

如果被批准列入 OTC 专论中,任何公司都可以不经过 FDA 的审批而按照 OTC 专论申请销售该产品。由于没有保护期,在 OTC 专论申请后会立即引来其他厂家竞争。NDA 申请无论是否有专利,一般都享有 3 年市场专营保护期,如有专利则更长。在保护期期间,FDA 不再批准甚至接受其他厂家的申报。其次,OTC 专论的审批程序看似简单,但实际十分漫长和繁琐;NDA 申请要求 FDA 在特定的时间内完成审批,对某些特殊药品,还可能加快审批。因此,如果生产商希望获得市场保护,那就需考虑通过 NDA 申请。

5 结语

在植物药产品备受关注的今天,美国作为全球药最大市场,任何想走国际化战略的现代企业都几乎无法回避。进入美国市场,必先知其法规。以上将植物药产品以饮食补充剂、OTC 和 NDA 的不同形式上市途径进行了介绍,以期对我国相关企业有所借鉴。

究竟以何种途径将植物药产品进入美国市场,不仅要取决于产品本身,同时也取决于企业对市场的期望、自身规模、投入及法规研究等综合因素的考量。

天然来源 HIV 进入抑制剂的进展

杨洁,孙魏,刘叔文*

(南方医科大学药学院,广东 广州 510515)

摘要:当前艾滋病的治疗为高效抗逆转录病毒疗法,使用的药物主要为逆转录酶抑制剂和蛋白酶抑制剂,但效果并不十分令人满意。HIV 进入抑制剂通过阻止 HIV 进入靶细胞抑制病毒感染,是抗 HIV 新药研究中最活跃的领域之一。由于天然产物具有来源广泛、结构多样、有效和低毒等特点,使天然来源 HIV 进入抑制剂成为近年来研究和开发新型抗 HIV 药物的热点。对近年来天然来源 HIV 进入抑制剂的研究进行综述。

关键词:艾滋病;HIV 进入抑制剂;天然产物;抗 HIV 药物

中图分类号:R962

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)11-1837-04

Advances in studies on HIV entry inhibitors from natural products

YANG Jie, SUN Wei, LIU Shu-wen

(School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Key words: AIDS; HIV entry inhibitors; natural products; anti-HIV drugs

艾滋病即 HIV 获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染引起的重大传染性疾病。当前,艾滋病的治疗为高效抗逆转录病毒疗法(highly active anti-retroviral therapy, HAART),主要使用 HIV 逆转录酶抑制剂和蛋白酶抑制剂,但其不良反应大,耐药性不断发生,且不能彻底清除人体内的 HIV,因而在一定程度上限制了其应用。

理论上来说,阻断病毒进入靶细胞是预防 HIV 感染最有效的手段。因此,新一类抗艾滋病药物——HIV 进入抑制剂,为治疗 AIDS 提供了新方法。HIV 进入靶细胞的过程主要由包被糖蛋白 gp120 和 gp41 介导。首先是 gp120 与靶细胞上的 CD4 分子和辅助受体(CCR5 或 CXCR4)先后结合,随后 gp41 的构型发生改变,介导病毒包膜与靶细胞膜的融合,完成病毒进入宿主细胞的感染过程。所以,抑制融合

过程中的任何一个环节,就能抑制 HIV 进入靶细胞,从而预防和治疗 HIV 的感染。gp120、gp41、CD4、趋化因子受体均可作为 HIV 进入抑制剂的药物作用靶点。目前,已经有两个 HIV 进入抑制剂被批准用于临床,分别是 2003 年批准的多肽药物 Enfuvirtide 和 2007 年批准的 CCR5 拮抗剂 Maraviroc^[1,2]。

天然产物是新药发现的一个重要源泉,由于其结构的多样性、有效的作用、较低的不良反应以及广泛的来源等特点,越来越为国内外学者所重视。从天然资源中寻找新的 HIV 药物和先导化合物研究,是当前国内外新药研制中的重要研究方向和非常活跃的领域^[3]。近年来,从中草药和海洋生物体中分离到了多种具有抑制 HIV 活性的天然活性物质,如生物碱类、蛋白质类、萜类、黄酮类、木脂素类以及香豆素类等,为将来开发廉价有效的天然来源 HIV 进入抑制剂奠定了基础^[4]。

收稿日期:2009-05-15

基金项目:教育部新世纪优秀人才基金(NCET-06-0753);国家自然科学基金(30729001);教育部高等学校科技创新工程重大项目培育基金(706047)

作者简介:杨洁(1980—),女,讲师,博士研究生,从事天然产物抗 HIV 活性筛选研究。

Tel: (020)61648595 E-mail: yjjy20071030@yahoo. cn

* 通讯作者 刘叔文 Tel/Fax: (020)61648538 E-mail: liusw@fimmu. com

1 香豆素类

目前已有多种具抗 HIV 活性的天然香豆素类化合物从植物中分离出来。Kim 等^[5]用 HIV gp41 亲和力定向色谱分离法从白蜡树分离出的 6,7-二羟基香豆素与 gp41 具有中度亲和力,其 IC_{50} 值为 0.5 mg/mL。多种呋喃香豆素类化合物都表现出抗 HIV 活性,其中活性最好的和香柑内酯能抑制 H9 淋巴细胞中的 HIV-1_{III_B} 病毒株复制, EC_{50} 值分别为 0.10 μ g/mL 和 0.35 μ g/mL, 治疗指数分别为 191 和 69.9^[6]。此外,许多从麝香根部分离的香豆素衍生物也有抗 HIV 活性,如戊烯氧呋豆素和独活属醇能够抑制 H9 淋巴细胞中的 HIV 病毒株复制, EC_{50} 分别为大于 0.10 μ g/mL 和 0.115 μ g/mL^[7]。这些香豆素类化合物抑制 HIV 病毒株复制的机制可能与 HIV gp41 相互作用,使其不能进入细胞进行复制有关。

2 黄酮类化合物

许多黄酮类的化合物具有潜在的抗 HIV 活性,如从豆科植物甘草中分离出的甘草素(liquiritigenin)、异甘草素(isoliquiritigenin)等,它们的作用机制除了抑制 HIV 逆转录酶和蛋白酶的活性,诱导干扰素的产生,还能下调 HIV 辅助受体如 CCR2b、CCR3 和 CCR5 的表达从而使病毒不能与靶细胞膜融合^[4]。葡萄种子提取物(主要含黄烷和原花青素类)中的黄酮成分以剂量依赖方式显著下调正常外周血单核细胞(Peripheral blood mononuclear cells, PBMC)胞膜上 HIV 进入辅助受体(CCR2b、CCR3 和 CCR5)的表达,表明葡萄种子提取物能通过抑制 HIV 进入靶细胞从而阻止 HIV 的感染,故具潜在的开发价值^[8]。

蒲葵籽的醋酸乙酯提取物(主要含表儿茶素、表面茄儿茶精、小麦黄素等黄酮类化合物)具有较强的体外抗 HIV-1 活性,其作用机制可能主要为阻断病毒进入和抑制 HIV-1 蛋白酶活性^[9,10]。

黄芩苷(baicalin)是从药用植物黄芩中提取的抗炎、抗 HIV 活性的化合物。黄芩苷在无细胞毒性浓度水平能够抑制 HIV-1 包被膜蛋白介导的与 CD4/CXCR4 和 CD4/CCR5 T 细胞融合(IC_{50} = 4 μ mol/L)。但由于其不能抑制 HIV-1 的 gp120 与 CD4 结合,故推测可能是与 HIV-1 的包膜糖蛋白相互作用,抑制其与辅助受体的结合,从而阻止 HIV-1 进入靶细胞^[11]。

来源于黄花夹竹桃的五元黄酮醇槲皮素(quercetin)能够抑制 HIV 的感染,它是通过阻止 gp120 和 CD4 的结合来发挥作用的(IC_{50} = 10 μ mol/L)^[12]。

蛇葡萄素(ampelopsin)能抑制 HIV-1 的感染,还能干扰 HIV-1 与 CD4⁺ 细胞的黏附。蛇葡萄素和趋化因子均能刺激人 PBMCs 的迁移,并具有协同作用,且蛇葡萄素在 1 mg/mL 时产生最大趋化性。蛇葡萄素能导致 PBMCs 表面的 CXCR4 内存减少,在质量浓度为 1 mg/mL 时能使辅助受体 CXCR4 的数目降低大约 70%,从而表明了蛇葡萄素使 CXCR4 数目减少,降低 HIV gp120 与靶细胞的相互作用,使病毒不能与靶细胞融合^[13]。

3 生物碱类

很多生物碱具有抗癌、抗菌、抗衰老等生物活性,所以不少科学工作者也在寻找具有抗 HIV 活性的生物碱。一些结构非常简单的生物碱类,如吡啶-3-羧酸,就具有抗 HIV 活性^[14]。Jayasuriya 等^[15]通过筛选天然产物寻找趋化因子受体 CCR5 拮抗剂,从樟科植物的甲醇提取物找到一种生物碱类化合物 anibamine,是一种新型吡啶四元生物碱,常以三氟乙酸盐(anibamine-TFA)的形式存在。Anibamine-TFA 能够竞争 [¹²⁵I]-gp120 与人类 CCR5 的结合, IC_{50} 为 1 μ mol/L^[15]。Chang 等^[16]在 *Fromia monillis* 和 *Celerina heffer-nani* 2 种海星中发现了五轮列瓜生物碱 crambescidin 826、crambescidin 800 和 fromiamycalin 4 能在体外抑制 HIV-1 包膜蛋白介导的融合,其 IC_{50} 为 1~3 μ mol/L。

4 萜类化合物

三萜类化合物白桦脂酸(belulinic acid)是一种广泛存在于植物中的羽扇豆烷型五环三萜。白桦脂酸在 1994 年首次被报道能在体外抑制 HIV-1_{III_B} 的复制(IC_{50} = 1.4~6.5 μ mol/L)。由于其较高的抗 HIV 活性和自然界来源广泛,白桦脂酸已作为抗 HIV 药物筛选的先导化合物。一些白桦脂酸类似物在病毒与靶细胞结合时,可通过与病毒糖蛋白 gp41 相互作用抑制 HIV-1 与靶细胞的融合;另一些则可抑制 HIV-1 病毒颗粒的装配和出芽。近年来有报道称一类白桦脂酸类似物能够抑制 HIV 成熟的限速步骤—P24/P2 的切割,从而可作为一类具有新作用机制的抗 HIV 药物,即 HIV 成熟抑制剂,来进行研发。最近又报道了第 3 类白桦脂酸衍生物,通过同时抑制 HIV 的进入与成熟两个步骤来抑制 HIV 的感染。白桦脂酸衍生物作用靶点的不同,主要是由于化合物的侧链结构的不同,3 位侧链的修饰主要影响 HIV 的成熟,而 28 位侧链的修饰则与 HIV 进入抑制有关^[17,18]。

白桦脂酸衍生物 RPR103611(IX)能抑制 HIV 感染, IC_{50} 约为 10 nmol/L。该化合物的作用机制是抑制病毒和细胞膜融合,作用在 gp120 与靶细胞受体结合后的步骤^[19]。目前认为 RPR103611 抗 HIV 的作用靶点是 gp41。HIV gp41 上 22 位(Arg→Ala)和 84 位(Ile→Ser)的氨基酸的改变会导致对 RPR103611 的耐受^[20]。RPR103611 对不同的 HIV 病毒株的抑制作用具有差异,其对 CXCR4 嗜性的 HIV-1 病毒株(如 HIV-1_{LAI})具有很强的抑制作用,但对其他的 X4 病毒株(如 HIV-1_{NDK})和 CCR5 嗜性 HIV-1 病毒株(如 HIV-1_{ADA})的抑制作用却很弱。HIV-1_{LAI} 和 HIV-1_{NDK} 在 gp41 环区序列上有一个关键的差别,即 91 位点上的氨基酸残基分别是亮氨酸和组氨酸,这可能是其对 RPR103611 的敏感性不同的原因。但是, HIV-1_{ADA} 与 HIV-1_{LAI} 在 gp41 环区基本一致,因此仅从 gp41 的不同不能完全解释 RPR103611 在不同病毒株作用机制的差异。HIV-1_{LAI} 的 gp120 和 HIV-1_{ADA} 的 gp41 组成嵌合体介导的融合,或者相反的嵌合体组合,都能被 RPR103611 完全阻断。R5 病毒株的 gp120-gp41 复合体比 X4 病毒株要稳定,这种稳定性能在

其药物抗性中有所体现。因此, gp41 环区序列以及 gp120-gp41 复合物的稳定性均能影响 RPR103611 与靶位点接近, 从而影响 RPR103611 的抗 HIV 活性^[20]。从甘草根部提取的三萜类皂苷化合物甘草素能够阻止病毒粒子吸附到 CD4⁺ 细胞从而抑制 HIV-1 的复制^[21]。

5 多糖类

大量研究表明, 许多多糖对各种病毒有抑制作用。尤其是硫酸酯化多糖是当今多糖研究中的一个热点, De Clercq 综述了天然来源特别是海洋来源的硫酸多糖的抗 HIV 活性^[22]。硫酸化的同多糖比硫酸化的杂多糖在抗 HIV 感染上更为有效。硫酸基团的存在对抗 HIV 活性是必需的, 且效价随着硫酸化程度增加。硫酸多糖与 gp120 的 V3 环区相互作用, 阻断 HIV 吸附到靶细胞的表面, 从而抑制 HIV 诱导的细胞融合。硫酸乙酰肝素是许多细胞表面具有的一种硫酸化多糖, 在 HIV gp120 与细胞表面 CD4 受体结合后, 硫酸乙酰肝素能够与 gp120 相互结合, 起辅助受体作用^[23]。硫酸葡聚糖和其他一些可溶性多聚阴离子如硫酸环糊精、肝磷脂等具有阻断 HIV 病毒粒子与靶细胞非特异性黏附的作用, 从而发挥抗 HIV 感染的作用^[23]。

6 多酚类

鞣质(tannin)属于水溶性多羟基酚类化合物, 研究表明许多鞣质类有抑制病毒的活性。曾有报道指出鞣质能通过抑制 HIV 逆转录酶、蛋白酶和整合酶阻止 HIV 的复制。来自夏枯草和贯众中的鞣质成分还能阻断 gp41 六螺旋束的形成, 从而阻断 HIV-1 进入靶细胞, 在质量浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 抑制率分别为 86.2% 和 98.3%^[25]。

占绿茶儿茶素成分 50% 的表没食子儿茶素没食酯(EGCG)可作为一种低成本药物, 与其他药物联合应用于抗 HIV 治疗。EGCG 抗 HIV 的机制还不清楚, 但有研究表明 EGCG 除了抑制 HIV 逆转录酶外, 其还能作用于 HIV 感染过程的不同环节。EGCG 通过结合到病毒包膜表面来破坏病毒粒, 与 polymyxin B 作用于细菌细胞膜方式相似, 使磷脂层变形^[26]。最近, Mike 等发现在 EGCG 生理浓度下能抑制 gp120 与人 CD4⁺ T 细胞的结合。进一步发现 EGCG 能通过抑制 gp120 与 CD4 分子的结合来发挥抗 HIV-1 作用。通过核磁共振分析、流式细胞术等方法, 证明 EGCG 结合到 CD4 分子上的 gp120 结合位点。进一步的分子模拟研究, 推测 EGCG 结合在 CD4 的 D1 区的“口袋”区域, 此“口袋”正是 CD4 上 gp120 的结合位点。EGCG 与 CD4 分子的亲和力很强, 亲和常数大约为 10 nmol/L。EGCG 和 CD4 结合后, gp120 与 CD4-EGCG 复合物结合的亲和力可以忽略不计, 表明 EGCG 与 CD4 的结合能有效阻断 gp120-CD4 结合。因此, EGCG 有望在临床上作为 HIV-1 感染的辅助治疗药物^[27]。

研究发现茶叶中的茶多酚, 尤其是红茶中的茶黄素衍生物茶黄素双没食子酸酯(TF3), 能显著地抑制 HIV 进入靶细胞。通过对 HIV 进入靶细胞的各作用靶点(包括 gp120 与 CD4 结合、gp120 与辅助受体结合、gp41 构象改变等)进行逐一检测, 发现 TF3 等茶黄素生物能特异性地作用于

gp41, 抑制 gp41 六螺旋核心结构的形成。根据 gp41 晶体结构进行的计算机辅助药物模拟技术也表明 TF3 能结合到 gp41 的疏水性空穴之中^[28]。

7 蛋白质类

蛋白质是最大一类具抗 HIV 活性的天然产物。Cyano-virin-N(CV-N)是分离于蓝绿藻 *Nostoc ellipsosporum* 的一个具有 101 个氨基酸残基相对分子质量为 1.1×10^4 的蛋白质。在低浓度(纳摩尔级)水平, 其就能阻断 HIV 病毒粒子与靶细胞的黏附。CV-N 还表现出抑制 HIV 诱导的病毒-细胞融合以及细胞-细胞融合的活性。CV-N 发挥抗病毒作用的确切机制现在还不清楚, 但至少与 gp120 相互作用有关^[29]。CV-N 与 gp120 相互作用部分是由 gp120 上的 N-连接复合糖基介导, 可抑制识别 gp120 上糖基的具有中和作用的单抗 2G12 与 gp120 的结合。CV-N 在溶液中以单体或二聚体形式存在。以单体形式存在时, CV-N 包括一个新型糖结合位点, 此位点以强亲和力选择性结合到 gp120 上的 Man9GlcNAc2 和 Man8GlcNAc2 的异构体 D1D3 上。除了这个高亲和力结合位点之外, CV-N 还有一个非必需的较低亲和力结合位点, 这个位点促进(以微摩尔水平或者更高的水平)CV-N-寡聚甘露糖复合物(CV-N-gp120 复合物)的交联。这两个亲和力不同的结合位点在分子的两个末端, 一个在 C 末端, 一个在 N 末端。

RANTES 是由丝氨酸-脯氨酸-酪氨酸组成的三肽, 目前发现其是 β 型趋化因子的天然配体, 能与 HIV gp120 竞争结合 CCR5 辅助受体而抑制 HIV 感染。同时, 它还能活化 CCR5 介导的下游信号通路, 这可能引起副作用。RANTES 的 N-末端经修饰后产生 AOP-RANTES 和 NNY-RANTES, 它们能在纳摩尔水平抑制 HIV R5 变异病毒株^[30]。

PRO140 是另一个大分子的 CCR5 辅助受体结合抑制剂。它是鼠来源的抗 CCR5 单克隆抗体, 能与一个跨越 CCR5 多个胞外区的表位结合。PRO140 不能阻止 CC 型趋化因子介导的信号传导, 但能阻断 gp120 与 CCR5 的相互作用。PRO140 显示了一种高效且不依赖基因亚型的抗 HIV 活性, 目前已在对其进行临床 II 期试验^[31]。KRH-1636 是从高通量筛选优化中得到的基于精氨酸的 CXCR4 拮抗剂, 具有良好的抗 HIV 活性(IC_{50} 大约为 42 nmol/L)^[32]。

8 展望

天然产物是生物活性化合物的丰富来源, 科学家们寄希望于从中找到新的具有抗 HIV 作用的先导化合物, 并大大加强了对天然药物的开发与研究, 且已取得较好的研究成果。从国内外最新研究可见, 具有阻断病毒进入靶细胞的天然产物都能有效抑制 HIV 的感染, 通过结构活性相关性可以把这些化合物作为新先导化合物来研发, 通过结构优化使之成为候选药物, 为开发新型的 HIV 进入抑制剂提供科学的指导, 同时也为 HIV 感染的药物研发指明新的方向。尽管这些抑制 HIV 进入的化合物结构独特, 但它们的作用靶点及其作用机制大多在体外生化基础上得到, 必须通过体内试验进一步验证。

参考文献:

- [1] Qian K, Morris-Natschke S L, Lee K H. HIV entry inhibitors and their potential in HIV therapy [J]. *Med Res Rev*, 2009, 29(2): 369-393.
- [2] Este J A, Telenti A. HIV entry inhibitors [J]. *Lancet*, 2007, 370(9581): 81-88.
- [3] Asres K, Seyoum A, Veeresham C, et al. Naturally derived anti-HIV agents [J]. *Phytother Res*, 2005, 19(7): 557-581.
- [4] Cos P, Maes L, Vlietinck A, et al. Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection-an update (1998-2007) [J]. *Planta Med*, 2008, 74(11): 1323-1337.
- [5] Kim H J, Yu Y G, Park H, et al. HIV gp41 binding phenolic components from *Fraxinus sieboldiana* var. *angustata* [J]. *Planta Med*, 2002, 68: 1034-1036.
- [6] Shikishima Y, Takaishi Y, Honda G, et al. Chemical constituents of *Prangos tschiganica*; structure elucidation and absolute configuration of coumarin and furanocoumarin derivatives with anti-HIV activity [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49: 877-880.
- [7] Zhou P, Takaishi Y, Duan H, et al. Coumarins and bicoumarin from *Ferula sumbul*: anti-HIV activity and inhibition of cytokine release [J]. *Phytochemistry*, 2000, 53: 689-697.
- [8] Nair M P, Kandaswami C, Mahajan S, et al. Grape seed extract proanthocyanidins downregulate HIV-1 entry coreceptors, CCR2b, CCR3 and CCR5 gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells [J]. *Biol Res*, 2002, 35: 421-431.
- [9] 李春艳, 曾艳波, 彭芳, 等. 蒲葵籽提取物体外抗 HIV-1 活性及机制的初步研究 [J]. *中草药*, 2008, 39(12): 1833-1838.
- [10] 陈屏, 杨峻山. 蒲葵籽化学成分研究 [J]. *中草药*, 2007, 38(5): 665-667.
- [11] Li B Q, Fu T, Dongyan Y, et al. Flavonoid baicalin inhibits HIV-1 infection at the level of viral entry [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276: 534-538.
- [12] Lameira J, Alves C N, Moliner V, et al. A density functional study of flavonoid compounds with anti-HIV activity [J]. *Eur J Med Chem*, 2006, 41(5): 616-623.
- [13] Liu D Y, Ye J T, Yang W H, et al. Ampelopsin, a small molecule inhibitor of HIV-1 infection targeting HIV entry [J]. *Biomed Environ Sci*, 2004, 17(2): 153-164.
- [14] Gupta L, Talwar A, Chauhan P M. Bis and tris indole alkaloids from marine organisms: new leads for drug discovery [J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14(16): 1789-1803.
- [15] Jayasuriya H, Herath K B, Ondeyka J G, et al. Isolation and structure of antagonists of chemokine receptor (CCR5) [J]. *Nat Prod*, 2004, 67: 1036-1038.
- [16] Chang L, Whittaker N F, Bewley C A. Crambescidin 826 and dehydrocrambine A: new polycyclic guanidine alkaloids from the marine sponge *Monanchora* sp. that inhibit HIV-1 fusion [J]. *Nat Prod*, 2003, 66: 1490-1494.
- [17] Cichewicz R H, Kouzi S A. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection [J]. *Med Res Rev*, 2004, 24: 90-114.
- [18] Huang L, Yuan X, Aiken C, et al. Bifunctional antihuman immunodeficiency virus type 1 small molecules with two novel mechanisms of action [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48: 663-665.
- [19] Sun I C, Kashiwada Y, Morris-Natschke S L, et al. Plant-derived terpenoids and analogues as anti-HIV agents [J]. *Curr Top Med Chem*, 2003, 3(2): 155-169.
- [20] Labrosse B, Treboute C, Alizon M. Sensitivity to a non-peptidic compound (RPR103611) blocking human immunodeficiency virus type 1 Env-mediated fusion depends on sequence and accessibility of the gp41 loop region [J]. *Virology*, 2000, 74: 2142-2150.
- [21] Huang L, Chen C H. Molecular targets of anti-HIV-1 triterpenes [J]. *Curr Drug Targets Infect Disord*, 2002, 2: 33-36.
- [22] Yu D, Morris-Natschke S L, Lee K H. New developments in natural products-based anti-AIDS research [J]. *Med Res Rev*, 2007, 27(1): 108-132.
- [23] Vivès R R, Imbert A, Sattentau Q J, et al. Heparan sulfate targets the HIV-1 envelope glycoprotein gp120 coreceptor binding site [J]. *Biol Chem*, 2005, 280(22): 21353-21357.
- [24] Schaeffer D J, Krylov V S. Anti-HIV activity of extracts and compounds from algae and cyanobacteria [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2000, 45: 208-227.
- [25] Lu L, Liu S W, Jiang S B, et al. Tannin inhibits HIV-1 entry by targeting gp41 [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25(2): 213-218.
- [26] Fassina G, Buffa A, Benelli R, et al. Polyphenolic antioxidant (-)-epigallocatechin-3-gallate from green tea as a candidate anti-HIV agent [J]. *AIDS*, 2002, 16: 939-941.
- [27] Williamson M P, McCormick T G, Nance C L, et al. Epigallocatechin gallate, the main polyphenol in green tea, binds to the T-cell receptor, CD4: Potential for HIV-1 therapy [J]. *Allergy Clin Immunol*, 2006, 118(6): 1369-1374.
- [28] Liu S, Jiang S, Wu S, et al. Identification of inhibitors of the HIV-1 gp41 six-helix bundle formation from extracts of Chinese medicinal herbs *Prunella vulgaris* and *Rhizome cibotte* [J]. *Life Sci*, 2002, 71: 1779-1791.
- [29] Dey B, Lerner D L, Lusso P, et al. Multiple antiviral activities of cyanovirin-N: blocking of human immunodeficiency virus type 1 gp120 interaction with CD4 and coreceptor and inhibition of diverse enveloped viruses [J]. *Virology*, 2000, 74: 4562-4569.
- [30] Nisius L, Rogowski M, Vangelista L, et al. Large-scale expression and purification of the major HIV-1 coreceptor CCR5 and characterization of its interaction with RANTES [J]. *Protein Expr Purif*, 2008, 61(2): 155-162.
- [31] Trkola A, Ketas T J, Nagashima K A, et al. Potent, broad-spectrum inhibition of human immunodeficiency virus type 1 by the CCR5 monoclonal antibody PRO 140 [J]. *Virology*, 2001, 75: 579-588.
- [32] Ichiyama K, Yokoyama-Kumakura S, Tanaka Y, et al. A duodenally absorbable CXC chemokine receptor 4 antagonist, KRH-1636, exhibits a potent and selective anti-HIV-1 activity [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, 100: 4185-4190.