体能够更有效地提高抗病毒活性(**31**, $EC_{50} < 0.16 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$);而当甲基被替换为其他取代基时(**32**, $EC_{50} = 7.10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$),其抗病毒活性显著下降。

2.4 对苯甲酰胺的修饰 Meanwell等^[30]对苯甲酰胺部分进行结构修饰探讨对化合物活性的影响。当苯甲酰胺的苯环被替换为五元或六元(芳)杂环时,如吡啶、呋喃、噻吩、异噻唑、吡唑、咪唑和噻唑等,大多数化

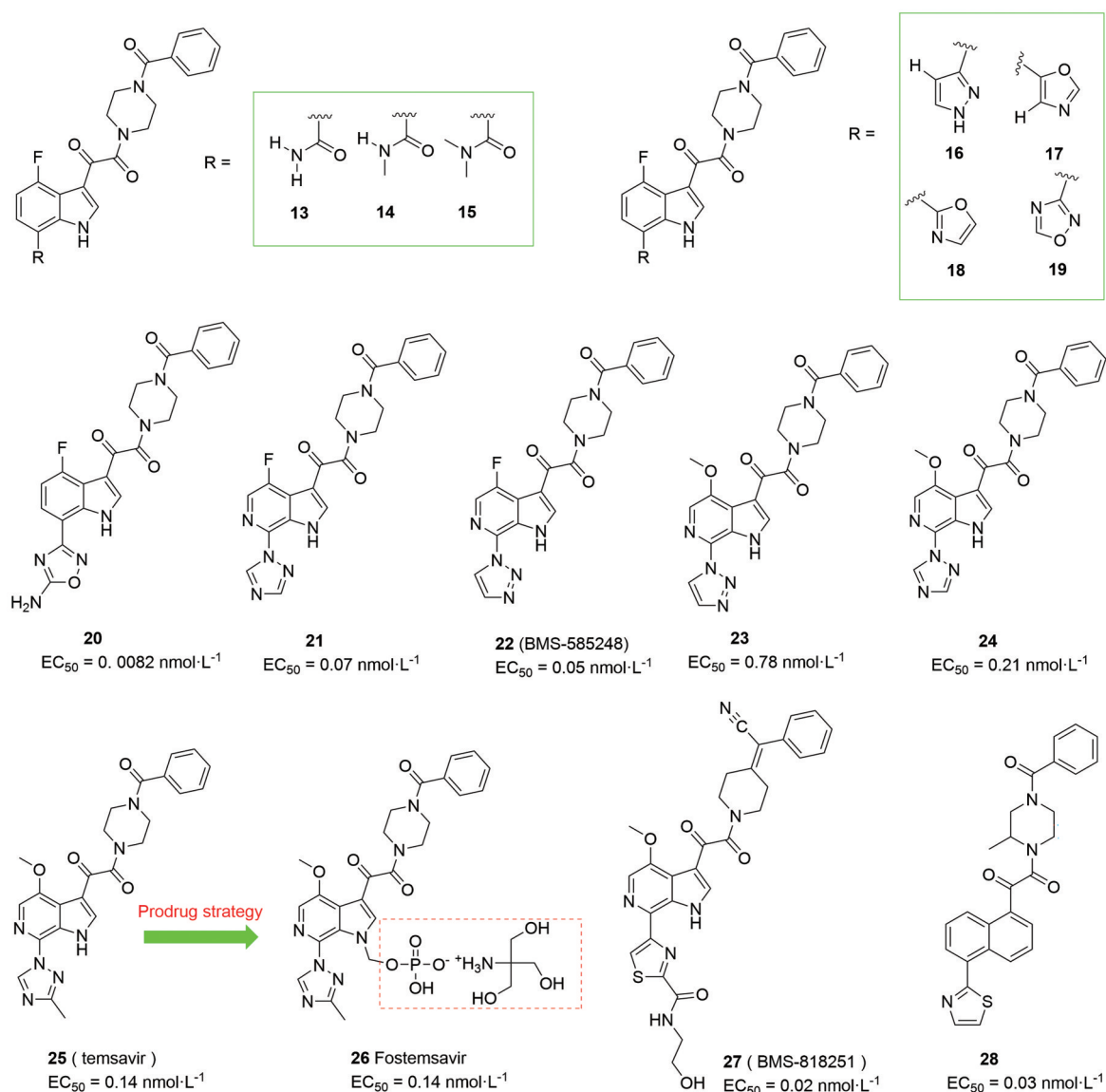


Figure 4 Structures of compounds 13–28 derived from modification of C-7 position of azaindole ring

合物表现出高效的抗病毒活性。其中2-和3-噻吩基衍生物 **33** 和 **34** 的抗病毒活性最佳, EC_{50} 值分别为 0.7 和 $0.4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。而在苯环上引入卤素、烷基及烷氧基等取代基则会使化合物的抗病毒活性显著下降。

2.5 对酰胺基团的修饰 共晶结果显示酰胺基团可以与靶蛋白中的 Trp427 形成氢键作用力 (图 3A), Lu 等^[31] 依据生物电子等排原理将酰胺基团替换成磺酰胺基团, 拟通过增强与 Trp427 之间的氢键作用提高化合物的活性。活性结果表明化合物 **35** 的活性最佳, 在 M33 假型病毒吸附实验中的 IC_{50} 值为 $7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

氮杂吡啶酰基哌嗪类化合物构效关系如图 6 所示: 哌嗪环中引入甲基等较小取代基时化合物的活性保持或略有增强, 而引入较大取代基时, 其抑制活性显

著降低; 苯甲酰胺基团是一个关键药效团, 可容纳小体积取代基的修饰, 具有有限的化学空间, 将苯甲酰胺中的苯环替换为取代苯环或者其他五元、六元杂环得到的化合物中, 2-和3-噻吩同类物表现出最佳效能, 而当芳环中引入较大取代基时, 活性显著降低; 依据生物电子等排原理, α -羰基酰胺替换为砜基等电子等排体表现出相当或下降的活性水平; 吡啶环上具有较大的修饰空间, 对氮杂吡啶环 C-4、C-7 位进行取代时抗病毒活性显著提高, C-5、C-6 位取代则活性降低; Wang 等^[28] 针对吡啶环 C-7 位进行了更多更细致的讨论。其中大多数化合物都表现出良好的抗病毒活性, 尤其是小分子 BMS-626529 表现出更强的抗病毒活性, 同时具有广谱抗病毒性质, 对除 A、E 亚型外的所有亚型都有抑制活性, 目前其前药 fostemsavir 已经成功上市。

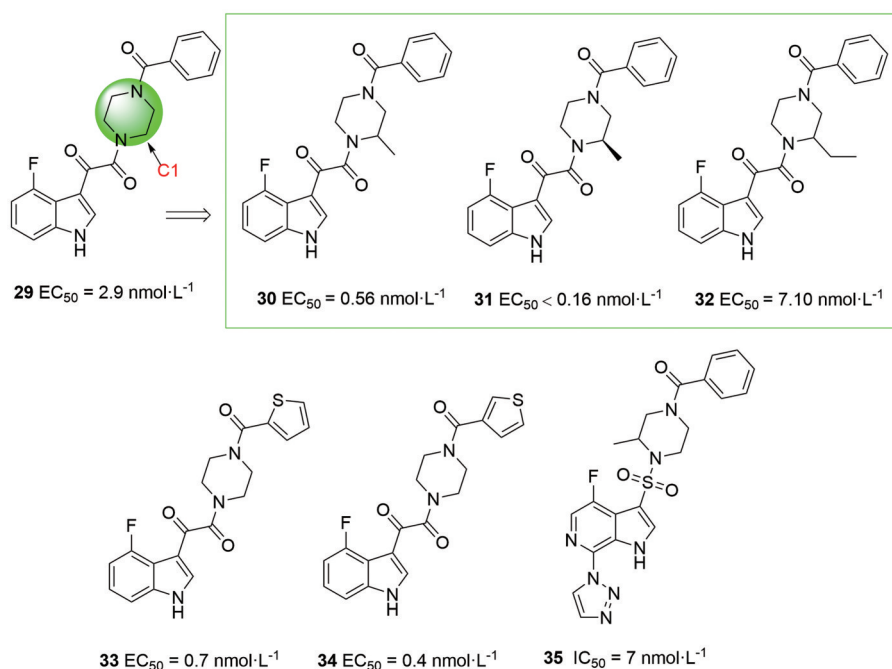


Figure 5 Structures of compounds 29–35 derived from modification of the piperazine ring

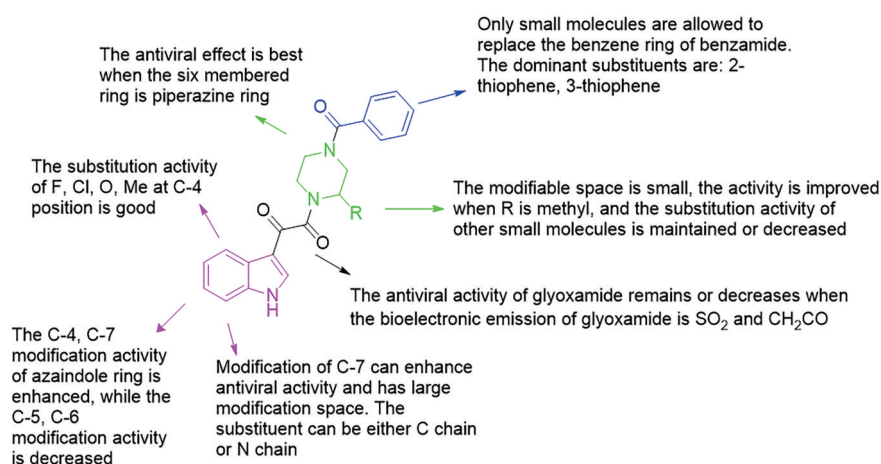


Figure 6 SARs of azaindole acylpiperazine invasion inhibitors

3 苯基草酰胺类衍生物类侵入抑制剂

2005年, Zhao等^[32]通过高通量筛选发现了草酰胺类的小分子化合物NBD-556 ($IC_{50} = 6.9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $SI = 8.7$), 通过与 HIV-1 的包膜糖蛋白直接作用而抑制 gp120-CD4 相互作用。NBD-556 和 NBD-557 均属于 CD4 小分子模拟物 (small-molecule CD4 mimics, SMCs), 其通过与 gp120 中的“Phe43 口袋”结合, 诱导 gp120 构象发生改变从而无法与 CD4 受体结合。该类化合物的结构由 3 部分组成 (图 7): 区域 I 为卤代苯环, 可伸入 HIV-1 gp120 外结构域上的“Phe43 口袋”, 是该类化合物发挥重要作用的重要药效团; 区域 II 为草酰胺连接基团; 区域 III 是与 gp120 蛋白界面残基形成广泛相互作用的脂肪环或芳香环^[33-35]。

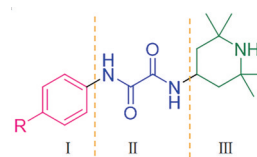


Figure 7 Three regions of NBD compounds

然而, 研究表明 NBD-556 及其类似物的明显缺点是其阻止 CD4 结合的同时, 却扮演了 CD4 受体激动剂的角色, 即能够诱导 gp120 生成协同受体 CCR5 的结合位点, 反而促进病毒侵入宿主细胞。因此, 为了获得有效的 gp120 侵入抑制剂同时避免 CD4 受体激动活性, 研究者对 NBD-556 进行了广泛的结构修饰^[36]。

NBD-556 与 gp120 的共晶结构 (图 8A) 显示, 草酰

胺基团可以与 Asn 425、Gly473 形成氢键相互作用, 而四甲基哌啶环与空腔中的残基均未形成明显的相互作用, 而是伸出暴露在口袋外面, 因此推测四甲基哌啶部分可以被其他基团取代, 以期能与蛋白周围的氨基酸残基形成额外的相互作用提高结合亲和力^[37-39]。Curreli 等^[36]通过对四甲基哌啶环进行修饰, 得到了一系列活性明显提高的含哌啶和噻唑环的衍生物。然而, 这些化合物几乎都保留了与 NBD-556 相似的激动剂特性, 如图 9 所示, 只有小分子 NBD-09027 含有部分拮抗剂特性 ($IC_{50} = 2.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} = 24 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $SI = 11$)。随后以 NBD-09027 为先导, 基于构象限制策略将柔性的草酰胺基团替换为刚性的吡咯环结构。实验结果表明, 草酰胺基团的修饰对增强 NBD 系列侵入抑制剂的抗病毒活性至关重要, 并成功地将 CD4 激动剂转化为完全的拮抗剂 NBD-11021 ($IC_{50} = 0.27 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} = 34 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $SI = 126$)。

gp120 与 NBD-11021 的复合物晶体结构 (图 8B) 显示, 吡咯环和吡啶环的氮原子可以分别与 Asn425 和 Asp 368 形成氢键作用力, 而先导化合物并无与 Asp 368 的相互作用。但 NBD-11021 哌啶环的烷基部分和噻唑

环上的 4-甲基均暴露于蛋白溶剂界面, 且与周围氨基酸未产生相互作用力。因此, 研究人员以 NBD-11021 为先导, 用甲胺基取代哌啶环, 在保留能够与 gp120 的 Asp368 形成氢键的氨基的同时, 还对苯环进行修饰以增强化合物和靶标之间的相互作用^[40,41], 得到了多个 NBD-11021 类似物。其中, 化合物 NBD-14189 ($IC_{50} = 0.089 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} = 21.9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $SI = 246$) 具有明显增强的抗病毒活性^[42], 但 NBD-14189 存在毒性较大和水溶性较差 ($\text{pH} = 7.4$, $\text{Sol.} = 42.4 \sim 214 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的问题。Curreli 等^[43]在其吡咯环上引入甲基得到化合物 NBD-14270 ($IC_{50} = 0.18 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} = 109 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $SI = 681$), 与先导相比毒性明显降低且水溶性 ($\text{pH} = 7.4$, $\text{Sol.} = 734 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 显著改善。因此, NBD-14270 可以作为潜在的临床候选药物进一步优化^[42]。有趣的是, 近期 Losada 等^[44]报道该类化合物可连接 HIV-1 RT dNTP 和非核苷类逆转录酶抑制剂 (NNRTIs) 结合位点, 并表现出较好的 HIV-1 RT 抑制活性 (**40**, $IC_{50(\text{RT})} = 1.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; **41**, $IC_{50(\text{RT})} = 2.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。共晶结果显示 (图 10A、B) NBD 类分子的酰胺键上的氮原子在溶剂开口区与 Asp 110 之间形成氢键, 这之前报道过

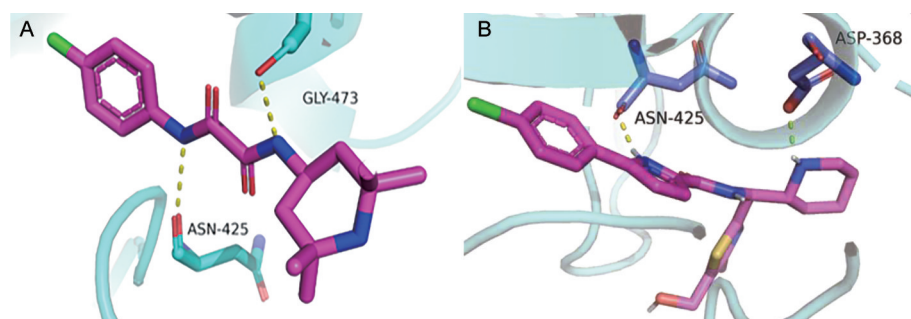


Figure 8 (A) The crystal structure of NBD-556 in complex with HIV-1 gp120 (PDB: 3TGS). (B) The crystal structure of NBD-11021 in complex with HIV-1 gp120 (PDB: 4RZ8). The figures were shown in Pymol

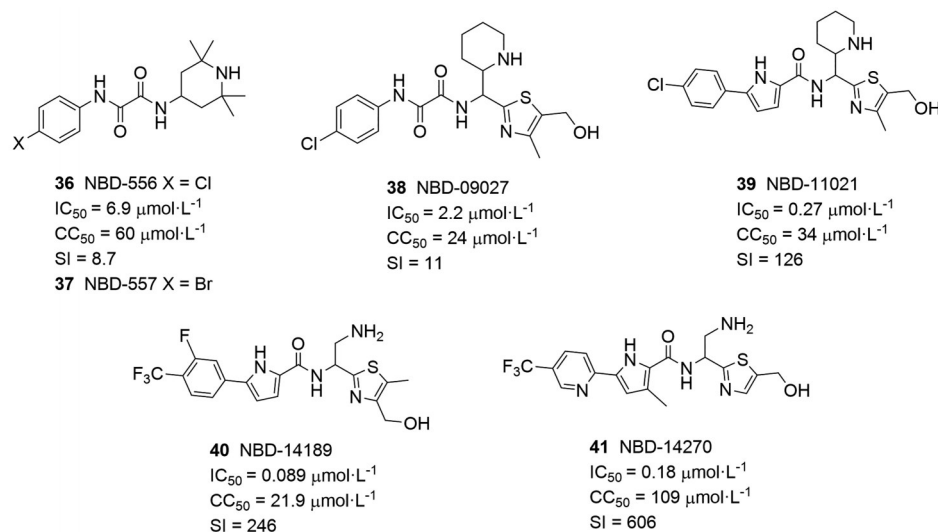


Figure 9 Structures of compounds 36–41

的 HIV-1 双位点抑制剂不同,可作为新作用机制的 HIV-1 RT 抑制剂进行进一步的开发。

针对 NBD-556 类衍生物存在细胞毒性大的缺点, Tsuji 等^[45]用吡啶环取代苯环得到了 CD4 模拟物 KKN-134 (**42**, $IC_{50} = 5.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} > 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。此外,还设计合成环己烷螺环类衍生物 YIR-821 (**43**, $IC_{50} = 0.64 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} > 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 对接结果 (图 10C) 显示化合物 YIR-821 的胍基和酰胺除了和关键性氨基酸残基 Met426、Asn425、Trp427、Asp474 形成氢键作用外,还通过胍基和苯环分别与 Asp474、Trp427 形成疏水作用力及 π - π 堆积作用力,这可能是抗病毒活性提高的原因。以该化合物为先导连接 PEG 单元得到环己烷螺环衍生物 TKB-002 (**44**, $IC_{50} < 0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} > 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 具有更高的抗 HIV 活性^[46]。为增加此类化合物的水溶性,该课题组设计并合成了含有吡啶环及 PEG 结构但不含环己烷基团的化合物 **45a**~**45d**

和 **46** (图 11), 水溶性明显提高。然而,只有化合物 **45a** ($IC_{50} = 1.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} > 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 **46** ($IC_{50} = 6.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} > 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 具有微弱的抗 HIV 活性,较先导化合物 YIR-821 仍存在一定差距^[45]。

4 其他 gp120 侵入抑制剂

4.1 三唑肽类

三唑肽类化合物可通过抑制 gp120 与 CD4 受体的相互作用发挥抗病毒作用。该类化合物可以同时靶向 gp120 保守的双重位点: ① gp120 外部区域中由 Thr257 和 Ser375 构成的“Phe43 口袋”; ② 内部区域中由 Ile109、Trp112、Phe210 及 $\beta 20/21$ 上的 Met426 构成的疏水口袋。代表性化合物为 **47** (UM15, $EC_{50} = 0.08 \sim 62.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 HIV-1 多种亚型均具有较好的抑制活性^[47]。如图 12 所示,通过构象限制策略对化合物 **47** 位于溶剂界面的基团环合得到六肽化合物 **48** (AAR029b, $IC_{50} = 30 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[48], 可有效抑制 gp120-CD4 相互作用。此外,该类化合物还表现出独特的抗病毒作用机

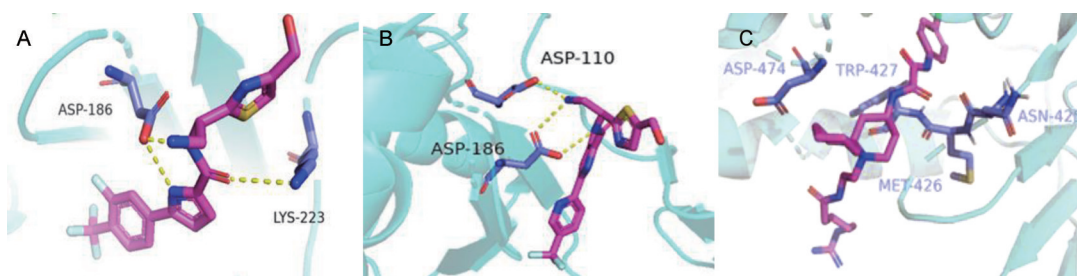


Figure 10 (A) The crystal structure of NBD-14189 in complex with HIV-1 RT (PDB ID: 7LPW). (B) The crystal structure of NBD-14270 in complex with HIV-1 RT (PDB ID: 7LPX). (C) Structure of compound YIR-821 docked in gp120 (PDB ID: 3TGS). The figures were shown in Pymol

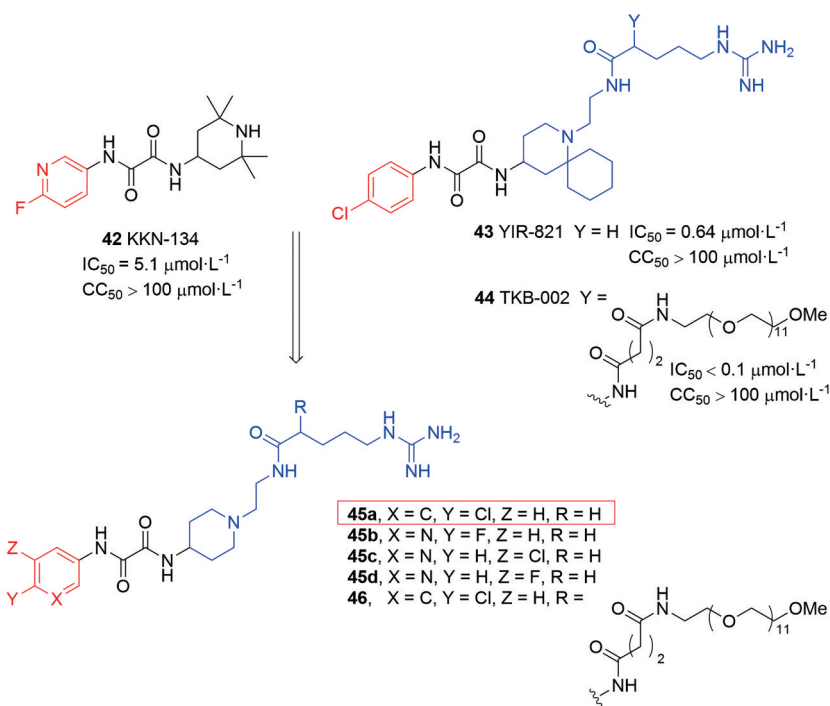


Figure 11 Structures of compounds **42**–**46**

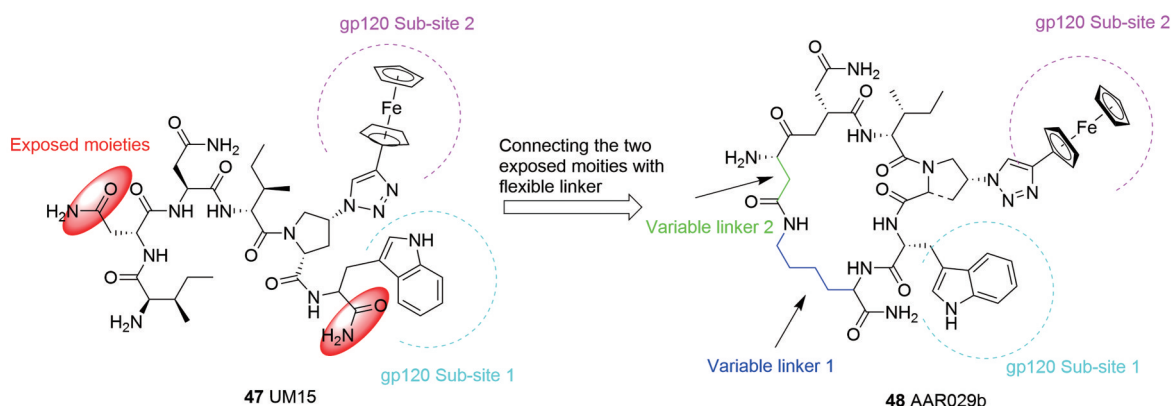


Figure 12 Structures of compounds 47 and 48

制, 通过诱导 gp120 的脱落, 使 p24 衣壳蛋白从病毒内腔释放, 在与细胞融合之前使病毒失活。活性测试结果表明, 该化合物具有良好的抗病毒活性, 细胞毒性极低 ($EC_{50} = 200 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} > 300 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

4.2 gp120-gp41 双功能侵入抑制剂 Ang 等^[49]发现了一种双功能 HIV-1 侵入抑制剂 (dual-acting virucidal entry inhibitor, DAVEI), 由凝集素氰病毒素与 gp41 外部区域末端的 Trp 3 肽序列组成, 可以同时与 gp120 和 gp41 结合。为了减小该类抑制剂的分子质量, Gaffney 等^[50]将凝集素氰病毒素替换为小分子 CD4 模拟物 BNM-III-170, 通过铜催化的叠氮-端炔环加成反应将 BNM-III-170 与 Trp3 链接 (图 13), 并探讨不同长度的连接链对活性的影响。其中, **49** (BNM-L3-Trp3) 的病毒抑制效力达到 $0.58 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 病毒溶解能力的活性为 $7.2 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。双功能 HIV-1 抑制剂作用机制独特, 但是它们诱导病毒膜破裂的机制尚不明确。尽管如此, 作为一种新颖、高效的 HIV-1 侵入抑制剂, DAVEI 类化合物具有巨大的应用前景, 有待深入的机制研究。

Pu 等^[51]通过分子杂合策略设计了一种靶向 gp120-CD4 结合位点和 gp41 中的 NHR 区域的双功能 HIV-1 抑制剂 **50** (FD028)。通过将 FD016 (NBD-556 的类似物, gp120-CD4 结合抑制剂) 与 FD017 (HIV-1 融合抑制剂) 用 2-氧乙烯连接得到。研究表明, FD028 ($IC_{50} = 0.42 \sim 1.42 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对不同亚型的 HIV-1 耐药菌株具有广谱抑制作用, 并且没有显著的细胞毒性。因此, FD028 具有进一步开发为 HIV-1 抑制剂的潜力。

4.3 酰胺类抑制剂 Herschhorn 等^[52]通过高通量筛选发现了一种含酰胺结构的化合物 **51** (18A)。这类化合物不干扰 Env 与 CD4 和 CCR5 的结合, 但可以有效阻断包膜糖蛋白中两种 CD4 诱导的构象变化, 即 gp120 V1/V2 区域的重排以及 gp41 HR1 区域的形成。使用含不同分离株的包膜糖蛋白重组的 HIV 假病毒进行检

测, 发现该化合物具有广谱抗 HIV 活性。尽管与 BMS 类、NBD 类化合物相比, 这类小分子对 HIV-1 的抑制活性较弱 ($IC_{50} = 6.4 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 但其独特的作用机制对研究 HIV-1 侵入和 gp120 不同构象状态具有重要价值, 可作为先导开发新型高效广谱的抗艾滋病药物。

4.4 三萜类 HIV-1 抑制剂 Soler 等^[53]通过对桦木酸的 ω -氨基烷酸类化合物进行结构修饰获得小分子 **52** (RPR1036112, $EC_{50} = 0.27 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} = 17 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 **53** (IC95643, $EC_{50} = 0.31 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} = 8.9 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[54]。研究发现其作用于 HIV-1 的侵入阶段发挥抗病毒作用^[54-56]。Takeuchi 等^[57]通过对三萜类化合物 RPR103611 和 IC9564 结构修饰得到了两种新型 HIV-1 侵入抑制剂齐墩果酸衍生物 **54** ($EC_{50} = 1.7 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} = 79 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 12-酮型齐墩果酸衍生物 **55** ($EC_{50} = 0.5 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CC_{50} = 128 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) (图 14)。与先导化合物相比, 这两种化合物的抗病毒活性略有下降, 但细胞毒性显著降低。

4.5 多价态抑制剂 HIV-1 的表面糖蛋白 gp120 是对称三聚体的形式镶嵌在病毒上, 同一三聚体蛋白中的两个 Phe43 结合口袋之间的距离为 $30 \sim 60 \text{ }\text{\AA}$ ^[58], 这为多价态 gp120 抑制剂的设计提供了基础。**56** (AL-385) 是在研究肠道病毒 71 型 (EV-71) 抑制剂的过程中发现的 HIV 和 EV-71 双重抑制剂 (图 15), 通过直接靶向 gp120 来抑制 HIV-1 进入宿主细胞, 从而发挥抗病毒作用。Marti-Mari 等^[59]对 AL-385 进行优化发现抗 HIV-1 小分子抑制剂 **57** (AL-470) 和 **58** (AL-471)。以 AL-470 为先导, 经结构修饰得到具有高效抗 HIV-1 活性的化合物 **59** (AL-558, $EC_{50} = 0.06 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 可作为先导进行进一步的结构修饰。

5 总结与展望

HIV-1 病毒基因组具有高突变率和基因重组率, 使得其对现有靶标的药物迅速产生了不同程度的耐药性。因此瞄准具有成药潜力的新靶标、拓展药物设计

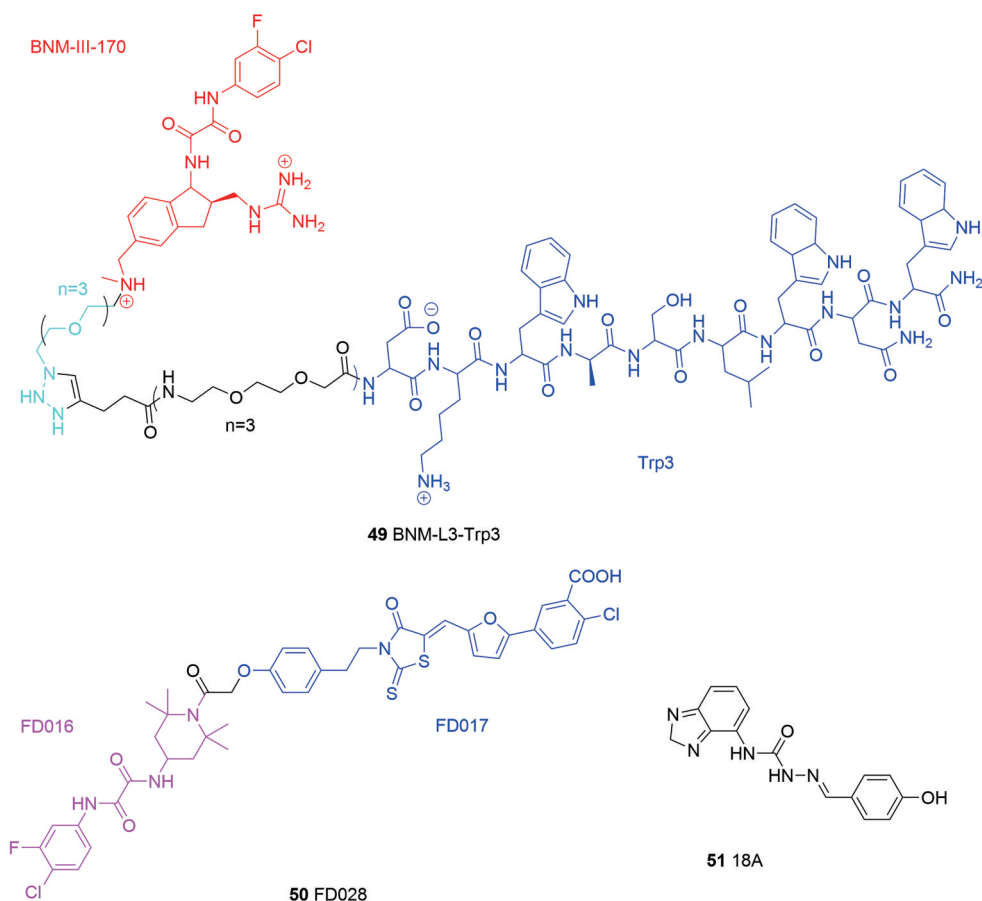


Figure 13 Structures of compounds 49–51

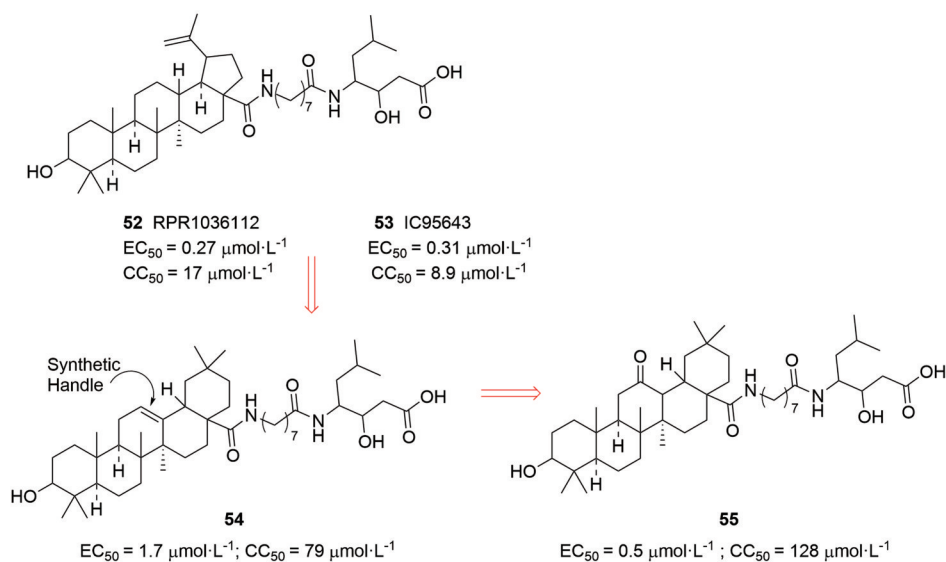


Figure 14 Structures of compounds 52–55

新思路, 开发具有新机制的抗艾滋病药物成为了该领域研究的前沿和热点。目前已经上市的各类药物都存在不足: 蛋白酶抑制剂上市药物口服生物利用度低, 逆转录酶抑制剂药物均出现了明显的耐药性, 而融合抑制剂上市药物 (小分子肽类) 则存在生产成本高、剂型

受限等问题。Fostemsavir 作为第一个获批上市 HIV-1 吸附抑制剂, 具有良好的药代动力学并且对目前常用的抗逆转录病毒药物未表现出交叉耐药性, 可以用于治疗具有多重耐药性的艾滋病患者。本文在描述其研发历程的同时也介绍了各类侵入抑制剂的最新

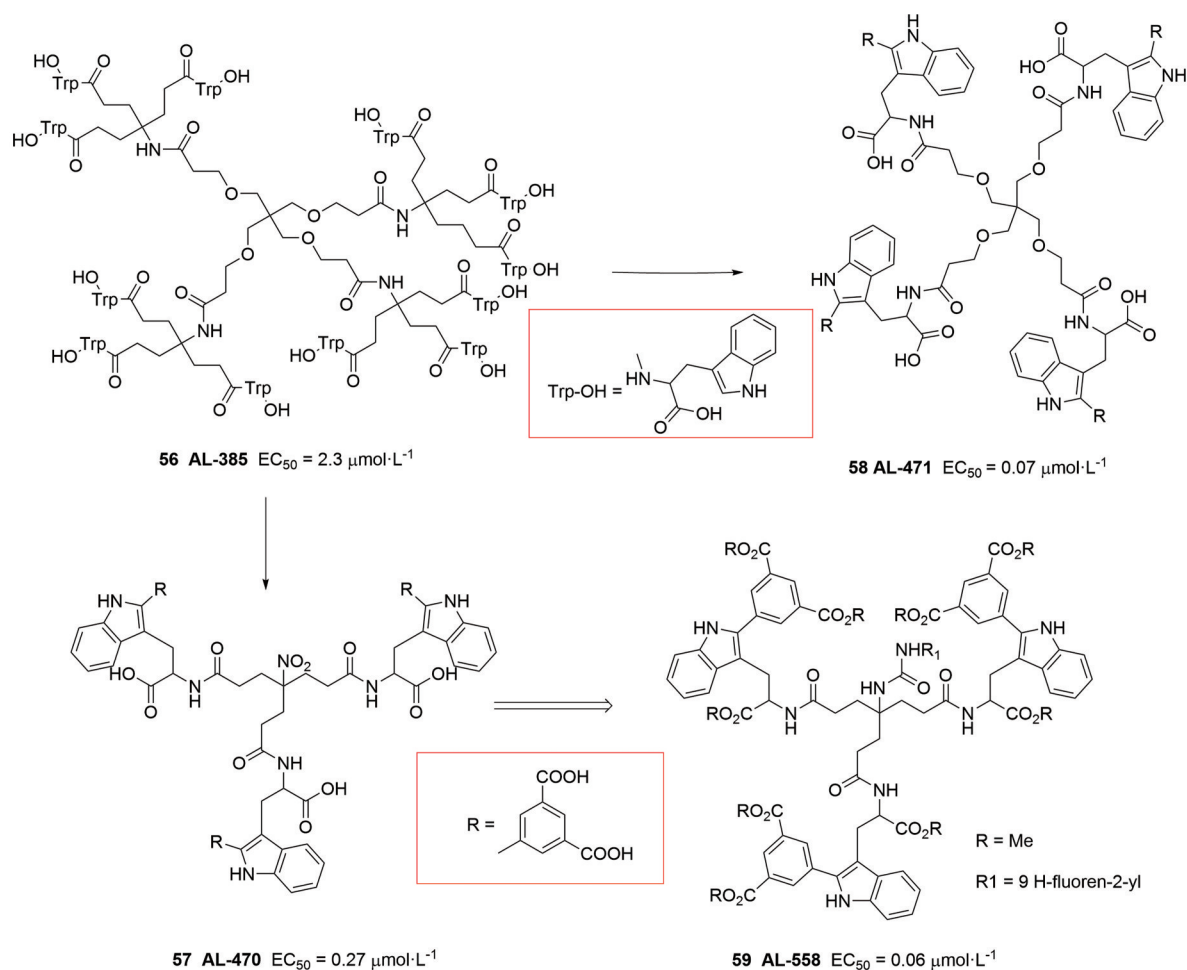


Figure 15 Structures of compounds 56-59

进展。尽管目前围绕NBD类药物代表性小分子NBD-14270的结构修饰未获得突破性进展,但通过结构生物学研究发现其具有双功能抑制的活性,为该化合物的后续研究提供新的方向和思路。除此之外还介绍了几种其他结构类型的gp120侵入抑制剂,这些化合物未来均可以作为先导用以开发新型高效广谱的抗艾滋病药物。

随着药物化学、结构信息学、分子生物学、计算机辅助药物设计等学科的快速发展,基于传统靶标的合理药物设计和高通量筛选显著提高了抗艾滋病候选药物发现的精度和速度。此外靶向蛋白质降解技术(targeted protein degradation technology)^[60]、共价结合(covalent binding)^[61]等策略的应用也可缓解目前上市药物所面临的多重耐药性和脱靶效应的困境。随着病毒结构生物学的不断深入,以及各类新技术和新策略在智能药物设计领域的不断成功应用,为研发新一代抗艾滋病药物提供了有力保障。

作者贡献: 谢明卉是文章框架的构思者并负责内容的撰写和文献整理; 刘新泳、展鹏和康东伟指导文章写作; 汪昭、

孙彦莹、姜向毅对论文进行了检查和修改。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突。

References

- [1] Lai YT. Small molecule HIV-1 attachment inhibitors: discovery, mode of action and structural basis of inhibition [J]. *Viruses*, 2021, 13: 843.
- [2] Margolis DM, Archin NM, Cohen MS, et al. Curing HIV: seeking to target and clear persistent infection [J]. *Cell*, 2020, 181: 189-206.
- [3] Gu SX, Zhu YY, Wang C, et al. Recent discoveries in HIV-1 reverse transcriptase inhibitors [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2020, 54: 166-172.
- [4] Ghosh AK, Osswald HL, Prato G. Recent progress in the development of HIV-1 protease inhibitors for the treatment of HIV/AIDS [J]. *J Med Chem*, 2016, 59: 5172-5208.
- [5] Riordan A, Bugembe T. Update on antiretroviral therapy [J]. *Arch Dis Child*, 2009, 94: 70-74.
- [6] Zhou ZX, Sun L, Kang DW, et al. Progress on HIV-1 RT inhibitors with novel mechanism of action [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*

- 报), 2018, 53: 691-700.
- [7] De Clercq E. Anti-HIV drugs: 25 compounds approved within 25 years after the discovery of HIV [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2009, 33: 307-320.
- [8] Jette CA, Barnes CO, Kirk SM, et al. Cryo-EM structures of HIV-1 trimer bound to CD4-mimetics BNM-III-170 and M48U1 adopt a CD4-bound open conformation [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 1950.
- [9] Prevost J, Tolbert WD, Medjahed H, et al. The HIV-1 env gp120 inner domain shapes the Phe43 cavity and the CD4 binding site [J]. *mBio*, 2020, 11: e00280-20.
- [10] Bennett AL, Henderson R. HIV-1 envelope conformation, allostery, and dynamics [J]. *Viruses*, 2021, 13: 852.
- [11] Lu L, Yu F, Cai LF, et al. Development of small-molecule HIV entry inhibitors specifically targeting gp120 or gp41 [J]. *Curr Top Med Chem*, 2016, 16: 1074-1090.
- [12] Laumaea A, Smith AB, Sodroski J, et al. Opening the HIV envelope: potential of CD4 mimics as multifunctional HIV entry inhibitors [J]. *Curr Top Med Chem*, 2020, 15: 300-308.
- [13] Motati DR, Uredi D, Watkins EB. The discovery and development of oxalamide and pyrrole small molecule inhibitors of gp120 and HIV entry - a review [J]. *Curr Top Med Chem*, 2019, 19: 1650-1675.
- [14] Suttisintong K, Kaewchangwat N, Thanayupong E, et al. Recent progress in the development of HIV-1 entry inhibitors: from small molecules to potent anti-HIV agents [J]. *Curr Top Med Chem*, 2019, 19: 1599-1620.
- [15] Pu J, Wang Q, Xu W, et al. Development of protein- and peptide-based HIV entry inhibitors targeting gp120 or gp41 [J]. *Viruses*, 2019, 11: 705.
- [16] Su XJ, Wang Q, Wen YM, et al. Protein- and peptide-based virus inactivators: inactivating viruses before their entry into cells [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 1063.
- [17] Haqqani AA, Tilton JC. Entry inhibitors and their use in the treatment of HIV-1 infection [J]. *Antiviral Res*, 2013, 98: 158-170.
- [18] Wang Z, Desta S, Kang DW, et al. The progress in the development of HIV inhibitors targeting protein-protein interactions [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2019, 54: 620-628.
- [19] Wang T, Zhang Z, Wallace OB, et al. Discovery of 4-benzoyl-1-[(4-methoxy-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)oxoacetyl]-2-(*R*)-methylpiperazine (BMS-378806): a novel HIV-1 attachment inhibitor that interferes with CD4-gp120 interactions [J]. *J Med Chem*, 2003, 46: 4236-4239.
- [20] Meanwell NA, Krystal MR, Nowicka-Sans B, et al. Inhibitors of HIV-1 attachment: the discovery and development of temsavir and its prodrug fostemsavir [J]. *J Med Chem*, 2018, 61: 62-80.
- [21] Meanwell NA, Wallace OB, Fang H, et al. Inhibitors of HIV-1 attachment. Part 2: an initial survey of indole substitution patterns [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 1977-1981.
- [22] Wang T, Yin Z, Zhang Z, et al. Inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) attachment. 5. An evolution from indole to azaindoles leading to the discovery of 1-(4-benzoylpiperazin-1-yl)-2-(4,7-dimethoxy-1*H*-pyrrolo[2,3-*c*]pyridin-3-yl)ethane-1,2-dione (BMS-488043), a drug candidate that demonstrates antiviral activity in HIV-1-infected subjects [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 7778-7787.
- [23] Yeung KS, Qiu Z, Yin Z, et al. Inhibitors of HIV-1 attachment. Part 8: the effect of C7-heteroaryl substitution on the potency, and *in vitro* and *in vivo* profiles of indole-based inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 203-208.
- [24] Regueiro-Ren A, Xue QFM, Swiderski JJ, et al. Inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) attachment. 12. Structure-activity relationships associated with 4-fluoro-6-azaindole derivatives leading to the identification of 1-(4-benzoylpiperazin-1-yl)-2-(4-fluoro-7-[1,2,3]triazol-1-yl-1*H*-pyrrolo[2,3-*c*]pyridin-3-yl)ethane-1,2-dione (BMS-585248) [J]. *J Med Chem*, 2013, 56: 1656-1669.
- [25] Yeung KS, Qiu ZL, Xue QF, et al. Inhibitors of HIV-1 attachment. Part 7: indole-7-carboxamides as potent and orally bioavailable antiviral agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 198-202.
- [26] Nowicka-Sans B, Gong YF, McAuliffe B, et al. *In vitro* antiviral characteristics of HIV-1 attachment inhibitor BMS-626529, the active component of the prodrug BMS-663068 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56: 3498-3507.
- [27] Lai YT, Wang T, O'Dell S, et al. Lattice engineering enables definition of molecular features allowing for potent small-molecule inhibition of HIV-1 entry [J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 47.
- [28] Wang T, Wallace OB, Zhang ZX, et al. A survey of core replacements in indole-based HIV-1 attachment inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29: 1423-1429.
- [29] Wang T, Kadow JF, Zhang Z, et al. Inhibitors of HIV-1 attachment. Part 4: a study of the effect of piperazine substitution patterns on antiviral potency in the context of indole-based derivatives [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 5140-5145.
- [30] Meanwell NA, Wallace OB, Wang H, et al. Inhibitors of HIV-1 attachment. Part 3: a preliminary survey of the effect of structural variation of the benzamide moiety on antiviral activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 5136-5139.
- [31] Lu RJ, Tucker JA, Zinevitch T, et al. Design and synthesis of human immunodeficiency virus entry inhibitors: sulfonamide as an isostere for the alpha-ketoamide group [J]. *J Med Chem*, 2007, 50: 6535-6544.
- [32] Zhao Q, Ma L, Jiang S, et al. Identification of *N*-phenyl-*N*-(2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-4-yl)-oxalamides as a new class of HIV-1 entry inhibitors that prevent gp120 binding to CD4 [J]. *Virology*, 2005, 339: 213-225.
- [33] Curreli F, Choudhury S, Pyatkin I, et al. Design, synthesis, and antiviral activity of entry inhibitors that target the CD4-binding site of HIV-1 [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 4764-4775.

- [34] Curreli F, Kwon YD, Zhang H, et al. Binding mode characterization of NBD series CD4-mimetic HIV-1 entry inhibitors by X-ray structure and resistance study [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58: 5478-5491.
- [35] Zhang JW, Jia RF, Zhan P, et al. Advances in research on inhibitors of viral entry [J]. *Chin J Med Chem (中国药物化学杂志)*, 2021, 31: 680-704.
- [36] Curreli F, Kwon YD, Zhang H, et al. Structure-based design of a small molecule CD4-antagonist with broad spectrum anti-HIV-1 activity [J]. *J Med Chem*, 2015, 58: 6909-6927.
- [37] Yamada Y, Ochiai C, Yoshimura K, et al. CD4 mimics targeting the mechanism of HIV entry [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20: 354-358.
- [38] LaLonde JM, Elban MA, Courter JR, et al. Design, synthesis and biological evaluation of small molecule inhibitors of CD4-gp120 binding based on virtual screening [J]. *Bioorg Med Chem*, 2011, 19: 91-101.
- [39] Madani N, Schon A, Princiotta AM, et al. Small-molecule CD4 mimics interact with a highly conserved pocket on HIV-1 gp120 [J]. *Structure*, 2008, 16: 1689-1701.
- [40] Kwon YD, LaLonde JM, Yang YP, et al. Crystal structures of HIV-1 gp120 envelope glycoprotein in complex with NBD analogues that target the CD4-binding site [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e85940.
- [41] LaLonde JM, Kwon YD, Jones DM, et al. Structure-based design, synthesis, and characterization of dual hotspot small-molecule HIV-1 entry inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 4382-4396.
- [42] Curreli F, Belov DS, Kwon YD, et al. Structure-based lead optimization to improve antiviral potency and ADMET properties of phenyl-1*H*-pyrrole-carboxamide entry inhibitors targeted to HIV-1 gp120 [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 154: 367-391.
- [43] Curreli F, Ahmed S, Benedict Victor SM, et al. Preclinical optimization of gp120 entry antagonists as anti-HIV-1 agents with improved cytotoxicity and ADME properties through rational design, synthesis, and antiviral evaluation [J]. *J Med Chem*, 2020, 63: 1724-1749.
- [44] Losada N, Ruiz FX, Curreli F, et al. HIV-1 gp120 antagonists also inhibit HIV-1 reverse transcriptase by bridging the NNRTI and NRTI sites [J]. *J Med Chem*, 2021, 64: 16530-16540.
- [45] Tsuji K, Kobayakawa T, Konno K, et al. Exploratory studies on soluble small molecule CD4 mimics as HIV entry inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2022, 56: 116616.
- [46] Kobayakawa T, Tsuji K, Konno K, et al. Hybrids of small-molecule CD4 mimics with polyethylene glycol units as HIV entry inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2021, 64: 1481-1496.
- [47] Chaiken I, Rashad AA. Peptide triazole inactivators of HIV-1: how do they work and what is their potential? [J]. *Future Med Chem*, 2015, 7: 2305-2310.
- [48] Rashad AA, Kalyana Sundaram RV, Aneja R, et al. Macrocyclic envelope glycoprotein antagonists that irreversibly inactivate HIV-1 before host cell encounter [J]. *J Med Chem*, 2015, 58: 7603-7608.
- [49] Ang CG, Hossain MA, Rajpara M, et al. Metastable HIV-1 surface protein env sensitizes cell membranes to transformation and poration by dual-acting virucidal entry inhibitors [J]. *Biochemistry*, 2020, 59: 818-828.
- [50] Gaffney A, Nangarla A, Ang CG, et al. HIV-1 env-dependent cell killing by bifunctional small-molecule peptide conjugates [J]. *ACS Chem Biol*, 2021, 16: 193-204.
- [51] Pu J, Dai Y, Wang Q, et al. Rational design of a novel small-molecule HIV-1 inactivator targeting both gp120 and gp41 of HIV-1 [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 613361.
- [52] Herschhorn A, Gu C, Espy N, et al. A broad HIV-1 inhibitor blocks envelope glycoprotein transitions critical for entry [J]. *Nat Chem Biol*, 2014, 10: 845-852.
- [53] Soler F, Poujade C, Evers M, et al. Betulinic acid derivatives: a new class of specific inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 entry [J]. *J Med Chem*, 1996, 39: 1069-1083.
- [54] Holz-Smith SL, Sun IC, Jin L, et al. Role of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 envelope in the anti-HIV activity of the betulinic acid derivative IC9564 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45: 60-66.
- [55] Pavlova NI, Savinova OV, Nikolaeva SN, et al. Antiviral activity of betulin, betulinic and betulonic acids against some enveloped and non-enveloped viruses [J]. *Fitoterapia*, 2003, 74: 489-492.
- [56] Fujioka T, Kashiwada Y, Kilkuskie RE, et al. Anti-aids agents. 11. Betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from *syzigium-claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57: 243-247.
- [57] Takeuchi R, Ogihara K, Fujimoto J, et al. Design, synthesis, and bio-evaluation of novel triterpenoid derivatives as anti-HIV-1 compounds [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2022, 69: 128768.
- [58] Van Herrewege Y, Morellato L, Descours A, et al. CD4 mimetic miniproteins: potent anti-HIV compounds with promising activity as microbicides [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 61: 818-826.
- [59] Marti-Mari O, Martinez-Gualda B, Fernandez-Barahona I, et al. Organotropic dendrons with high potency as HIV-1, HIV-2 and EV-A71 cell entry inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 237: 114414.
- [60] Alabi SB, Crews CM. Major advances in targeted protein degradation: PROTACs, LYTACs, and MADTACs [J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100647.
- [61] Haag SM, Gulen MF, Reymond L, et al. Targeting STING with covalent small-molecule inhibitors [J]. *Nature*, 2018, 559: 269-273.