

НОВЫЕ НЕНУКЛЕОЗИДНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ ВИЧ-1: КОМБИНАТОРНЫЙ ПОДХОД

© 2017 г.

В. Т. ВАЛУЕВ-ЭЛЛИСТОН,
С. Н. КОЧЕТКОВ

*Институт молекулярной биологии имени В.А.Энгельгардта РАН,
Москва*

I. Введение. II. Ингибирование ОТ ВИЧ. III. ННИОТ на основе диарилзамещенных пиримидинов (DAPY). IV. ННИОТ ВИЧ на основе 1-[(2-гидроксиэтокси)метил]-6-(фенилтио)тимина (НЕРТ). V. ННИОТ ВИЧ на основе дигидроалкокксибензилоксопиримидинов (DABO). VI. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Со времени открытия вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) в 1983 году были предприняты колоссальные усилия, направленные на предупреждение, профилактику и подавление ВИЧ-инфекции. Эти усилия привели к существенному снижению заболевания в странах Европы и Северной Америки и переходу ВИЧ-инфекции в этих странах из разряда смертельного заболевания в разряд хронической инфекции, достаточно успешно сдерживаемой препаратами высоко-активной антиретровирусной терапии (ВААРТ). Тем не менее число носителей ВИЧ в мире в целом продолжает увеличиваться и в настоящее время составляет около 40 млн. человек [1].

Принятые сокращения: ВИЧ – вирус иммунодефицита человека; ОТ – обратная транскриптаза; ННИОТ – ненуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы; DAPY – диарилзамещенные пиримидины; DABO – дигидроалкокксибензилоксопиримидин; НЕРТ – 1-[(2-гидроксиэтокси)метил]-6-(фенилтио)тимин; FDA – управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США; NVP – невирапин; EFV – эфавиренц; DLV – делавердин; ETV – этравирин; RPV – рилпивирин; DPV – дапивирин; В-во – вещество; IC₅₀ – ингибирующая концентрация (количество вещества, ингибирующее активность фермента на 50%); EC₅₀ – эффективная концентрация (количество вещества, уменьшающее количество вирусных частиц на 50%); WT – дикий тип (вируса или белка).

Адрес для корреспонденции: gansfaust@mail.ru

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 14-50-000-60.

В нашей стране ситуация продолжает оставаться неутешительной. По данным мониторинга Роспотребнадзора к 31 декабря 2016 г. общее число зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции среди граждан Российской Федерации достигло 1 114 815 человек (по предварительным данным), из них умерло по разным причинам 243 883 человек. В 2016 г. территориальными центрами по профилактике и борьбе со СПИД было сообщено о 103 438 новых случаях ВИЧ-инфекции, что на 5,3% больше, чем в 2015 г.

С 2005 г. в стране регистрируется рост количества новых выявленных случаев инфицирования ВИЧ, в 2011-2016 годах ежегодный прирост составлял в среднем 10%. Показатель заболеваемости в 2016 г. составил 70,6 на 100 тыс. населения [2]. Одним из негативных факторов для России является слабый охват методами лечения. Из 675 тысяч инфицированных, состоящих на диспансерном учете ВААРТ получали 286 тысяч пациентов (42,3%). Достигнутый охват лечением не выполняет роль профилактического мероприятия и не позволяет радикально снизить темпы распространения заболевания [2]. Связано это в том числе и с высокой стоимостью терапии при недостаточном наличии отечественных анти-ВИЧ препаратов.

К 2016-году для борьбы с ВИЧ-инфекцией FDA одобрено около тридцати препаратов [3]. Это, прежде всего, ингибиторы ключевого фермента репликации ВИЧ – обратной транскриптазы (ОТ), а также ингибиторы, блокирующие проникновение вируса в клетку (слияние и связывание с корцепторами), созревание вирусной частицы (ингибиторы протеазы) и включение ДНК-провируса в геном клетки-хозяина (ингибиторы интегразы). Эти препараты применяются как индивидуально, так и (в большинстве случаев) в составе комплексных «коктейлей» ВААРТ, содержащих как минимум три препарата, направленных одновременно на несколько стадий жизненного цикла ВИЧ и, тем самым, наиболее эффективно воздействующих на течение болезни.

Применение «коктейлей» является наиболее успешной стратегией в лечении ВИЧ-инфекции, позволяя задержать ее прогрессирование, особенно на ранних стадиях заболевания. При применении ВААРТ уровни плазменной вирусной нагрузки остаются ниже предела обнаружения в течение по меньшей мере шести месяцев [4]

Однако некоторые вопросы все еще далеки от решения. Основной проблемой при применении ВААРТ является быстро возникающая резистентность к применяемым препаратам, что требует периодической смены последних. По данным ВОЗ в 2010 г. в развивающихся странах примерно у 7% пациентов с ВИЧ, приступивших к курсу

антиретровирусной терапии (АРТ), была обнаружена устойчивость к лекарственным средствам. В развитых странах этот показатель составил 10–20%. В последнее время некоторые страны сообщают о 15% (или больше) случаев резистентности среди приступающих к терапии и до 40% среди возобновляющих [5]. Существенными остаются также такие проблемы, как нежелательные побочные эффекты и проблемы токсичности, что зачастую приводит к несоблюдению предписанных схем АРТ [6]. Таким образом, по-прежнему актуальной остается разработка новых анти-ВИЧ препаратов с улучшенными профилями резистентности и увеличенной переносимостью пациентами. Среди анти-ВИЧ препаратов занимают так называемые ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, разработке которых и посвящен настоящий обзор.

II. ИНГИБИРОВАНИЕ ОТ ВИЧ

Свойства ВИЧ и особенности его жизненного цикла описаны в учебниках и многочисленных обзорах [7–10]. Ключевой стадией жизненного цикла является обратная транскрипция – перевод генетической информации из одноцепочечной вирусной РНК в ее двухцепочечную ДНК-копию [11]. Реакция обратной транскрипции катализируется ферментом обратной транскриптазой (ОТ), представляющей собой ассиметричный гетеродимер, состоящий из двух структурно различных субъединиц р66 и р51 (последняя образуется в результате протеолитического расщепления р66. ОТ обладает двумя каталитическими активностями, активные центры которых локализованы на р66. Первая активность – полимеризационная, достраивает ДНК-цепи на РНК- или РНК-матрице, вторая (активность РНКазН) – осуществляет деградацию РНК в составе РНК–ДНК гибрида. Структура гетеродимера ОТ ВИЧ (р66/р51) имеет форму «правой руки» [12] характерную для многих нуклеотидполимераз. Соответственно, в структуре ОТ выделяют субдомены: «пальцы» (аминокислотные остатки 1–85, 118–155), «ладонь» (86–117, 156–236), «большой палец» (237–318), соединительный субдомен (остатки 319–426) и субдомен РНК-азы Н (остатки 427–560) (рис. 1) [13, 14]. Каталитический центр полимеразной активности фермента располагается в районе «ладони» и включает высококонсервативный мотив YMDD. Активный центр РНК-азы Н расположен на расстоянии 17–18 пар оснований от полимеразного активного центра.

Ключевая роль ОТ в жизненном цикле ВИЧ стимулировала создание значительного числа ее ингибиторов, способных служить эффек-

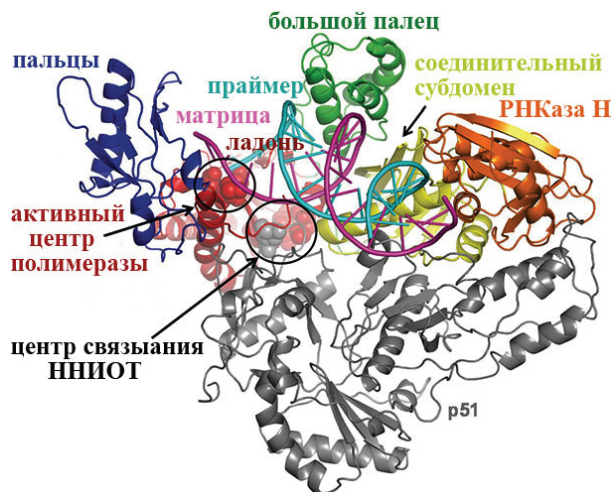


Рис. 1. Пространственная организация ОТ ВИЧ [15]

тивными лекарственными препаратами. Эти ингибиторы принадлежат к двум основным классам. Первый из них – нуклеозидные (нуклеотидные) ингибиторы ОТ (НИОТ, NRTI). Нуклеозиды, проникая в инфицированную клетку, конвертируются в соответствующие NTP и, включаясь в растущую часть вирусной ДНК, терминируют ее, поскольку их структура построена таким образом, что дальнейшее удлинение цепи невозможно. Нуклеотидные ингибиторы требуют только двойного фосфорилирования, поскольку уже содержат фосфат в 5'-положении.

Второй класс ингибиторов – ненуклеозидные ингибиторы ОТ (ННИОТ, NNRTI) – представляют собой органические соединения различных классов со значительной долей ароматических гидрофобных радикалов (рис. 2). ННИОТ являются неконкурентными ингибиторами фермента, которые связываются с аллостерическим центром ОТ, влияющим на мобильность и гибкость центра полимеризации, приводя к резкому снижению эффективности фермента. Центр связывания ННИОТ расположен на расстоянии 10А от полимеразного центра в р66-субъединице и образован преимущественно гидрофобными аминокислотными остатками (L100, K101, K103, V106, T107, V108, V179, Y181, Y188, V189, G190, F227, W229, L234, Y318 р66 субъединицы и E138 р51 субъединицы [13, 16]). Исследования кристаллов комплексов ОТ ВИЧ с различными ННИОТ показали, что гидрофобный «карман» формируется лишь при связывании последних и не существует в их отсутствии [17–20].

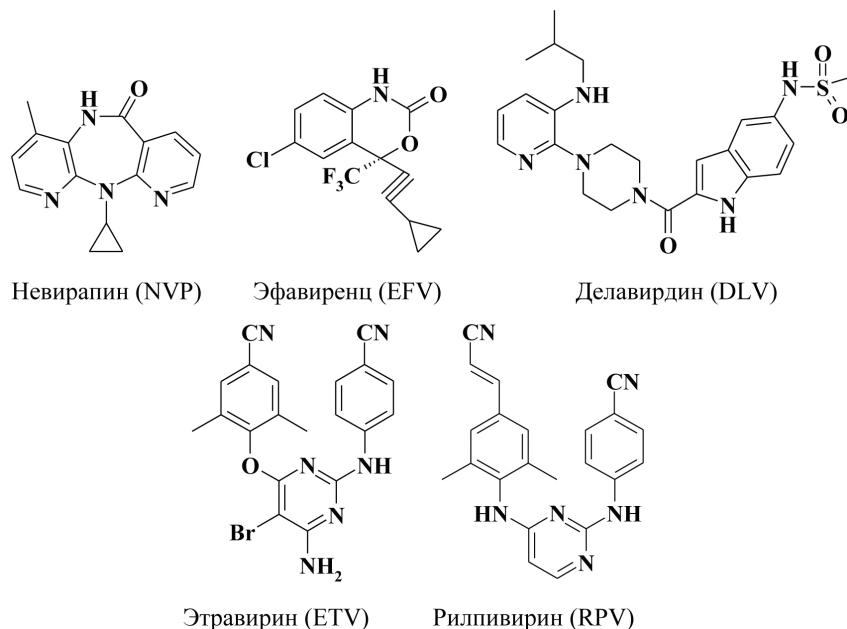


Рис. 2. ННИОТ ВИЧ, одобренные FDA [25].

Ингибирующее действие ННИОТ проявляется по-разному. Так, связывание неврипина (NVP, см. рис. 3) вызывает изменение положения гидрофобных остатков Y181 и Y188, и, как следствие, раздвигание двух элементов третичной структуры белка – β -листов $\beta 6$ – $\beta 10$ – $\beta 9$ и $\beta 12$ – $\beta 13$ – $\beta 14$, в состав которых входят каталитические аминокислотные остатки D110–D185–D186 и место позиционирования 3'-ОН конца праймера в полимеразной реакции, соответственно. В результате происходит смещение праймера относительно каталитического центра фермента на 4А и утрачивается взаимодействие консервативного каталитического мотива YMDD с концом праймера [21].

Другим механизмом действия ННИОТ является воздействие на динамические взаимодействия ОТ с нуклеиновой матрицей [22, 23]. В отсутствие ингибитора ОТ ВИЧ способна скользить вдоль нуклеиновой матрицы, а связывание с ННИОТ усиливает этот процесс [23, 24]. На примере эфавиренца (EFV, см. рис. 3) было показано, что связывание с ингибитором ведет к раскрытию «руки» и увеличению расстояния между субдоменами «большим пальцем» и «пальцами» ОТ ВИЧ. Смещение в сторону «скользящей» конформации фермента значительно снижает связывание с dNTP. Образо-

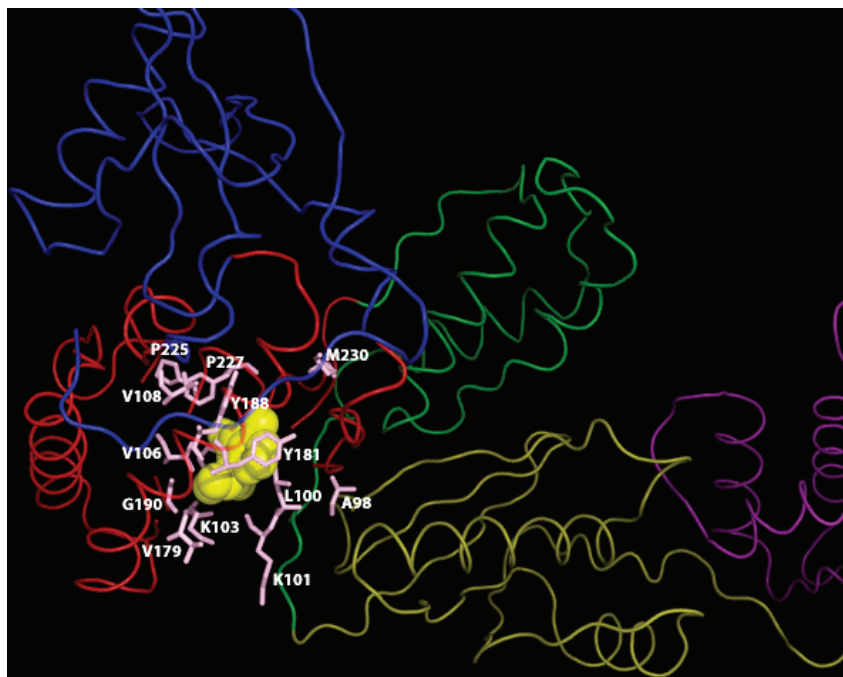


Рис. 3. Аминокислотные остатки гидрофобного кармана (выделен желтым), отвечающие за резистентность к ННИОТ. Не указан E138, относящийся к р51 и L234, P236, K238, L318, которые относят к «расширенному» гидрофобному карману.

вание солевого мостика между аминокислотными остатками K101 субъединицы р66 и E138 субъединицы р51 приводит к образованию структуры «открытой руки», что характерно для скользящей конформации, а наличие EFV в гидрофобном кармане стабилизирует эту конформацию фермента. Аминокислотный остаток K103 способствует ориентации K101 в сторону E138, поэтому его замена в случае мутации K103N приводит к разрыву солевого мостика K101–E138 и стабилизации фермента в положении «закрытой руки», что усиливает полимеразную активность. Этим объясняется резистентность мутанта K103N к целому спектру ННИОТ ВИЧ [22].

Для всех анти-ВИЧ препаратов крайне острой является проблема возникновения резистентности к ним, возникающая у пациентов, проходящих антивирусную терапию [26, 27]. ННИОТ ВИЧ не являются исключением; в зависимости от профиля резистентности соединения среди них выделяют два поколения препаратов: к первому относят невирапин (NVP), эфавиренц (EFV) и делавердин (DLV), ко второму –

этравирин (ETV) и рилпивириин (RPV) [28, 29]. Однако, несмотря на широкий профиль резистентности ННИОТ ВИЧ второго поколения в клинической практике уже встречаются пациенты с мутациями в ОТ ВИЧ, позволяющие вирусу противостоять действию этих препаратов [26].

Высокая изменчивость ВИЧ приводит к многочисленным заменам аминокислот в ОТ. Часть из них приводит к резистентности вируса к ННИОТ. Большинство резистентных мутаций связано с заменой аминокислот, формирующих гидрофобный карман (рис. 3), но существуют и замены в связывающем домене, приводящие к резистентности к ННИОТ [30, 31]. Предложено несколько механизмов устойчивости ОТ к действию ННИОТ:

- 1). Стерическое препятствие размещению ННИОТ в гидрофобном кармане (L100I, G190A) [32].

- 2). Утрата взаимодействий с аминокислотными остатками внутри кармана (Y181C, Y188L) [33].

- 3). Затруднение проникновения ННИОТ в гидрофобный карман (K103N и K101E) [34, 35].

- 4). Разрыв солевого мостика K101–E138, стабилизирующего «открытую» конформацию ОТ (K103N, K101E/H/P, E138A/G/K/Q/R) [22].

- 5). Опосредованное уменьшение скорости связывания ННИОТ с ОТ (мутации соединительного субдомена N348I, T369I/V, T376S) [30, 31].

Стоит отметить, что вклад разных механизмов резистентности в устойчивость к ННИОТ сильно различается для разных семейств соединений. Жесткие структуры препаратов первого поколения – NVP и EFV имеют очень низкий генетический барьер устойчивости. Даже единичные мутации способны вызвать резкое снижению их эффективности, что приводит к отмене препарата в клинике [36]. Наиболее совершенные препараты второго поколения этравирин и рилпивириин лишены подобного недостатка и пригодны для лечения пациентов с устойчивостью к ННИОТ первого поколения [37–39]. Тем не менее комбинации из трех и более мутаций приводят к резистентности и к ННИОТ второго поколения [40]. Для пациентов, не ответивших на терапию ETV, характерны мутации K103N, Y181C, G190A [41] в комбинации с 15 другими мутациями в гидрофобном кармане V90I, A98G, L100I, K101E/H/P, V106I, E138A, V179D/F/T, Y181I/V, G190S, M230L [37, 38] и мутацией N348I в соединительном субдоме р66 [42]. Для пациентов с сильной устойчивостью к RPV, характерны мутации K101P, Y181I/V [41] в комбинации с 14 другими мутациями L100I, K101E, E138A/G/K/Q/R, V179L, Y181C, Y188L, H221Y, F227C, and M230I/L [43–45]. В отличие от ETV RPV устойчив к мутации в соединительном субдоме N348I [31].

Высокая активность ННИОТ в сочетании с низкой токсичностью делает этот класс ингибиторов весьма перспективным как для дальнейших поисков новых соединений [46], совершенствования способа применения уже одобренных препаратов в виде отдельного вещества [47], в составе коктейлей ингибиторов [48] и препаратов, предотвращающих заражением ВИЧ [49].

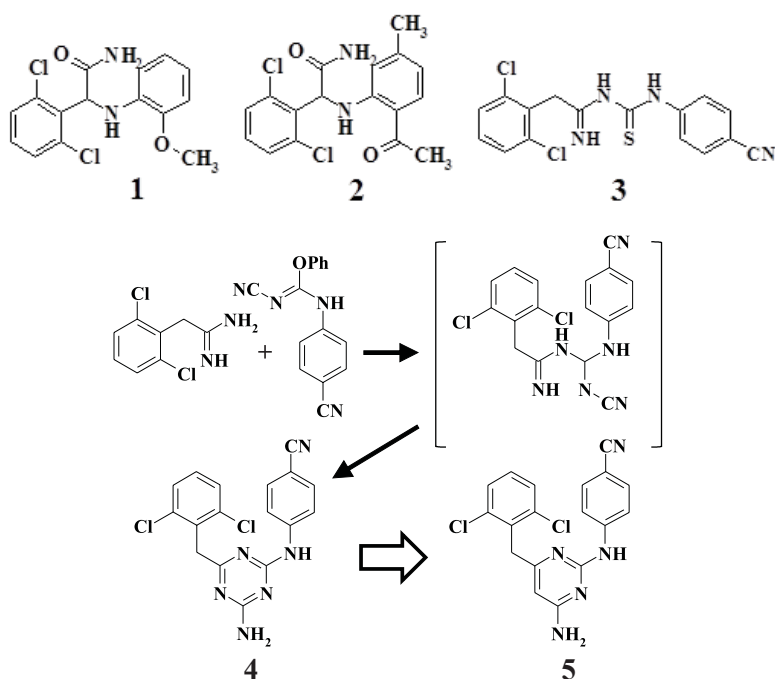
II. ННИОТ НА ОСНОВЕ ДИАРИЛЗАМЕЩЕННЫХ ПИРИМИДИНОВ (DAPY)

В 2008 и 2011 годах было одобрено 2 ННИОТ ВИЧ второго поколения – Этравирин и Рилпивирин. Оба соединения относятся к классу диарилпиримидинов (DAPY). Главной особенностью соединений данного класса является их конформационная гибкость [50], что позволяет им успешнее «адаптироваться» к аминокислотным заменам внутри гидрофобного кармана, вызывающих резистентность к ННИОТ ВИЧ первого поколения.

Класс диаилпиримидинов появился в ходе исследований по выявлению ННИОТ ВИЧ среди анилинофенилацетамидов (α -АРА) [51], в ходе которых было обнаружено соединение R15345 (**1**, таблица 1), проявившее субмикромольную ингибирующую активность в отношении инфицированных ВИЧ клеток [52]. Работы по оптимизации R15345 привели к созданию другого ННИОТ ВИЧ – R89439 (Lodivide) (**2**), который хоть и был более активен, чем R15345 (**1**), однако был отвергнут в ходе клинических испытаний за отсутствием явных преимуществ перед ННИОТ ВИЧ первого поколения делавердина и невирапина. На основе R89439 (**2**) были созданы имидоил-тиомочевинные производные (ITU), наиболее активным из которых был R100943 (**3**) [53]. R100943 (**3**) также провалился в ходе клинических испытаний из-за гидролитической нестабильности имидоил-тиомочевинного фрагмента. Чтобы улучшить фармакокинетические свойства R100943 (**3**), тиокето-группа соединения была заменена на иминоциано-группу, что привело к неожиданной циклизации с получением диарилтриазина R106168 (**4**), обладавшего наномольной ингибирующей активностью в отношении ВИЧ дикого типа ($EC_{50}=0,0063$ мкМ [54]) и высоким генетическим барьером к резистентности (таблица 1) [55].

В дальнейшем, центральный триазиновый фрагмент был заменен пиримидиновым циклом [56], с выявлением соединения **5**, превосходившего R106168 (**4**) как в отношении активности на вирусе дикого типа, так и в отношении резистентных штаммов [39].

Таблица 1. Ингибирующая активность соединений 1-3 в отношении ВИЧ дикого типа и мутантных форм, устойчивых к ННИОТ [51, 52]



№ соединения	EC50* (мкМ)							
	WT	L100I	K101E	K103N	V106A	Y181C	Y188L	G190A
1	0,61	—	—	—	—	—	—	—
2	0,05	0,05	0,063	1,26	1	15,8	50,1	2,51
3	0,003	0,513	0,019	0,589	0,382	0,511	0,318	0,002
4	0,006	0,4	—	0,04	—	0,2	0,32	—
5	0,001	0,3	—	0,012	—	0,18	0,071	—
NVP	0,032	0,316	0,316	6,31	5,01	10	>100	7,94
DLV	0,063	2,51	0,158	2,51	1,59	2	1,26	0,063

* — испытания проводились на линии клеток MT-4.

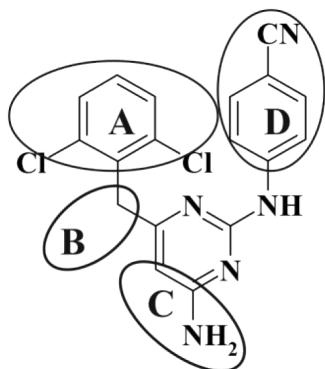


Рис. 4. Схема модификаций DAPY на основе соединения 5.

В ходе дальнейших исследований центральный триазиновый фрагмент был заменен пиримидиновым циклом [56]. Исследования трех изомеров диарилпиримидина (DAPY) и производного триазина, показали, что наиболее перспективным является соединение 5, обладающее не только наибольшей антивирусной активностью в отношении ОТ ВИЧ дикого типа, но и широким профилем резистентности (табл. 1) [39].

В ходе молекулярного моделирования соединения 5 [57], было предсказано образование аминогруппой между центральным пиримидиновым

циклом и 4-циано-бензольным фрагментом водородной связи с кислородом карбонильной группы основной цепи K101, что полностью подтвердилось при получении кристаллов ОТ ВИЧ с различными DAPY: TMC120 [39], этравирин [58] и рилпивирином [58, 59].

Для удобства дальнейшего повествования о модификациях различных фрагментов молекулы DAPY, они будут именоваться исходя из обозначений на рисунке 4.

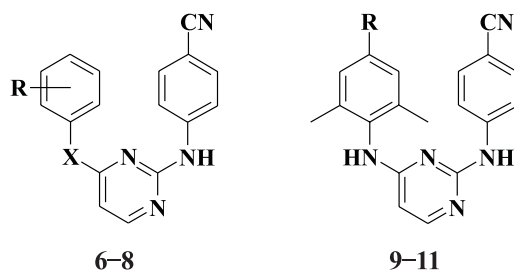
МОДИФИКАЦИЯ ФРАГМЕНТОВ А, В, С МОЛЕКУЛЫ DAPY

Замещение алкильного линкера между левым ароматическим циклом и центральным на кислорода, серу или аминогруппу [57] показало незначительное влияние природы заместителя на анти-ВИЧ активность соединений, как в отношении вируса дикого типа, так и в отношении резистентных мутантных штаммов.

Исследование влияния заместителей в левом ароматическом фрагменте молекулы позволило выявить закономерности, согласно которым наиболее активные DAPY должны содержать заместители в 2,4,6 – положениях левого ароматического фрагмента (табл. 2) [57].

Соединение 6 (R147681, TMC 120, дапивириин), разрабатывалось в качестве микробицида, [60, 61], имело парадоксально хорошую для столь гидрофобной молекулы биодоступность и даже дошло до III фазы клинических испытаний, по результатам которых было отвергнуто [62]. Соединения 7 и 8 стали основой для дальнейшего развития DAPY. Их важной особенностью является наличие цианогруппы в *para*-положении ароматического цикла. Согласно данным молекулярного моделирования аналогов соединения 7 [63] на основе

Таблица. 2. Ингибирующая активность соединений 6 -11 в отношении ОТ ВИЧ-1 дикого типа и мутантных форм [56, 57]



В-во	R	X	IC ₅₀ / EC ₅₀ * (нМ)						
			WT	L100I	K103N	Y181C	Y188L	L100I+ +K103N	K103N+ +Y181C
6	2,4,6-CH ₃	NH	1	18	4,3	7,5	48	>10000	44
7	2,6-CH ₃ ,4-CN	NH	0,4	34	1,9	7,1	7,8	1000	37
8	2,6-CH ₃ ,4-CN	O	1,1	73	2,7	37	19	800	94
9*	CH=CH-CN (E)	—	0,5	0,4	0,3	1,3	2	8	1
10*	CH=CH-CN (Z)	—	0,6	6,3	1,6	5	31	790	40
11*	CH ₂ -CH(CH ₃)-CN	—	0,6	1	0,6	2	5	12,5	5
NVP*			40	320	6300	10000	>10000	—	>10000
DLV*			63	2500	2500	2000	1300	—	>10000
EFV*			1	40	40	2	160	>10000	40

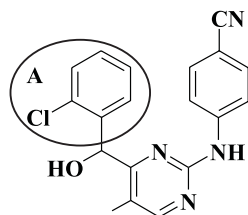
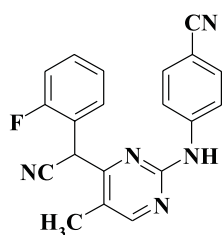
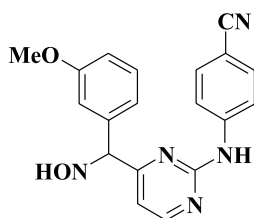
* – испытания проводились на линии клеток MT-4

данных рентгеноструктурного анализа кристаллов дапивирина (6) с ОТ ВИЧ [64], циано-группа в *para*-положении ароматического цикла должна была взаимодействовать с консервативным аминокислотным остатком W229, что очень ценно для борьбы с резистентными мутациями в связи с высокой изменчивостью ВИЧ. Для усиления связывания с W229 в работе [65] были получены аналоги соединения 7 с линкером между цианогруппой в *para*-положении и ароматическим фрагментом (табл. 2).

Наиболее активным оказались соединения 9 и 11, притом Z-изомер 10, как и предполагалось по результатам компьютерного моделирования, оказался менее активным за счет менее тесного взаимодействия циано-группы с W229. Индекс селективности соединения 9

превышал 60000, поэтому дальнейшие исследования были сосредоточены именно на нем [65]. Варьирование заместителей в *орто*-положении ароматического фрагмента А, а так же линкера между левым и центральными ароматическими фрагментами не выявили явных преимуществ у аналогов **9** [66]. Соединение **9** было запатентовано как ТМС-278 (Рилпивирин) [67] и по результатам клинических испытаний было одобрено FDA в качестве ННИОТ ВИЧ в 2011 году [68].

В попытке повышения ингибирующей активности соединения была выполнена замена аминогруппы между центральным и левым ароматическим циклами на гидроксиминовую [69].



Несмотря на высокую ингибирующую активность в отношении вируса дикого типа (для лидера $EC_{50} = 13$ нМ) данные соединения теряли в активности в несколько порядков в случае двойной мутации K103N+Y181C. Среди соединений, упомянутых в работе [69] стоит отдельно выделить соединение **12**, проявившее ингибирующую активность в отношении ВИЧ-2 ($EC_{50} = 8,3$ мкМ), что говорит о нескольких возможных механизмах действия на ВИЧ-1.

Аналогичная ситуация наблюдалась при добавлении в линкер циано-группы [70]. Соединение-лидер **13** ($EC_{50} = 1,8$ нМ) обладали ингибирующей активностью в наномолярном диапазоне в отношении вируса дикого типа, однако полностью теряли активность в случае двойной мутации K103N+Y181C.

Гидроксиметильные аналоги DAPY, как и гидроксиминовые производные показали несколько возможных механизмов ингибирования ВИЧ: высокую ингибирующую активность на вирусе дикого типа, серьезно

теряли в активности в отношении двойного мутанта K103N+Y181C и сохранение ингибирующей активности в отношении ВИЧ-2 [71].

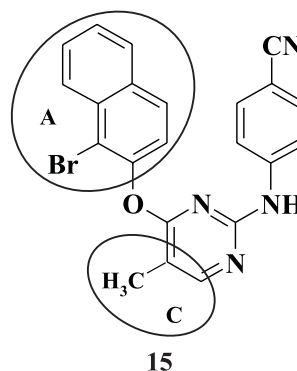
Для наиболее активного соединения **14** ($EC_{50} = 5$ нМ) было проведено детальное исследование оптических изомеров, в ходе которого было выявлено, что против ВИЧ-1 дикого типа более активен R-изомер, в то время как на двойной мутант K103N+Y181C и ВИЧ-2 сильнее действует S-изомер.

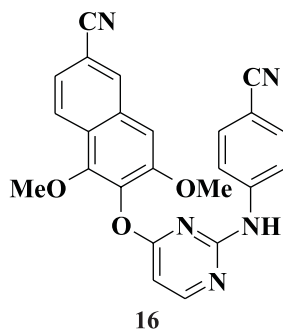
Компьютерное моделирование обоих изомеров позволило объяснить разницу в. У R-изомера **14** левый ароматический цикл А вступает в стекинг-взаимодействия с аминокислотами Y181, Y188 и W229 аналогично DAPY TMC-120 (**6**), кристалл которого [72] брался за основу. S-изомер **14** располагается в гидрофобном кармане фермента иначе, затрудняя стекинг взаимодействие фрагмента А и боковой группы Y181, что положительно сказывается на ингибирующей активности в случае мутации Y181C. [73].

Еще одним подходом к улучшению свойств DAPY является замена бензольного цикла во фрагменте А на нафтильный. Первыми работами в этом направлении стали исследования группы Чена [74, 75]. Изначально предполагалось, что замена бензольного цикла на нафтильный усилит стекинг-взаимодействие между ароматическим фрагментом ингибитора А и боковыми группами аминокислот Y181, Y188 и W229, характерных для наиболее перспективного DAPY TMC278 (**9**) [58].

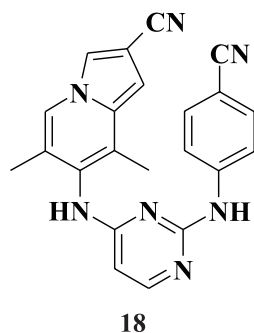
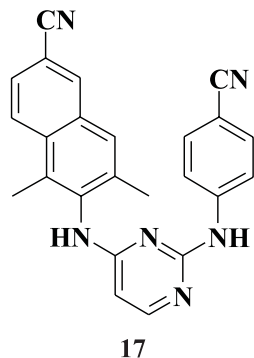
Повышение сродства DAPY к гидрофобному карману за счет замены бензольного фрагмента в положении А на 1- и 2-нафтильный привело к серии соединений, обладавших высокой активностью в отношении ВИЧ дикого типа и значительно терявших в активности в случае двойной мутации в ОТ K103N+Y181C [74]. Наиболее активное соединение **15** ($EC_{50}=8,4$ нМ) – показывало лишь умеренную активность в отношении двойного мутанта ($EC_{50}=4,5$ мкМ). Изменения в линкере между ароматическими фрагментами А и С успешно не увенчались. Замена кислорода на серу [74], введение циано [70] или гидроксиламино-группы [69] лишь уменьшало ингибирующую активность соединений, а так же негативно сказывалось на генетическом барьере к резистентности.

Компьютерное моделирование соединения нафтильных производных на основе кристалла рилпивирина (**9**) с ОТ ВИЧ [59] показало, что 2-нафтильные производное DAPY способны в стекинг взаимодействия с боковыми группами аминокислот Y181, Y188 и F227, но не взаимодействует с консервативной аминокислотой W229 как **9**, из-за чего наблюдается резкое падение активности в случае мутации Y181C [74].





На основе этих данных были созданы соединения с заместителями в 1 и 3 положении нафтильного фрагмента, показавшие субмикромольную активность в отношении мутанта K103N+Y181C (для соединения-лидера **16** $EC_{50} = 0,16$ мкМ) [76].



Согласно данным компьютерного моделирования введение циано-группы в 6 положении нафтильного фрагмента должно поспособствовать взаимодействию с консервативным остатком W229, как это наблюдалось в случае бензольных аналогов, что и было подтверждено в работе [75]. Соединения оказались значительно более устойчивы к двойной мутации OT K103N+Y181C, чем незамещенные аналоги соединения **15** [74].

Еще более активным и оказались соединения, в которых кислород в линкере между нафтильным и пиримидиновым циклами был заменен на аминогруппу [77]. Наиболее активное соединение **17** ($EC_{50} = 2,9$ нМ) показало ингибирующую активность в наномольном диапазоне против ВИЧ дикого типа, так и против резистентных к ННИОТ ВИЧ штаммов. Согласно данным рентгеноструктурного анализа нафтильная группа соединения взаимодействует с боковыми группами аминокислот Y181, Y188 и F227, как это ранее предполагалось в ходе компьютерного моделирования нафтильных аналогов [75]. Соединения с индолизиновым фрагментом, из которых наиболее активно оказалось **18** ($EC_{50} = 1$ нМ), показали более высокую активность в отношении ВИЧ дикого типа, чем нафтильные аналоги, но проигрывало последним в случае двойной мутации K103N+Y181C. Соединение **18** проигрывало нафтильному аналогу **17** и в растворимости (12,2 мкг/мл для **17** и 8,2 мкг/мл для **18**) [77].

В работе [78] была предпринята радикальная попытка заменить левый ароматический цикл циклогексильным фрагментом. Наиболее активное соединение **19** ($EC_{50} = 55$ нМ) хоть и проявило высокую активность в отношении ВИЧ-1 дикого типа, полностью теряло в активности в случае двойного мутанта K103N+Y181C.

Полученные данные полностью согласуются с результатами компьютерного моделирования, проведенных ранее [65, 75, 76], согласно которым ароматический цикл в положении **A** является жизненно необходимым для молекулы DAPY так как он способен вступать в стекинг взаимодействия с боковыми группами аминокислот Y181, Y188, F227, W229.

Заместители в пиримидиновом фрагменте способны внести существенный вклад в ингибирующую активность. На основе ННИОТ ВИЧ-1 **6–8** была получена серия галоген-замещенных соединений. Соединения, галоген-замещенные по пиримидиновому фрагменту, выигрывали в ингибирующей активности как в случае точечных мутаций, так и в случае двойных мутантов L100I+K103N и K103N+Y181C (табл. 3) [56]. Кроме того, аналоги рилпивирина (**9**) и дапивирина (**6**), содержащие фтор в пиримидиновом фрагменте обладали значительно меньшей цитотоксичностью, поэтому индекс селективности данных соединений достигал 42000 [80].

Высокий генетический барьер к резистентности вместе с высокой ингибирующей активностью позволил довести соединение **20** до клинических испытаний под названием TMC125 (этравирин), завершившиеся принятием TMC125 (**20**) FDA в 2008 году в качестве ННИОТ ВИЧ. Согласно данным клинических исследований TMC125 (**20**) достигал $EC_{50} < 100$ нМ в 98% образцов, 97% образцов в случае устойчивости к ННИОТ и $EC_{50} < 10$ нМ в 77% образцов с устойчивостью к ННИОТ [81]. Тем не менее у этравирин имелся серьезный недостаток в фармакокинетических характеристиках [82]: препарат требуется принимать 2 раза в день.

Большинство ННИОТ ВИЧ на основе DAPY обладают низкой растворимостью в воде, что осложняет их применение в клинической практике [39, 83, 84]. Для решения этой проблемы в работе [79] были предложены производные DAPY содержащие морфолин, присоединенный к пиримидиновому фрагменту молекулы ингибитора. Растворимость **43** – 27,3 мкг/мл, что превосходит растворимость DPV (**6**) в 180 раз. Тем не менее, снизилась и ингибирующая активность соединения, как в отношении ВИЧ дикого типа, так и штаммов, устойчивых к ННИОТ.

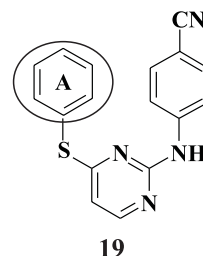
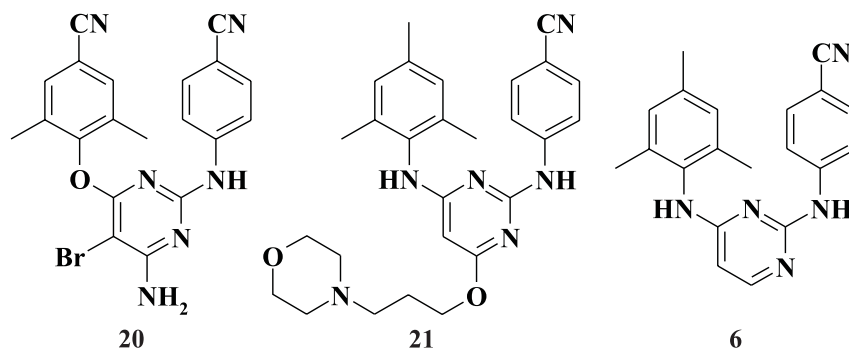


Таблица 3. Ингибирующая активность соединений **6**, **20**, **21** в отношении ОТ ВИЧ дикого типа и мутантных форм, устойчивых к ННИОТ [56, 79]

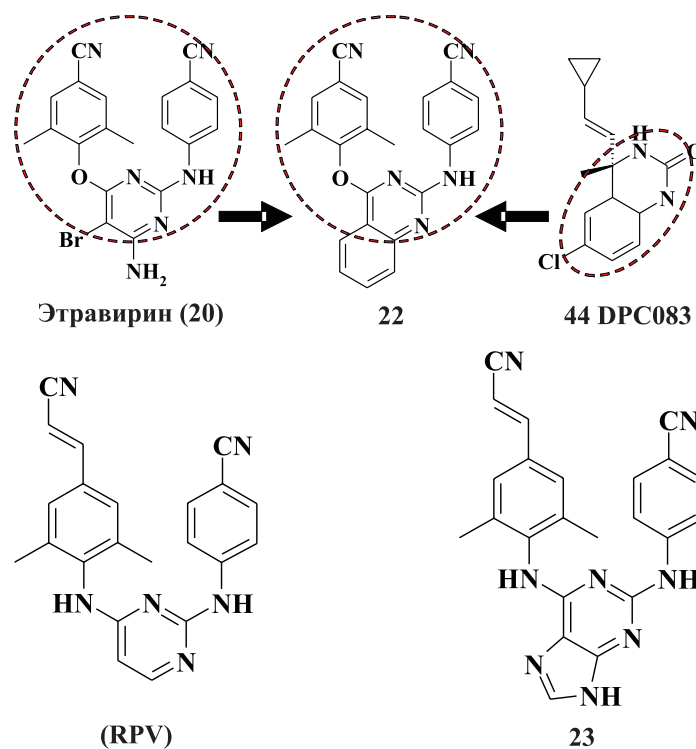


В-во	IC ₅₀ / EC ₅₀ * (мкМ)						
	WT	L100I	K103N	Y181C	Y188L	L100I +K103N	K103N +Y181C
6	0,001	0,018	0,0043	0,0075	0,048	>10	0,044
20	0,0014	0,0033	0,0012	0,007	0,0046	0,019	0,0043
21*	0,0086	—	—	0,48	—	—	0,038
NVP	0,032	0,32	6,3	10	>100	—	>100
DLV	0,063	2,5	2,5	2	1,3	—	20
EFV	0,001	0,04	0,04	0,002	0,16	>10	0,04

* – испытания проводились на линии клеток MT-2

Вместо введения заместителей в 5 и 6 положения пиримидинового фрагмента возможно введение жесткой структуры, что было реализовано в работе [85]. При создании новых перспективных ННИОТ ВИЧ был применен метод сочетания структурных мотивов, донорами которых выступили Этравирин (**20**) и DPC083 [87, 88]. Полученные соединения показали сильную ингибирующую активность в отношении ВИЧ-1 и высокий генетический барьер к резистентности (табл. 4) [85]. Высокая активность соединения-лидера – **22**, объясняется взаимодействием структуры с аминокислотами E138, V179, K101 и K103, что должно расширить генетический барьер [85]. Тем не менее, соединение **22** проигрывает в активности этравирину (**20**), структурный мотив которого брался за основу.

Таблица 4. Ингибирующая активность соединений 22, 23 в отношении ВИЧ дикого типа и мутантных форм, устойчивых к ННИОТ [85, 86]



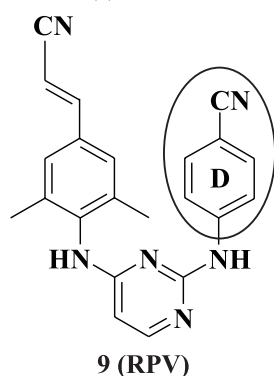
В-во	IC ₅₀ / EC ₅₀ * (нМ)							
	WT	L100I	L100I +K103N	K103N +Y181C	K101P +V179I	E138K +M184V	V106A +G190A +F227L	V106A +F227L +L234I
22*	2,3	18	—	56	—	—	—	—
23	0,56	—	0,45	—	2,5	0,44	0,98	3,4
9 (RPV)	0,24	—	2,3	—	94	0,2	0,5	0,21
EFV*	2,2	32	—	85	—	—	—	—

* — испытания проводились на линии клеток MT-4

Открытие высокоактивных ННИОТ ВИЧ, опубликованных в патенте [89], представляющих собой аналоги этравирина (ETV, **20**), в которых пиримидиновый фрагмент молекулы замещен пуриновым циклом, предопределили применение концепции модификации пиримидинового фрагмента для получения аналогов рилпивирина (RPV, **9**) [86]. Наиболее активные соединения имели субнаномольную активность в отношении ОТ ВИЧ дикого типа и целого ряда мутантов устойчивых к ННИОТ ВИЧ первого и второго поколения, а так же перспективного ННИОТ ВИЧ доравирина [90], находящегося на III фазе клинических испытаний. В ходе работы было выявлено соединение **23**, резистентный профиль которого оказался шире, чем у рилпивирина (**9**), поэтому оно сохранило высокую активность даже на двойном мутанте ОТ ВИЧ K101P+V179I, устойчивому к рилпивирину (табл. 4). С помощью компьютерного моделирования **23** внутри гидрофобного кармана ОТ ВИЧ-1 [86] на основе данных кристаллов комплекса рилпивирин с ОТ ВИЧ [58, 59]. было показано, что более объёмный пуриновый цикл вызывает смещение циановинильного и бензонитрильного фрагментов вглубь гидрофобного кармана на 0,5 Å и 1 Å соответственно. За счет смещения всех трех ароматических циклов молекулы двойная мутация K101P+Y179I не создает стерических затруднений для **23**, вызывающих потерю сродства рилпивирин к гидрофобному карману ОТ ВИЧ. Высокая активность **23** в отношении всех мутантных форм ОТ ВИЧ позволяет отнести данное соединение к перспективным ННИОТ ВИЧ третьего поколения.

МОДИФИКАЦИИ В ФРАГМЕНТЕ D МОЛЕКУЛЫ DAPY.

Согласно данным рентгеноструктурного анализа кристаллов этравирин (**20**) и рилпивирин (**9**) с ОТ ВИЧ-1 циано-группа в орто-положении ароматического фрагмента D вступает в диполь-дипольное взаимодействие с основной цепью H235 [58]. В работе [57] показано,



что ее замена на хлор или амид крайне негативно сказывается не только на активности соединений, но и на генетическом барьере к резистентности.

Тем не менее, успешными модификациями правого ароматического фрагмента D и линкера между ним и пиримидиновым циклом оказались возможными. Из рентгеноструктурных исследований кристаллов этравирин с ОТ ВИЧ-1 [58] следует, что аминогруппа между центральным и правым ароматическим циклом этравирин образует

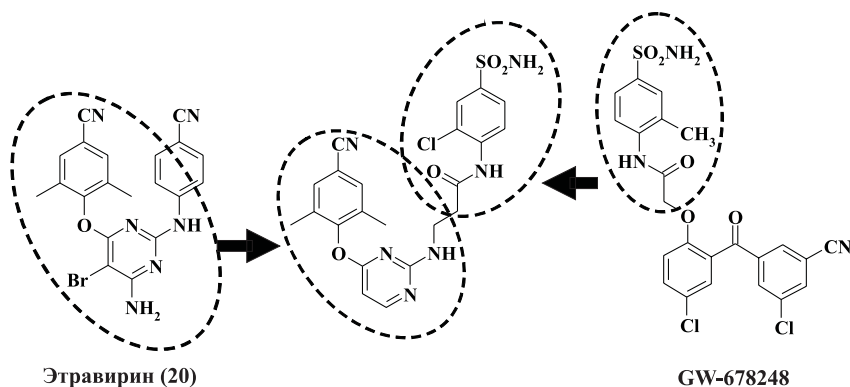


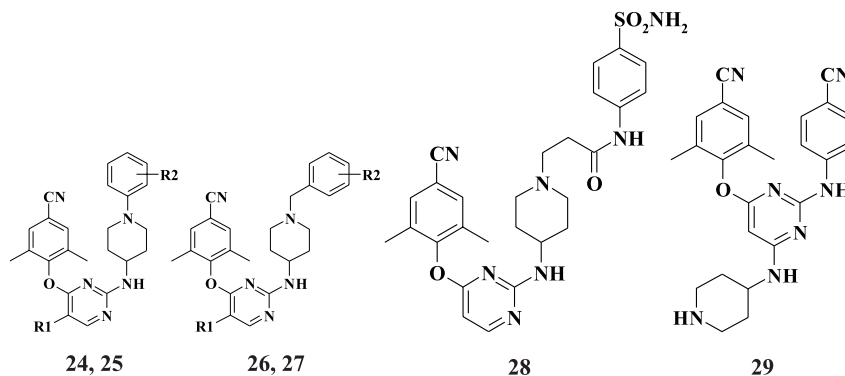
Рис. 5. Стратегия создания высокоактивного ННИОТ с помощью комбинирования структурных мотивов GW678248 и этравирина (20).

водородную связь с основной цепью K101. Усиление взаимодействий линкера с аминокислотами гидрофобного кармана за счет образования новых водородных связей пытались добиться в работе [33], заменив линкер и правый ароматический цикл на фрагмент другого хорошо известного ингибитора ОТ ВИЧ, дошедшего до клинических испытаний – GW678248. Для GW678248 были получены кристаллы с ОТ ВИЧ-1, в которых было показано что амидный фрагмент образует водородную связь с K103 и взаимодействует с остатками на выходе из гидрофобного кармана – P236 и V106 [91]. Сочетанием структурных мотивов обеих молекул (рис. 5) было получено вещество **55**, проявившее умеренную активность в отношении ОТ ВИЧ дикого типа ($IC_{50} = 0,9$ мкМ) и резко терявшее ингибирующую активность в случае мутаций гидрофобного кармана фермента, характерных для резистентных форм ОТ ВИЧ-1 с устойчивостью к ННИОТ ВИЧ-1 первого поколения. Это послужило основанием для замены амидного линкера на пипиридинметиленовый фрагмент [33].

Наиболее активное соединение **24** превзошло ННИОТ второго поколения этравирин как в случае ОТ с мутацией Y188L, так и в отношении часто встречающейся двойной мутации K103N+Y181C. В связи с важным вкладом в растворимость соединения сульфоаминогруппы весьма перспективным является соединение **25**. Соединение **25** имело высокий генетический барьер к резистентности, сопоставимый с ННИОТ ВИЧ второго поколения этравирин [33] (табл.5).

Вторым подклассом соединений, полученных на основе соединения **55** являются пипиридиновые производные (табл. 5). В ходе

Таблица 5. Ингибирующая активность пипиридиновых производных DAPY в отношении ВИЧ дикого типа и мутантных форм, устойчивых к ННИОТ [33, 92, 93, 94]



В-во	R1	R2	EC ₅₀ * (нМ)				
			WT	V106A	Y188L	L100I+K103N	K103N+Y181C
24	Br	2-Cl,4-SO ₂ CH ₃	6,1	5,7	2,8	5,9	7,3
25	Br	2-Cl,4-SO ₂ NH ₂	9,9	2	3,2	9,1	19
26**	H	4-SO ₂ NH ₂	24	-	>1000	-	>1000
27	CH ₃	3-CONH ₂	1,1	0,6	<1	6,7	3,8
28			38	-	-	-	950
29			1,9	-	-	-	>1000
EFV			1,8	5,7	>500	>500	83
ETV (20)			2	2	3	9,5	9,2

* – испытания проводились на линии клеток MT-4,

** – указаны значения IC₅₀ (нМ).

работ по оптимизации соединения **61** было выявлено, что в отличие от N-бензил пипиридинов (**24**, **25**), заместитель в *мета*-положении бензольного цикла во фрагмента D является более предпочтительным, чем заместитель в *пара*-положении (**26** и **27**). На основе соединения **27** был получен ряд высокоактивных ингибиторов ОТ ВИЧ, наиболее активные из которых превосходили в ингибирующей активности ННИОТ ВИЧ второго поколения этравирин и также имели высокий генетический барьер к резистентности [92].

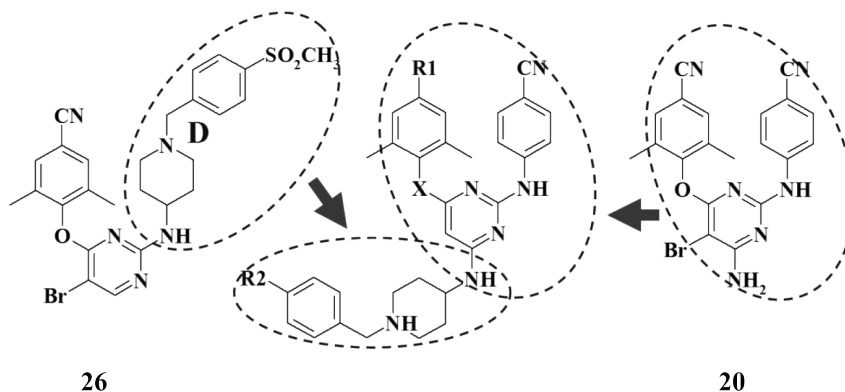


Рис. 6. Стратегия создания высокоактивного ННИОТ с помощью комбинирования структурных мотивов **26** и этравирина (**20**).

Были получены кристаллы соединений **24** [33] и **26** [92] с ОТ ВИЧ дикого типа. Результаты рентгеноструктурного анализа показали схожее расположение обоих соединений внутри гидрофобного кармана [92]: ароматический фрагмент в положении D расположен вблизи «выхода» из гидрофобного кармана и взаимодействует с R236, а то время как полярный заместитель образует водородную связь с основной цепью V106; пипиридиновый фрагмент взаимодействует с K103, а аминогруппа между ним и центральным ароматическим циклом образует водородную связь с основной цепью K101. Важным открытием было обнаружение взаимодействия между ароматическим фрагментом А и консервативной аминокислоты W229 [92]. По всей видимости, именно это взаимодействие и обеспечивает данному подклассу соединений высокий генетический барьер к резистентности, чего ранее удавалось добиться лишь для рилпивирина (**9**), также взаимодействующего с W229 [58].

Высокий генетический барьер пипиридиновых производных DAPY подтолкнул к идее создания нового поколения ННИОТ ВИЧ, способных занимать несколько различных положений в гидрофобном кармане ОТ ВИЧ за счет многочисленных взаимодействий различных фрагментов молекулы ингибитора с аминокислотами кармана, что позволит легче адаптироваться в кармане в случае возникновения мутаций и успешно их обойти, сохраняя высокую ингибирующую активность [93]. В качестве решения данной задачи был выбран метод комбинирования структурных мотивов соединения **24** и этравирина (**20**) (рис. 6).

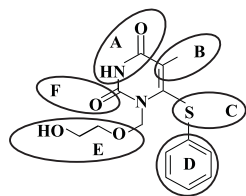
Попытка оказалось неудачной, так как ингибирующая активность нового подкласса пипиридин-замещенных DAPY оказалась ниже

их исходных аналогов (**24**, **25**) и этравирина (**20**) (табл.а 5). В отношении часто встеречающего в клинической практике двойного мутанта K103N+Y181C практически все соединения в значительной степени теряли в активности или же были вовсе не активны. Тем не менее авторы считают концепцию перспективной и предполагают ее дальнейшее развитие на основе производных соединения **28**, продемонстрировавшего наибольшую активность в отношении двойного мутанта K103N+Y181C [93].

В работе [94] была применена концепция совмещения структурных мотивов пипиридиновых производных DAPY и VRX-480773, с целью повысить сродство пипиридин-замещенных DAPY к гидрофобному карману за счет образования дополнительных взаимодействий в пипиридиновом фрагменте молекулы, в частности с консервативным остатком L234. Соединения проявили высокую ингибирующую активность вплоть до наномолярного диапазона концентраций. Наиболее активными оказались соединения с гидрофильным заместителем в 4-положении дистального бензольного кольца (**29**), хотя введение гидроксильной группы в *para*-положение также имело положительный эффект на ингибирующую активность. Стоит отметить, что соединение с атомом фтора в *ortho*-положении дистального бензольного кольца хоть и было менее активно, чем соединения с заместителями в *para*-положении, но обладало очень низкой цитотоксичность, благодаря чему его индекс селективности превысил 16000. Недостатками всех соединений этой серии являлась полная потеря ингибирующей активности в случае двойной мутации в ОТ ВИЧ K103N+Y181C.

III. ННИОТ ВИЧ-1 НА ОСНОВЕ 1-[(2-ГИДРОКСИЭТОКСИ)МЕТИЛ]-6-(ФЕНИЛТИО)ТИМИНА (НЕРТ).

Вторым обширным классом ННИОТ на основе пиримидинов являются производные 1-[(2-гидроксиэтокс)метил]-6-(фенилтио)тимина (**30**, НЕРТ). НЕРТ ($EC_{50}=7$ мкМ) был открыт в 1989 году на заре антиретровирусной терапии ВИЧ [95]. С тех пор на его основе было получено множество высокоактивных соединений, что позволяет его считать одним из самых популярных и обширных классов ННИОТ [96].



30 (НЕРТ)

Структурно можно разделить молекулу НЕРТ (**30**) на 6 элементов, вокруг модификаций которых были сосредоточены исследования по созданию высокоактивных ННИОТ.

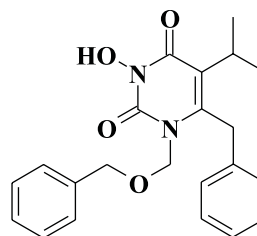
Положения N-3 и C-4 являются консервативными в структуре молекулы НЕРТ, так как водород в N-3 положении образует водородную связь с основной цепью аминокислоты K101, а кислород в положении C-4 образует водородные связи с основной цепью E138 и боковой цепью K101. [97, 98] Необходимость отсутствия заместителей в положении C-4 была экспериментально подтверждена в работе [99]: введение различных заместителей по данному положению приводило к уменьшению ингибирующей активности в отношении ОТ ВИЧ.

Алкилирование [99] и введение аминогруппы [100] в N-3 положение приводило к полной потере ингибирующей активности, а гидроксילирование, наоборот, имело положительный эффект, что по всей видимости связано с сохранением водородной связи между гидроксильной группой в N-3 положении ингибитора и основной цепью K101 [100]. Более того, соединение **31** было активно и в отношении интегразы ВИЧ, что стало отправной точкой для создания ингибитора ВИЧ двойного действия [100–102].

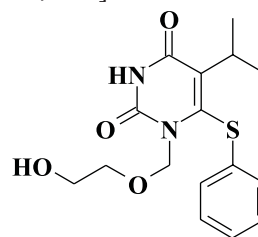
Достаточно консервативным является и наличие кислорода в C-2 положении производных НЕРТ. Согласно данным рентгеноструктурного анализа кристаллов производных НЕРТ с ОТ ВИЧ [97] кислород в C-2 положении пиримидинового цикла образует водородную связь с гидроксильной группой Y318. Замена кислорода на атом серы в C-2 положении пиримидина не привела к явному росту ингибирующей активности как в отношении ВИЧ дикого типа, так и в отношении резистентных к ННИОТ ВИЧ штаммов с мутациями L100I, K103N, V106A, Y181C, Y181I, Y188H [103, 104].

Добиться повышения ингибирующей активности производных НЕРТ удалось за счет введения алкильных заместителей в C-5 положение молекулы. Оптимальным в положении C-5 являлся изопропильный заместитель (**32**, $EC_{50}=0,063$ мкМ) [105].

Ингибирующая активность возрастает в ряду $Pr < Me < Et < i-Pr$, притом схожая зависимость наблюдалась для многих аналогов НЕРТ, содержащих в линкере между ароматическими фрагментами атом серы [106], селена [107], метиленовый фрагмент [103, 108] или кето-группу [109].

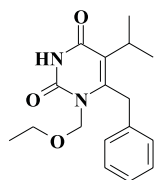


31



32

В ходе исследования производных НЕРТ с различным алкильными заместителями в С-5 положении было выявлено соединение **33** ($EC_{50} = 0,008$ мкМ), дошедшее до 3 стадии клинических испытаний под названием эмивирин (МКС-442) [110]. **33** стало одним из первых клинически значимых ННИОТ. Для него был отмечен синергетический эффект с НИОТ азидотимидином (AZT) [111] и способность активировать цитохром Р450, участвующий в метаболизме ингибиторов протеазы ВИЧ [112].

**33**

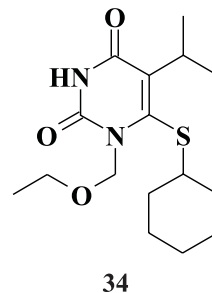
К сожалению, в связи с быстрой выработкой ВИЧ резистентности к соединению **33** за счет мутации Y181C [110] (которая часто встречается у пациентов с устойчивостью к другим ННИОТ первого поколения невирапину и делавердину) клинические испытания были прекращены из-за финансовой нецелесообразности после выхода на рынок эфавиренца.

Объяснить высокую активность производных НЕРТ с изопропильным заместителем в положении С-5 удалось с помощью рентгеноструктурного анализа кристаллов ННИОТ с ОТ ВИЧ [97, 98].

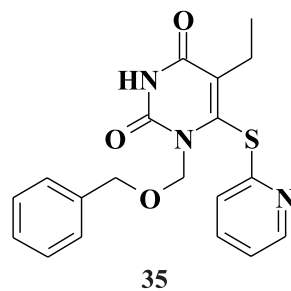
Изопропильный фрагмент молекулы ингибитора находится в окружении гидрофобных аминокислотных остатков V106, V179, Y181, Y188, V189 и G190, плотно занимая данный участок гидрофобного кармана ОТ ВИЧ и, активно взаимодействуя с Y181. Объемный изопропильный фрагмент вызывает изменения положения боковой группы Y181, за счет усиливается стекинг-взаимодействия последней с бензольным циклом молекулы [97]. Размеров метильной и этильной группы в положении С-5 недостаточно для подобной конформационной перестройки [106, 107]. Введение же более объемных заместителей в положение С-5, таких как фенилтио-, бензольная, бензоильная, винильная или дифенилвинильная группы приводит к падению ингибирующей активности соединений в отношении ОТ ВИЧ и резкому росту [113]. Введение галогенов в положение С-5 также приводило к резкому падению активности [102, 114].

Еще одним консервативных элементом соединений семейства НЕРТ является ароматический цикл в положении С-6 пиримидинового цикла. Ароматический цикл, согласно данным рентгеноструктурного анализа кристаллов ННИОТ с ОТ ВИЧ вступает в стекинг взаимодействие с Y181 или Y188 [98]. Замена бензольного фрагмента на алкенильный или циклогексенильный, которые также сохраняют возможность взаимодействия с π -системами боковых групп ароматических аминокислот кармана успехом не увенчалась: все соединения были менее активны своих ароматических аналогов [115].

Стекинг взаимодействие бензольного фрагмента молекулы с Y181 является и слабой чертой данного класса соединений, за счет быстро вырабатываемой мутации Y181C. В работе [98] была предпринята попытка обойти эту проблему, отказавшись от ароматики в дистальном цикле за счет введения циклогексильного фрагмента (**34**, $EC_{50} = 3$ нМ). Были получены кристаллы ННИОТ с ОТ ВИЧ для соединений **33** и **34**, согласно которым соединения располагаются в гидрофобном кармане по-разному. Циклогексильный фрагмент соединения **34** взаимодействует с высококонсервативным W229, в отличие от ароматического фрагмента соединения **33**, расположенному вблизи Y188 и Y181. В свою очередь это привело к тому, что соединение **34** было устойчиво к аминокислотной замене Y181C.

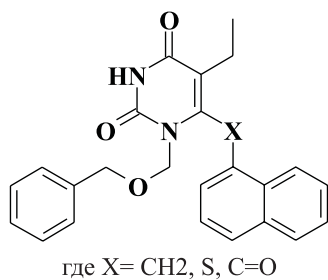


Существуют и другие работы, в которых удалось преодолеть негативный эффект аминокислотной замены Y181C на активность ННИОТ на основе НЕРТ. Их можно условно разделить на две группы: связанные с заменой бензольного фрагмента другой ароматической системой [116–121] и связанные с введением заместителей в бензольный цикл [114, 116].



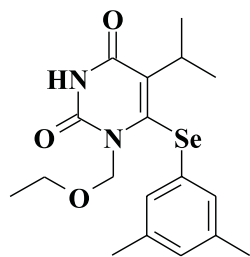
Замена бензольного цикла на пиридиновый, привело к сохранению высокой ингибирующей активности соединений [116]. Исследование ингибирующей активности в отношении мутантных форм ВИЧ, устойчивых к действию ННИОТ выявило падение активности соединения-лидера **35** более чем в 50 раз в случае аминокислотных замен Y181C и P236L, и полную потерю активности в случае двойной мутации K103N/Y181C [117].

На основе компьютерного моделирования и данных рентгеноструктурного анализа НЕРТ (**30**) с ОТ ВИЧ [118] было выявлено, что бензольный фрагмент занимает далеко не весь свободный объем, что допускает его замену на нафтильный цикл для усиления взаимодействия с Y181, Y188, F227 и W229. Среди серии нафтильных производных НЕРТ [119–121] были выяв-



36–38

Помимо замены бензольного дистального фрагмента в С-6 положении пиримидина [116–121], увеличения ингибирующей активности соединений в отношении ОТ ВИЧ удалось добиться и за счет введения заместителей в *мета*-положения бензольного фрагмента в различных аналогах НЕРТ, содержащих в линкере С атомы серы [122], селена [107] или метиленовый фрагмент [108].



39

лены соединения с субмикромольной ингибирующей активностью притом нафтилметил-производные (36) оказались активнее нафтилтио- (37) или нафтоил- (38) производных, а ингибирующая активность α -нафтил- производных в отношении ВИЧ дикого типа оказалась выше чем β -нафтил производных НЕРТ [119–121].

Соединение 39 показало высокую активность в отношении ВИЧ дикого типа ($EC_{50} = 4,7$ нМ), мутантных форм вируса, устойчивых к ННИОТ, а также было малотоксичным за счет чего имело высокий индекс селективности ($SI = 52500$), поэтому было направлено на доклинические испытания [107].

Рентгеноструктурные исследования кристаллов ОТ ВИЧ с ННИОТ на основе НЕРТ, содержащими заместители в *мета*-положении бензольного кольца, позволили объяснить сохранение высокой ингибирующей активности соединений в случае мутаций Y181C и Y188C [98]. Заместители в *мета*-положении ароматического цикла **D** глубже погружены в гидрофобный карман, где образуют вандерваальсовские связи с боковой группой консервативной аминокислоты W229, что позволяет компенсировать утрату взаимодействий с Y181 и Y188 в случае мутации последних. Заместители в *орто*- и *пара*-положении бензольного фрагмента, наоборот негативно сказываются на активности так как стерически затрудняют взаимодействие молекулы ингибитора с гидрофобным карманом фермента, что согласуется с результатами QSAR исследований аналогов НЕРТ [123–125].

Положительное влияние заместителей в *мета*-положении бензольного кольца позволило создать высокоактивный ННИОТ ВИЧ GCA-186 (40) [122]. Для этого в *мета*-положения бензольного

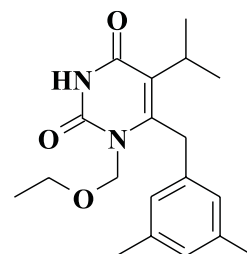
фрагмента ранее изученного ингибитора, дошедшего до клинических испытаний – эми-вирина (МКС-442) (**33**) [110] были введены две метильные группы. Соединения обладали высокой ингибирующей активностью и широким профилем резистентности [98].

В дальнейшем были синтезированы многочисленные аналоги соединения **40** с линейным заместителем в положении N-1 [103]. Наиболее перспективные соединения обладали наномолярной ингибирующей активностью в отношении ВИЧ дикого типа и обладали высоким генетическим барьером к резистентности. Для многих аналогов **40** относительно редко встречающиеся в клинической практике мутации Y181I и Y188H приводили к резкому падению ингибирующей активности соединений.

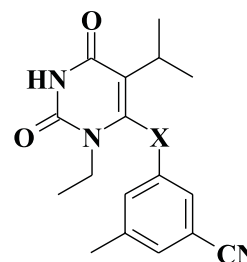
Тем не менее, в ходе доклинических испытаний соединений **40** и его аналогов, было обнаружено, что соединения с метильными группами в *мета*-положении бензольного кольца активно метаболизируются цитохромом P450 [126]. Для повышения стабильности соединений были получены аналоги **40** с хлор [126] и фтор [127] и трифторметильными [127] заместителями в *мета*-положении бензольного фрагмента. Полученные аналоги резко теряли ингибирующую активность в случае мутации Y181C, что делало всю идею бессмысленной.

Более перспективной оказалась замена одной из метильных групп в *мета*-положении бензольного кольца на циано-группу. Соединения обладали высокой активностью против дикого штамма ВИЧ и сохраняли активность в случае мутации Y181C. Наиболее активными оказались соединения с кето- (**41**, $EC_{50} = 6,1$ нМ) или дифторметило- (**42**, $EC_{50} = 4,2$ нМ) группой в линкере между пиримидиновым и бензольными циклами, но эти соединения оказались метаболически нестабильными. Главным же недостатком всей серии соединений оказалась их растворимость, вследствие чего их биодоступность также оказалась невелика [109].

Наибольшее число изменений в ходе создания высокоактивных производных НЕРТ (**30**) было внесено в структуру заместителя в N-1 положении пиримидина. Разветвление заместителя в N-1 положении пиримидина крайне негативно сказывалось на ингибирующей активности в отношении ВИЧ-1 дикого типа [128], а введение серы вместо



40 (GCA-186)



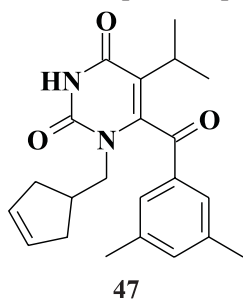
где X = C=O, Cf2

41, 42

кислорода в структуру линкера привело к незначительному увеличению активности, но резкому росту цитотоксичности [108, 128]. Были созданы и соединения с алкильным заместителем в N-1 положении пиримидина, но все они проигрывали в активности этоксиметил-аналогам [104, 108].

К идее введения алкильного фрагмента N-1 положение пиримидина вернулись в 2010 году после обнаружения высокоактивных соединений с метильными заместителями в *мета*-положении бензольного кольца [109].

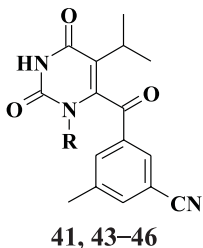
Увеличение ингибирующей активности соединений коррелировало с увеличением длины алкильного фрагмента, однако тестирование соединений на штаммах ВИЧ с аминокислотными заменами K103N и Y181C в ОТ ВИЧ выявило, что активны лишь соединения с этильным и бутильным заместителями (табл. 6) [109]. Прояснить причину низкой активности соединения **45**, содержащего пропильный заместитель помог рентгеноструктурный анализ комплексов соединений с ОТ ВИЧ. Выяснилось, что соединения **41** и **46** занимают различные положения в гидрофобном кармане: пропильная группа соединения **45** взаимодействует с Y181, поэтому мутация данной аминокислоты приводит к резкому падению активности. Этильная группа слабее взаимодействует с Y181, поэтому ее замена не так критична для данного соединения, а бутильная группа соединения **46** вообще не взаимодействует с Y181C за счет иного расположения ингибитора в гидрофобном кармане ОТ ВИЧ [109].



В ходе широкомасштабного скрининга соединения в 2001 было обнаружено соединение **47** ($EC_{50} = 0,9$ нМ), содержащее циклопентенильный фрагмент в N-1 положении молекулы [129]. Соединение **47** теряло в активности в случае мутаций K101E, K103N, Y188C и полностью теряло ингибирующую активность в отношении ОТ ВИЧ-1 в случае двойной мутации K103N+Y181C. У соединения **47** был обнаружен и второй механизм действия, соединения являлось ингибирование слияния вируса с клеткой, поэтому оно было активно и в отношении ВИЧ-2 [129].

На основе соединения **47** была создана обширная серия соединений с циклопропилметильным, циклобутилметильным, циклогексилметильным, 1- и 3-циклопентенметильным заместителями, а также соединения с удлиненным линкером между пиримидиновым фрагментом и неароматическим циклом, представленным из цикло-

Таблица 6. Ингибирующая активность алкилзамещенных пиримидинов в отношении ВИЧ дикого типа и мутантных форм, устойчивых к ННИОТ [109]

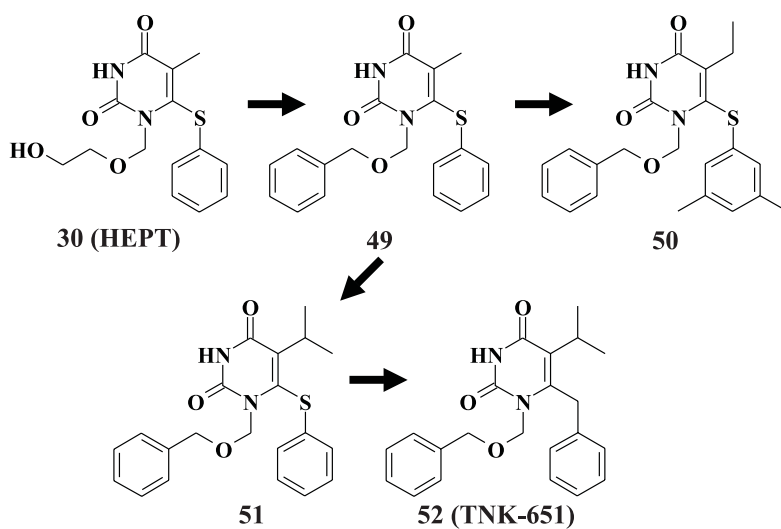
 41, 43–46	B-во	R	EC ₅₀ (мкМ)*		
			WT	K103N	Y181C
	43	H	>0,5	>0,5	>0,5
	44	Me	0,187	>0,5	>0,5
	41	Et	0,0061	0,058	0,039
	45	<i>n</i> -Pr	0,0036	>0,2	>0,2
	46	<i>n</i> -Bu	0,003	0,036	0,03
	EFV		0,0011	0,0029	0,039
	ETV		0,0016	0,004	0,0014

* – испытания проводились на линии клеток MT-2

пентильным или 1-, 2-, 3-циклопентенильным заместителем [130]. Среди нескольких десятков соединений этой серии не удалось проследить четкой закономерности между ингибирующей активностью в отношении ВИЧ-1 и структурой циклоалкильного фрагмента в N-1 положении пиримидинового цикла. При изменении типа линкера между пиримидиновым циклом и бензольным в С-6 положении активность проявляли соединения и с трех-, четырех- и пятичленным циклом. Наиболее перспективным соединением данной серии производных НЕРТ является соединение **48**, так как оно имело низкую цитотоксичность и индекс селективности, превышающий 2,5 млн [130]. Как и для соединения **47**, для всех соединений был отмечен второй механизм ингибирования ВИЧ-1, направленный на подавление связывания вириона с рецепторами [129, 130].

Весьма эффективным способом повысить активность производных НЕРТ оказалось введение третьего ароматического цикла в N-1 положение пиримидина (**49**) [131]. Соединение **49** обладало субмикромольной активностью (табл. 7), что в комбинации с эффективными заместителями по С-5 и С-6 положениям пиримидина привело к получению ННИОТ ВИЧ с наномольной ингибирующей активностью в отношении ВИЧ дикого типа. (**50, 51**) [104]. Модификацией линкера между пиримидиновым циклом и бензольным фрагментом в положении С-6 было получено соединение **52**, дошедшее до клинических испытаний по названию TNK-651 [96, 97].

Таблица 7. Сравнение ингибирующей активности соединений 49-52 с НЕРТ в отношении ВИЧ дикого типа [97, 104, 131]



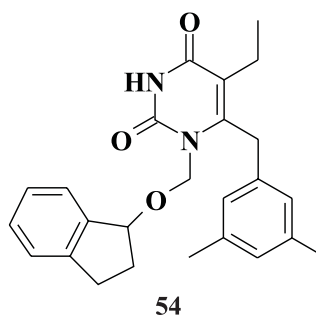
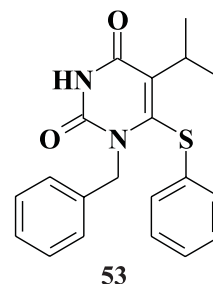
В-во	EC ₅₀ (мкМ)* WT
49	0,088
50	0,0032
51	0,0027
52	0,004
НЕРТ (30)	7

В работе [132] в была исследованы две концепции, связанные с модификацией заместителя в N-1 положении производных НЕРТ: замена бензольного кольца на алкенильный фрагмент, что позволило бы сохранить стекинг-взаимодействия с ароматическими аминокислотами гидрофобного кармана ОТ ВИЧ и введение алкенильного фрагмента в линкер между пиримидиновым фрагментом и фенильным заместителем в N-1 положении. Соединения обладали высокой активностью в отношении ВИЧ дикого типа, но резко теряли активность в случае мутаций Y181C и K103N+Y181.

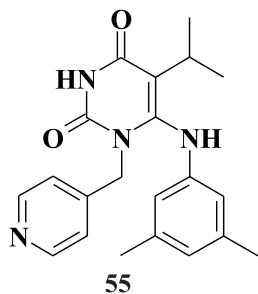
Данные рентгеноструктурного анализа комплекса ОТ ВИЧ с TNK-651 (**52**) [97] и QSAR исследования [118, 133] позволили объяснить высокую активность соединений с фенильным заместителем в N-1 положении. Протяженный заместитель в N-1 положении располагается вблизи входа в гидрофобный карман фермента, образованный аминокислотами V106, P225, F227, P236. Кислород в составе линкера между фенильным фрагментом в N-1 положении и пиримидиновым циклом образует водородную связь с боковой группой Y318, располагающейся вблизи «входа» в гидрофобный карман ОТ ВИЧ [97, 98]. Фенильный фрагмент в N-1 положении **52** взаимодействует с P236, притом остаток пролина способен менять свое положение в кармане в интервале 5 Å [97], что позволяет вводить в N-1 положение и более объемные заместители. Тем не менее, для соединений семейства ВНАР [134] мутация P236L приводила к резкой потере ингибирующей активности, чего нельзя исключить и для аналогов **52**.

Протяженный линкер в между пиримидиновым циклом и заместителем N-1 положении не является обязательным условием высокой активности ингибиторов с фенильным заместителем. Помимо циклоалкильных заместителей, были созданы и соединения с фенильным заместителем (соединение лидер – **53**, $EC_{50} = 1,2$ нМ). Данные соединения проигрывали своим аналогам с циклобутильным заместителем в положении N-1, но сохранили ингибирующую активность в субмикромольном диапазоне и второй механизм ингибирования ВИЧ, связанный с проникновением вируса в клетку [135], а так же были менее токсичными. Высокое сродство ингибитора к гидрофобному карману ОТ ВИЧ достигалось за счет образования взаимодействия с Y318 [130].

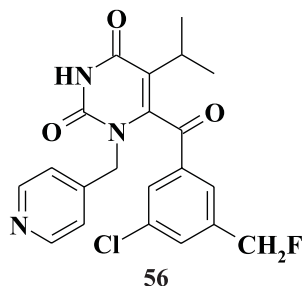
Основываясь на данных кристаллографических исследований комплекса TNK-651 (**52**) с ОТ ВИЧ [97], в N-1 положение пиримидинового фрагмента был введен более объемный инданилоксиметильный заместитель [136]. Среди серии соединений было выявлено вещество **54**, обладавшее субнанолярной ингибирующей активностью в отношении ВИЧ-1 дикого типа



($EC_{50} = 0,4 \text{ нМ}$). Однако соединение **54** сильно теряло в активности в случае мутации в ОТ ВИЧ Y181C, часто встречающейся у пациентов с устойчивостью к ННИОТ ВИЧ ($EC_{50_{Y181C}} = 1 \text{ мкМ}$).



Аналог **55** с тиофенильным фрагментом в С-6 положении пиримидина был более активен, но и более токсичен [141].



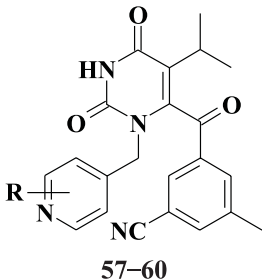
Существуют ННИОТ на основе НЕРТ с пиридиновым циклом в N-1 положении пиримидина [103, 137–140]. Одно из таких соединений (**55**) было обнаружено в ходе исследований 6-фениламинопроизводных НЕРТ [138]. Соединение **55** обладало субмикромольной активностью в отношении ВИЧ-1 дикого типа ($EC_{50} = 0,08 \text{ мкМ}$), хотя многие его аналоги с пиридиновым фрагментом имели низкую ингибирующую активность.

Высокую ингибирующую активность показали аналоги **55** с кето-группой в линкере между пиримидиновым и бензольным фрагментом. Ингибирующая активность соединения-лидера **56** в отношении ВИЧ-1 дикого типа была сопоставима с тиофенильными аналогом **55**, но цитотоксичность была заметно меньше, благодаря чему индексы селективности соединения превышал 40000 [141].

Дальнейшая модификация aromatic групп в N-1 и C-6 положений соединений, содержащих кето-группу в линкере между пиримидиновым и бензольным фрагментом привела к обнаружения соединения **57**, ингибирующего как ВИЧ-1 дикого типа, так и резистентные к ННИОТ мутантные штаммы вируса, в наномольном диапазоне концентраций (табл. 8) [139]. Исследования кристалла **57** с ОТ ВИЧ показало образование водородной связи между аминогруппой пиридинового фрагмента и основной цепью K103N чем объясняется высокая активность против резистентных к ННИОТ мутантных форм ВИЧ [140].

При фармакокинетических исследованиях **57** выяснилось, что соединение подвергается микросомальному окислению, дефторированию и гидроксированию изопропильного фрагмента в С-5 положении центрального пиримидинового кольца, что приводило к необходимости применения препарата чаще 1 раза в день. С целью нивелирования данных недостатков были получены соединения **58–60** (табл. 8), которые проигрывали **57** в ингибирующей активности

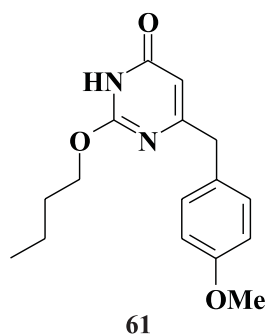
Таблица 8. Ингибирующая активность соединений 57–60 в отношении ВИЧ дикого типа и мутантных форм, устойчивых к ННИОТ [139, 140]

 57–60	В-во	R1	EC ₅₀ (мкМ)*		
			WT	K103N	Y181C
57		2-NH ₂ , 6-F	0,0034	0,0054	0,023
58		2-NH ₂ , 5,6-F	0,0045	0,033	0,037
59		2,6-F	0,012	0,023	0,14
60		2-F	0,0062	0,015	0,099
EFV			0,0011	0,0029	0,039
ETV			0,0016	0,0042	0,0014
* – испытания проводились на линии клеток MT-2					

в отношении устойчивых к ННИОТ штаммов ВИЧ, а так же слабо соответствовали целевым фармакокинетическим критериям [140].

IV. ННИОТ ВИЧ-1 НА ОСНОВЕ ДИГИДРОАЛКОКСИБЕНЗИЛОКСОПИРИМИДИНОВ (DAVO)

Подкласс дигидроалкоксибензилоксопиримидинов (DAVO) появился как ответвление производных НЕРТ (**30**). Родоначальником этого подкласса считается соединение **61**, полученное при попытке перенести протяженный заместитель из N-1 в C-2 положение пиримидинового кольца. Соединение **61** обладало слабой анти-ВИЧ (EC₉₀ = 86 мкМ) [142] активностью, но показало принципиальную возможность ННИОТ на основе НЕРТ с протяженными заместителями в C-2 положении.



DAVO содержат ароматический цикл в C-6 положении пиримидина являющийся необходимым условием для активности соединения [143], чем структурно схожи с НЕРТ, поэтому модификация структуры DAVO почерпнула массу общих черт от работы над улучшением ингибирующей активности НЕРТ в отношении ОТ ВИЧ. К таким улучшениям относятся:

а) необходимость наличия ароматического фрагмента в C-6 положении пиримидина;

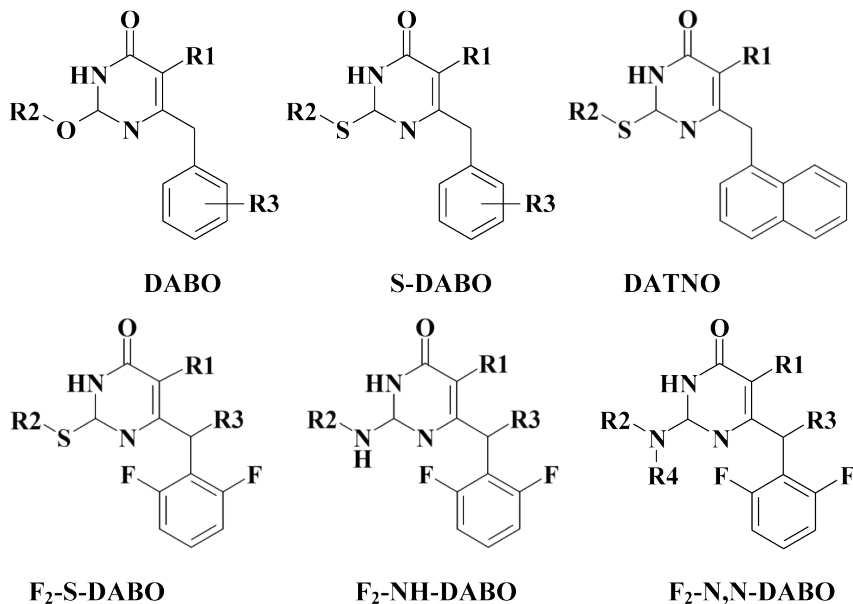


Рис. 7. Структурное разнообразие аналогов DABO.

б) введение алкильных заместителей в С-5 положение пиримидина [144, 145];

в) введение метильных групп в мета-положения бензольного цикла в положении С-6 [146] по аналогии с **39** и GCA-186 (**40**) [107, 122];

г) замена фенильного фрагмента в положении С-6 на нафтильный (подкласс – DATNO [143]) по аналогии с работой [119];

д) введение третьего ароматического фрагмента в С-2 положение [147] по аналогии с TNK-651 (**52**) [97].

е) замена фенильного фрагмента на циклогексильный в С-6 положении пиримидина [148] аналогично циклогексильному производному HEPT TNK-6123 (**34**) [98]

Введение в положении С-2 алкилтио-заместителя алкилокси-группы привело к повышению ингибирующей активности в отношении ВИЧ-1 дикого типа. Соединения с алкилтио-фрагментом получили обозначение S-DABO (рис. 7) [146]. В ходе модификации фенильного фрагмента в С-6 положении пиримидина было обнаружено важное отличие DABO от производных HEPT – оптимальным является введение заместителей в *орто*-положение фенильного фрагмента [149], что идет вразрез с производными HEPT, где оптимальным является *мета*-положение фенильного фрагмента в С-6 положении пиримидина [180].

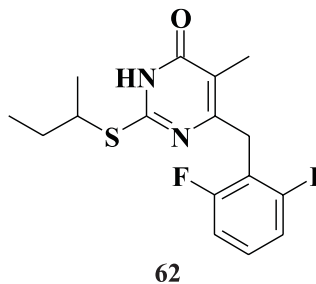
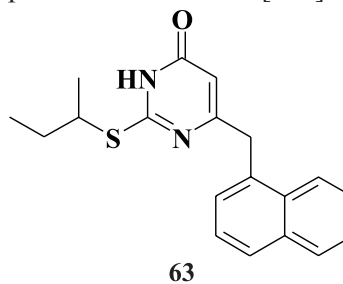
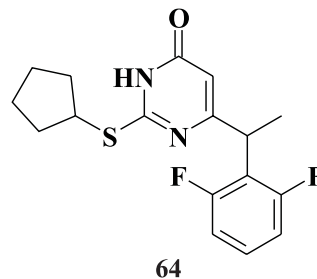
Варьирование заместителей в *мета*-положении фенильного фрагмента привело к обнаружению высокоактивных ННИОТ **62** с фтором в *мета*-положении бензольного кольца [149], которые стали родоначальником подкласса 2,6-F₂-S-DABO.

Исследование заместителей в С-5 положении пиримидинового фрагмента выявило еще одно отличие DABO от производных HEPT. Несмотря на тот, факт, что введение галогена в С-5 положение пиримидина для обоих подклассов приводит к снижению ингибирующей активности, при введении алкильного заместителя в то же С-5 положение пиримидина для DABO наблюдается возрастание ингибирующей активности в ряду Me > Et > *i*-Pr [150], что идет вразрез с данными для производных HEPT, где наблюдалась обратная зависимость [106].

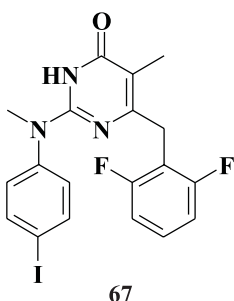
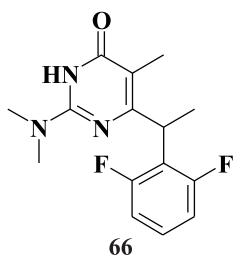
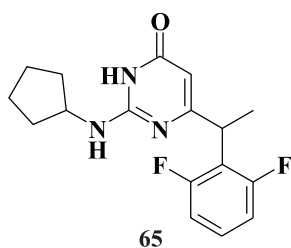
Исследования влияния ароматического заместителя в С-6 положении пиримидина [143] показали, что его удаление приводит к полной потере ингибирующей активности, а удлинение линкера между пиримидиновым и фенильным фрагментами также приводит к снижению ингибирующей активности в отношении ВИЧ-1.

Соединения, в которых фенильный заместитель был заменен на нафтильный (DATNO) (наиболее активное **63** EC₅₀ = 0,33 мкМ) показали высокую ингибирующую активность, причем α-нафтильные производные оказались активнее β-нафтильных [143], что наблюдалась и для производных HEPT [119]. Важной особенностью DATNO является негативный эффект от заместителя в С-5 положении пиримидинового фрагмента, что нехарактерно для DABO [150].

Введение метильной группы в линкер между пиримидиновым и фенильным фрагментом способствовало повышению ингибирующей активности соединений в отношении ВИЧ-1 [151, 152]. Для наиболее активного соединения **64** было исследовано влияние оптических изомеров на ингибирующую активность, в ходе которого выяснилось, что R-изомер активнее

**62****63****64**

S-изомера более чем на три порядка [152]. Согласно компьютерному моделированию на основе данных рентгеноструктурного исследования комплекса ОТ ВИЧ с TNK-651 (**52**) [97] метильная группа R-изомера взаимодействует с боковой группой Y181 [151].



Замена серы на аминогруппу в заместителе в С-2 положении пиримидина привела к созданию еще одного подкласса DABO – NH-DABO, отличающихся сопоставимой с S-DABO ингибирующей активностью и высоким генетическим барьером к резистентности [153].

Из данных компьютерного моделирования соединения **65** в гидрофобном кармане ОТ ВИЧ было сделано предположение, что аминогруппа в С-2 положении пиримидина способна образовывать водородную связь с K101, что может компенсировать утрату взаимодействия фенильного фрагмента с Y181 в Y188 в случае их мутаций, чем и объясняется сохранение ингибирующей активности соединения **65** [154].

На основе 2,6-F₂-NH-DABO был получен еще один подкласс DABO – 2,6-F₂-N,N-DABO [155] (**66**). Соединения данного подкласса показали высокую ингибирующую активность (для **66** EC₅₀ = 0,1 мкМ) как в отношении ОТ ВИЧ дикого типа, так и в отношении резистентных мутаций в ОТ ВИЧ. Стоит отметить, что модификации линкера между фенильным фрагментом 2,6-F₂-N,N-DABO и пиримидиновым циклом, такие как введение в линкер галогена,

гидроксильной, циано и кето-группы хоть и привело к созданию соединений с субмикромольной активностью в отношении ВИЧ-1 дикого типа, но не смогло расширить генетический барьер к резистентности для соединений данного подкласса. Даже наиболее активные соединения резко теряли в ингибирующей активности в отношении мутации ОТ ВИЧ-1 Y181C.

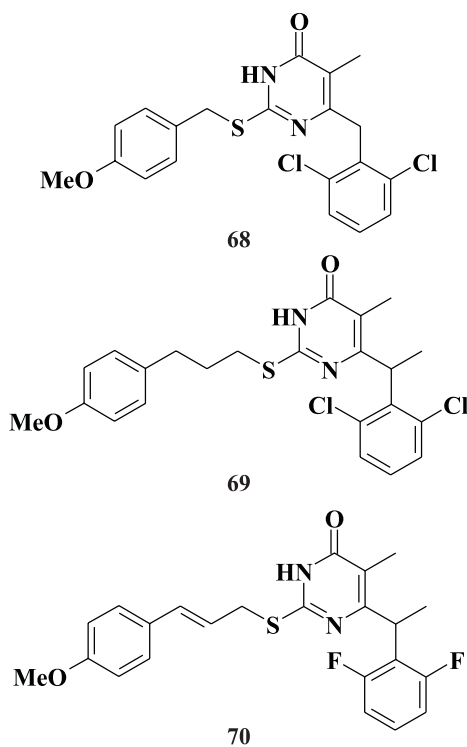
Для соединений без модификаций в линкере в С-6 положении пиримидина при введении третьего ароматического фрагмента по аминогруппе заместителя в С-2 положении пиримидина (**67**) ингибирующая активность в отношении мутанта Y181C падала в

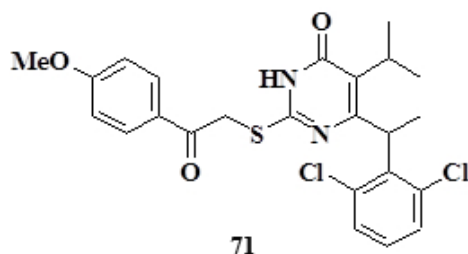
меньшей степени, но как и все остальные соединения данной работы, оно оказалось полностью неактивно в случае двойной мутации K103N+Y181C [156].

Резкое повышение ингибирующей активности в отношении ВИЧ-1 дикого типа было достигнуто при введении в С-2 положение ароматического фрагмента [157]. Тут наблюдается еще одно сходство с производными НЕРТ, для которых было отмечено аналогичное влияние третьего ароматического цикла на ингибирующую активность в отношении ВИЧ-1 [97]. Стоит отметить, что введение ароматического фрагмента в С-2 положение DABO не может компенсировать отсутствие ароматического заместителя в С-6 положении пиримидина [143]. На основе наиболее активного соединения **68** ($IC_{50} = 0,026$ мкМ в отношении ОТ ВИЧ дикого типа, выявленного в работе [147]) была проведена работа по варьированию линкера между пиримидиновым циклом и фенильным фрагментом в С-2 положении пиримидина, показавшая что увеличение длины линкера (**69**) положительно сказывается на ингибирующей активности соединений в отношении мутации в ОТ ВИЧ

Y188L, а введение двойной связи в линкер (**70**) приводило к увеличению активности в отношении резистентных мутантов K103N, Y181C и Y188L. Введение тройной связи в линкере приводило к полной потере ингибирующей активности. К сожалению, токсичность соединений с ненасыщенным углеводородным фрагментом оказалась выше ненасыщенных аналогов [157].

Соединение с кето-группой в линкере между пиримидиновым фрагментом и фенильным заместителем в С-2 положении пиримидина удалось добиться нано- и субнаномолярной активности в отношении ВИЧ-1 дикого типа (для соединения-лидера **71** $EC_{50} = 0,4$





нМ) [157, 158]. Тем не менее, сохранилась основная проблема DABO с тремя ароматическими циклами – даже самые активные соединения теряют несколько порядков в ингибирующей активности в случае мутаций K103N, Y181C, Y188L [159].

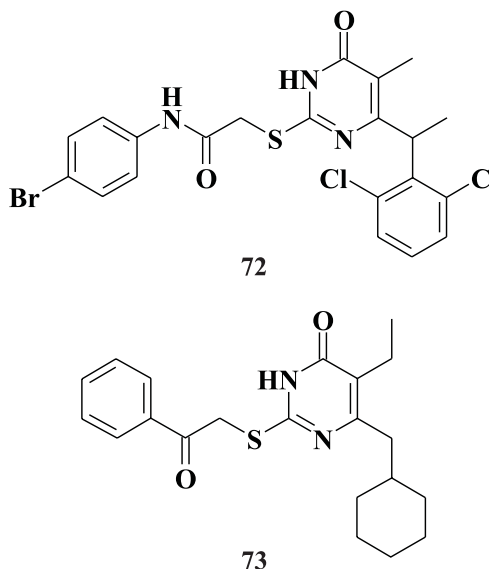
На основе компьютерного моделирования комплексов DABO с тремя ароматическими фрагментами с ОТ ВИЧ [157, 159], выполненных на основе кристалла ОТ ВИЧ с производным НЕРТ с тремя ароматическими фрагментами TNK-651 (**52**) [97], было высказано предположение о схожем расположении структур двух подклассов внутри гидрофобного кармана.

Так согласно данным компьютерного моделирования заместители в С-6 положении пиримидина фенилацетил-DABO и производных TNK-651 (**52**) вступают в стекинг взаимодействие с Y188, ароматический заместитель в С-2 положении взаимодействует с P236, V106 и Y318 (как и ароматический заместитель в N-1 положении пиримидина TNK-651 (**52**)), пиримидиновый фрагмент образует водородную связь с основной цепью K101, а алкильный заместитель в С-5 положении пиримидина расположен так же как и у TNK-651 (**52**) [157, 159]. Схожее расположение алкильного фрагмента в С-5 положении пиримидина может объяснить возрастание ингибирующей активности в ряду H<Me<Et<*i*-Pr для аналогов **71** с различными заместителями в С-5 положении, что наблюдалось и для аналогов НЕРТ (**30**) [103, 106–109].

В работе [160] была реализована попытка расширить резистентный профиль DABO с тремя ароматическими циклами. Идея заключалась в введении аминогруппы в линкер между пиримидиновым фрагментом и фенильным заместителем в С-2 положении пиримидина, что бы поспособствовало образованию новых водородных связей с аминокислотами гидрофобного кармана и компенсировало бы утрату взаимодействия с Y181 и Y188 в случае мутации последних. С этой же целью было произведено варьирование заместителей в фенильном фрагменте в С-2 положении пиримидина, наиболее удаленном от Y181 и Y188. Наиболее активное соединение (**72**) оказалось значительно менее активным в отношении ОТ ВИЧ дикого типа, чем другие DABO с тремя ароматическими циклами, что позволяет говорить о бесперспективности данного подхода.

Более результативным оказалась замена фенильного заместителя в С-6 положении пиримидина на циклогексильный фрагмент [148]. К и в случае производных НЕРТ [98] это привело к созданию высокоактивного соединения **73**, обладавшего ингибирующей активностью в отношении ВИЧ дикого типа в наномолярном диапазоне ($EC_{50} = 2,4$ нМ). Компьютерное моделирование на основе данных рентгеноструктурного исследования комплекса ОТ ВИЧ с TNK-651 (**52**) [97]

предполагает, что циклогексильный фрагмент **73** вступает в вандерваальсовы взаимодействия с Y181, Y188, W229 и V106. Это предположение подтверждается исследование ингибирующей активности **73** на резистентных мутантах, в ходе которых было отмечено резкое падение активности в случае мутаций V106A и Y181C в ОТ ВИЧ-1 [148].



V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подытоживая данные для всех трех классов ННИОТ ВИЧ-1 на основе замещенных пиримидинов, стоит отметить следующие закономерности, позволяющие создать новые высокоактивные соединения с широким профилем резистентности в отношении лекарственно устойчивых мутаций в гидрофобном кармане ОТ ВИЧ-1.

Соединения должны:

- обладать конформационной подвижностью, чтобы иметь возможность адаптироваться к мутациям внутри гидрофобного кармана фермента.

- максимально взаимодействовать с консервативной аминокислотой гидрофобного кармана W229, и, в идеале, с менее консервативными F227, L234, P236 и Y318.

- образовывать водородные связи с основной аминокислотной цепью белка, что существенно уменьшает негативное влияние на ингибирующую активность при изменении аминокислотных остатков гидрофобного кармана.

ЛИТЕРАТУРА

1. UNAIDS, *Fact sheet: 2014 statistics*. 2015.
2. ВИЧ-инфекция в РФ в 2016 году (официальная статистика). Available from: <https://spid-vich-zppp.ru/statistika/ofitsialnaya-statistika-vich-spid-rf-2016.html>.
3. Prokofjeva, M.M., Kochetkov, S.N., Prassolov, V.S., (2016) Therapy of HIV Infection: Current Approaches and Prospects, *Acta Naturae*, **8**, 23–32.
4. *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents*. 2017.
5. Устойчивость к противомикробным препаратам. 2016; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/ru/>.
6. Touzard, Romo, F., Smeaton, L.M., Campbell, T.B., Riviere, C., Mngqibisa, R., Nyirenda, M., Supparatpinyo, K., Kumarasamy, N., Hakim, J.G., Flanagan, T.P. (2014) Renal and metabolic toxicities following initiation of HIV-1 treatment regimen in a diverse, multinational setting: a focused safety analysis of ACTG PEARLS (A5175), *HIV Clin. Trials*, **15**, 246–260.
7. Turner, B.G., Summers, M.F. (1999) Structural biology of HIV, *J. Mol. Biol.*, **285**, 1–32.
8. Freed EO, M.M. (2007) HIVs and their replication, in *Fields Virology* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2107–2185.
9. Kuritzkes, DR, W.B. (2007) HIV-1 pathogenesis, clinical manifestations and treatment, in *Fields Virology* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2187–2214.
10. Greene, W.C., and Peterlin, B.M. (2002) Charting HIV's remarkable voyage through the cell: Basic science as a passport to future therapy, *Nat. Med.*, **8**, 673–680.
11. Piekna-Przybylska D, B.R. (2013) Proviral DNA Synthesis in HIV: Background in Human Immunodeficiency Virus Reverse Transcriptase. A Bench-to-Bedside Success, Springer, 23–53.
12. Steitz, T.A. (1999) DNA polymerases: structural diversity and common mechanisms, *J. Biol. Chem.*, **274**, 17395–17398.
13. Kohlstaedt, L.A., Wang, J., Friedman, J.M., Rice, P.A., and Steitz, T.A. (1992) Crystal structure at 3.5 Å resolution of HIV-1 reverse transcriptase complexed with an inhibitor, *Science*, **256**, 1783–1790.
14. Huang, H., Chopra, R., Verdine, G.L., Harrison, S.C. (1998) Structure of a covalently trapped catalytic complex of HIV-1 reverse transcriptase: implications for drug resistance, *Science*, **282**, 1669–1675.
15. Singh, K., Flores, J.A., Kirby, K.A., Neogi, U., Sonnerborg, A., Hachiya, A., Das, K., Arnold, E., McArthur, C., Parniak, M., Sarafianos, S.G. (2014) Drug resistance in non-B subtype HIV-1: impact of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors, *Viruses*, **6**, 3535–3562.
16. Esnouf, R., Ren, J., Ross, C., Jones, Y., Stammers, D., Stuart, D. (1995) Mechanism of inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by non-nucleoside inhibitors, *Nat. Struct. Biol.*, **2**, 303–308.
17. Ding, J., Das, K., Tantillo, C., Zhang, W., Clark, A.D., Jr., Jessen, S., Lu, X., Hsiou, Y., Jacobo-Molina, A., Andries, K., Pauwels, R., Moereels, H., Koymans, L., Janssen, Paj, Smith, R.H., Koepke, M.K., Michejda, C.J., Hughes, S.H., Arnold, E. (1995) Structure of HIV-1 reverse transcriptase in a complex with the non-nucleoside inhibitor alpha-APA R

- 95845 at 2.8 Å resolution, *Structure*, **3**, 365–379.
18. Ren, J., Esnouf, R., Garman, E., Somers, D., Ross, C., Kirby, I., Keeling, J., Darby, G., Jones, Y., Stuart, D., Stammers, D. (1995) High resolution structures of HIV-1 RT from four RT-inhibitor complexes, *Nat. Struct. Biol.*, **2**, 293–302.
 19. Ding, J., Das, K., Moereels, H., Koymans, L., Andries, K., Janssen, P.A., Hughes, S.H., Arnold, E. (1995) Structure of HIV-1 RT/TIBO R 86183 complex reveals similarity in the binding of diverse nonnucleoside inhibitors, *Nat. Struct. Biol.*, **2**, 407–415.
 20. Tantillo, C., Ding, J., Jacobo-Molina, A., Nanni, R.G., Boyer, P.L., Hughes, S.H., Pauwels, R., Andries, K., Janssen, P.A., Arnold, E. (1994) Locations of anti-AIDS drug binding sites and resistance mutations in the three-dimensional structure of HIV-1 reverse transcriptase. Implications for mechanisms of drug inhibition and resistance, *J. Mol. Biol.*, **243**, 369–387.
 21. Das, K., Martinez, S.E., Bauman, J.D., Arnold, E. (2012) HIV-1 reverse transcriptase complex with DNA and nevirapine reveals non-nucleoside inhibition mechanism, *J. Mol. Biol.*, **19**, 253–259.
 22. Schauer, G.D., Huber, K.D., Leuba, S.H., Sluis-Cremer, N. (2014) Mechanism of allosteric inhibition of HIV-1 reverse transcriptase revealed by single-molecule and ensemble fluorescence, *Nucleic Acids Res.*, **42**, 11687–11696.
 23. Liu, S., Abbondanzieri, E.A., Rausch, J.W., Le Grice, S.F., Zhuang, X. (2008) Slide into action: dynamic shuttling of HIV reverse transcriptase on nucleic acid substrates, *Science*, **322**, 1092–1097.
 24. Wang, J., Smerdon, S.J., Jager, J., Kohlstaedt, L.A., Rice, P.A., Friedman, J.M., Steitz, T.A. (1994) Structural basis of asymmetry in the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase heterodimer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 7242–7246.
 25. Administration, U.S.F.a.D. *Antiretroviral drugs used in the treatment of HIV infection*. Available from: <http://www.fda.gov/ForPatients/Illness/HIVAIDS/Treatment/ucm118915.htm>
 26. Schafer, J.J., Short, W.R. (2012) Rilpivirine, a novel non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor for the management of HIV-1 infection: a systematic review, *Antivir. Ther.*, **17**, 1495–1502.
 27. Croxtall, J.D. (2012) Etravirine: a review of its use in the management of treatment-experienced patients with HIV-1 infection, *Drugs*, **72**, 847–869.
 28. de Bethune, M.P. (2010) Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), their discovery, development, and use in the treatment of HIV-1 infection: a review of the last 20 years (1989–2009), *Antiviral Res.*, **85**, 75–90.
 29. Li, X., Zhang, L., Tian, Y., Song, Y., Zhan, P., Liu, X. (2014) Novel HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: a patent review (2011–2014), *Expert Opin. Ther. Pat.*, **24**, 1199–1227.
 30. Schuckmann, M.M., Marchand, B., Hachiya, A., Kodama, E.N., Kirby, K.A., Singh, K., Sarafianos, S.G. (2010) The N348I mutation at the connection subdomain of HIV-1 reverse transcriptase decreases binding to nevirapine, *J. Biol. Chem.*, **285**, 38700–38709.
 31. Betancor, G., Alvarez, M., Marcelli, B., Andres, C., Martinez, M.A., Menendez-Arias, L. (2015) Effects of HIV-1 reverse transcriptase connection subdomain mutations on polypurine tract removal and initiation of (+)-strand DNA synthesis, *Nucleic Acids Res.*, **43**, 2259–2270.

32. Hsiou, Y., Das, K., Ding, J., Clark, A.D., Jr., Kleim, J.P., Rosner, M., Winkler, I., Riess, G., Hughes, S.H., Arnold, E. (1998) Structures of Tyr188Leu mutant and wild-type HIV-1 reverse transcriptase complexed with the non-nucleoside inhibitor HBV 097: inhibitor flexibility is a useful design feature for reducing drug resistance, *J. Mol. Biol.*, **284**, 313–323.
33. Kertesz, D.J., Brotherton-Pleiss, C., Yang, M., Wang, Z., Lin, X., Qiu, Z., Hirschfeld, D.R., Gleason, S., Mirzadegan, T., Dunten, P.W., Harris, S.F., Villasenor, A.G., Hang, J.Q., Heilek, G.M., Klumpp, K. (2010) Discovery of piperidin-4-yl-amino-pyrimidines as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. N-benzyl derivatives with broad potency against resistant mutant viruses, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 4215–4218.
34. Hsiou, Y., Ding, J., Das, K., Clark, A.D., Jr., Boyer, P.L., Lewi, P., Janssen, P.A., Kleim, J.P., Rosner, M., Hughes, S.H., Arnold, E. (2001) The Lys103Asn mutation of HIV-1 RT: a novel mechanism of drug resistance, *J. Mol. Biol.*, **309**, 437–445.
35. Ren, J., Nichols, C.E., Chamberlain, P.P., Weaver, K.L., Short, S.A., Chan, J.H., Kleim, J.P., Stammers, D.K. (2007) Relationship of potency and resilience to drug resistant mutations for GW420867X revealed by crystal structures of inhibitor complexes for wild-type, Leu100Ile, Lys101Glu, and Tyr188Cys mutant HIV-1 reverse transcriptases, *J. Med. Chem.*, **50**, 2301–2309.
36. Antinori, A., Zaccarelli, M., Cingolani, A., Forbici, F., Rizzo, M.G., Trotta, M.P., Di Giambenedetto, S., Narciso, P., Ammassari, A., Girardi, E., De Luca, A., Perno, C.F. (2002) Cross-resistance among nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors limits recycling efavirenz after nevirapine failure, *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **18**, 835–838.
37. Madruga, J.V., Cahn, P., Grinsztejn, B., Haubrich, R., Lalezari, J., Mills, A., Pialoux, G., Wilkin, T., Peeters, M., Vingerhoets, J., de Smedt, G., Leopold, L., Trefiglio, R., Woodfall, B. (2007) Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-1: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial, *Lancet*, **370**, 29–38.
38. Lazzarin, A., Campbell, T., Clotet, B., Johnson, M., Katlama, C., Moll, A., Towner, W., Trottier, B., Peeters, M., Vingerhoets, J., de Smedt, G., Baeten, B., Beets, G., Sinha, R., Woodfall, B. (2007) Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-2: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial, *Lancet*, **370**, 39–48.
39. Janssen, P.A., Lewi, P.J., Arnold, E., Daeyaert, F., de Jonge, M., Heeres, J., Koymans, L., Vinkers, M., Guillemon, J., Pasquier, E., Kukla, M., Ludovici, D., Andries, K., de Bethune, M.P., Pauwels, R., Das, K., Clark, A.D., Jr., Frenkel, Y.V., Hughes, S.H., Medaer, B., De Knaep, F., Bohets, H., De Clerck, F., Lampo, A., Williams, P., Stoffels, P. (2005) In search of a novel anti-HIV drug: multidisciplinary coordination in the discovery of 4-[[4-[(1E)-2-cyanoethenyl]-2,6-dimethylphenyl]amino]-2-pyrimidinyl]amino]benzonitrile (R278474, rilpivirine), *J. Med. Chem.*, **48**, 1901–1909.
40. Maiga, A.I., Descamps, D., Morand-Joubert, L., Malet, I., Derache, A., Cisse, M., Koita, V., Akonde, A., Diarra, B., Wirten, M., Tounkara, A., Verlinden, Y., Katlama, C., Costagliola, D., Masquelier, B., Calvez, V., Marcelin, A.G. (2010) Resistance-associated mutations to etravirine (TMC-125) in antiretroviral-naïve

- patients infected with non-B HIV-1 subtypes, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **54**, 728–733.
41. Bunupuradah, T., Ananworanich, J., Chetchotisakd, P., Kantipong, P., Jirajariyavej, S., Sirivichayakul, S., Munsakul, W., Prasithsirikul, W., Sungkanuparph, S., Bowonwattanuwong, C., Klinbuayaem, V., Petoumenos, K., Hirschel, B., Bha-keecheeep, S., Ruxrungtham, K. (2011) Etravirine and rilpivirine resistance in HIV-1 subtype CRF01_AE-infected adults failing non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based regimens, *Antivir. Ther.*, **16**, 1113–1121.
42. Brehm, J.H., Koontz, D.L., Wallis, C.L., Shutt, K.A., Sanne, I., Wood, R., McIntyre, J.A., Stevens, W.S., Sluis-Cremer, N., Mellors, J.W. (2012) Frequent emergence of N348I in HIV-1 subtype C reverse transcriptase with failure of initial therapy reduces susceptibility to reverse-transcriptase inhibitors, *Clin. Infect. Dis.*, **55**, 737–745.
43. Johnson, V.A., Calvez, V., Gunthard, H.F., Paredes, R., Pillay, D., Shafer, R.W., Wensing, A.M., Richman, D.D. (2013) Update of the drug resistance mutations in HIV-1: March 2013, *Top. Antivir. Med.*, **21**, 6–14.
44. Wensing, A.M., Calvez, V., Gunthard, H.F., Johnson, V.A., Paredes, R., Pillay, D., Shafer, R.W., Richman, D.D. (2014) 2014 Update of the drug resistance mutations in HIV-1, *Top. Antivir. Med.*, **22**, 642–650.
45. Lambert-Niclot, S., Charpentier, C., Storto, A., Fofana, D., Soulie, C., Fourati, S., Wirden, M., Morand-Joubert, L., Masquelier, B., Flandre, P., Calvez, V., Descamps, D., Marcelin, A.G. (2014) Rilpivirine, emtricitabine and tenofovir resistance in HIV-1-infected rilpivirine-naïve patients failing antiretroviral therapy, *J. Antimicrob. Chemother.*, **69**, 1086–1089.
46. Gatell, J.M., Morales-Ramirez, J.O., Hagins, D.P., Thompson, M., Keikawus, A., Hoffmann, C., Rugina, S., Osiyemi, O., Escoriu, S., Dretler, R., Harvey, C., Xu, X., Teppler, H. (2014) Forty-eight-week efficacy and safety and early CNS tolerability of doravirine (MK-1439), a novel NNRTI, with TDF/FTC in ART-naïve HIV-positive patients, *J. Int. AIDS Soc.*, **17**, 19532.
47. Jackson, A., McGowan, I. (2015) Long-acting rilpivirine for HIV prevention, *Curr. Opin. HIV AIDS*, **10**, 253–257.
48. Margolis, D.A., Brinson, C.C., Smith, G.H., de Vente, J., Hagins, D.P., Eron, J.J., Griffith, S.K., St Clair, M.H., Stevens, M.C., Williams, P.E., Ford, S.L., Stancil, B.S., Bomar, M.M., Hudson, K.J., Smith, K.Y., Spreen, W.R. (2015) Cabotegravir plus rilpivirine, once a day, after induction with cabotegravir plus nucleoside reverse transcriptase inhibitors in antiretroviral-naïve adults with HIV-1 infection (LATTE): a randomised, phase 2b, dose-ranging trial, *Lancet Infect. Dis.*, **15**, 1145–1155.
49. Kovarova, M., Council, Date, A.A., Long, J.M., Nochi, T., Belshan, M., Shibata, A., Vincent, H., Baker, C.E., Thayer, W.O., Kraus, G., Lachaud-Durand, S., Williams, P., Destache, C.J., Garcia, J.V. (2015) Nanoformulations of Rilpivirine for Topical Pericoital and Systemic Coitus-Independent Administration Efficiently Prevent HIV Transmission, *PLoS Pathog.*, **11**, e1005075.
50. Miller, C.D., Crain, J., Tran, B., Patel, N. (2011) Rilpivirine: a new addition to the anti-HIV-1 armamentarium, *Drugs Today (Barc.)*, **47**, 5–15.
51. Chen, X., Zhan, P., Li, D., De Clercq, E., Liu, X. (2011) Recent advances in DAPYs and related analogues as HIV-1 NNRTIs, *Curr Med Chem*, **18**, 359–376.

52. Pauwels, R., Andries, K., Debyser, Z., Van Daele, P., Schols, D., Stoffels, P., De Vreese, K., Woestenborghs, R., Vandamme, A.M., Janssen, C.G., Anne, J., Cauwenbergh, G., Desmyter, J., Heykants, J., Janssen, Mac., De Clercq, E., Janssen, Paj. Potent and highly selective human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) inhibition by a series of alpha-anilinophenylacetamide derivatives targeted at HIV-1 reverse transcriptase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 1711–1715.
53. Ludovici, D.W., Kukla, M.J., Grous, P.G., Krishnan, S., Andries, K., de Bethune, M.P., Azijn, H., Pauwels, R., De Clercq, E., Arnold, E., Janssen, P.A. (2001) Evolution of anti-HIV drug candidates. Part 1: From alpha-anilinophenylacetamide (alpha-APA) to imidoyl thiourea (ITU), *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11**, 2225–2228.
54. Ludovici, D.W., Kavash, R.W., Kukla, M.J., Ho, C.Y., Ye, H., De Corte, B.L., Andries, K., de Bethune, M.P., Azijn, H., Pauwels, R., Moereels, H.E., Heeres, J., Koymans, L.M., de Jonge, M.R., Van Aken, K.J., Daeyaert, F.F., Lewi, P.J., Das, K., Arnold, E., Janssen, P.A. (2001) Evolution of anti-HIV drug candidates. Part 2: Diaryltriazine (DATA) analogues, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11**, 2229–2234.
55. De Corte, B.L. (2005) From 4-, 5-, 6-, 7-tetrahydro-5-methylimidazo[4, 5, 1-jk](1, 4)benzodiazepin-2(1H)-one (TIBO) to etravirine (TMC125): fifteen years of research on non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase, *J Med Chem*, **48**, 1689–1696.
56. Ludovici, D.W., De Corte, B.L., Kukla, M.J., Ye, H., Ho, C.Y., Lichtenstein, M.A., Kavash, R.W., Andries, K., de Bethune, M.P., Azijn, H., Pauwels, R., Lewi, P.J., Heeres, J., Koymans, L.M., de Jonge, M.R., Van Aken, K.J., Daeyaert, F.F., Das, K., Arnold, E., Janssen, P.A. (2001) Evolution of anti-HIV drug candidates. Part 3: Diarylpyrimidine (DAPY) analogues, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11**, 2235–2239.
57. Heeres, J., Lewi, L.P. (2007) The medicinal chemistry of the DATA and DAPY series of HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), in *Advances in Antiviral Drug Design*, Elsevier Science, 213–242.
58. Lansdon, E.B., Brendza, K.M., Hung, M., Wang, R., Mukund, S., Jin, D., Birkus, G., Kutty, N., Liu, X. (2010) Crystal structures of HIV-1 reverse transcriptase with etravirine (TMC125) and rilpivirine (TMC278): implications for drug design, *J Med Chem*, **53**, 4295–4299.
59. Das, K., Bauman, J.D., Clark, A.D., Jr., Frenkel, Y.V., Lewi, P.J., Shatkin, A.J., Hughes, S.H., Arnold, E. (2008) High-resolution structures of HIV-1 reverse transcriptase/TMC278 complexes: strategic flexibility explains potency against resistance mutations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 1466–1471.
60. Di Fabio, S., Van Roey, J., Giannini, G., van den Mooter, G., Spada, M., Binelli, A., Pirillo, M.F., Germinario, E., Belardelli, F., de Bethune, M.P., Vella, S. (2003) Inhibition of vaginal transmission of HIV-1 in hu-SCID mice by the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor TMC120 in a gel formulation, *AIDS*, **17**, 1597–1604.
60. Di Fabio, S., J. Van Roey, G. Giannini, G. van den Mooter, M. Spada, A. Binelli, M.F. Pirillo, E. Germinario, F. Belardelli, M.P. de Bethune, and S. Vella (2003) Inhibition of vaginal transmission of HIV-1 in hu-SCID mice by the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor TMC120 in a gel formulation, *AIDS*, **17**, 1597–1604.

61. Van Herrewege, Y., Vanham, G., Michiels, J., Fransen, K., Kestens, L., Andries, K., Janssen, P., Lewi, P. (2004) A series of diaryltriazines and diarylpyrimidines are highly potent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors with possible applications as microbicides, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48**, 3684–3689.
62. Devlin, B., Nuttall, J., Wilder, S., Woodsong, C., Rosenberg, Z. (2013) Development of dapivirine vaginal ring for HIV prevention, *Antiviral Res.*, **100** Suppl., S3–8.
63. Lewi, P.J., de Jonge, M., Daeyaert, F., Koymans, L., Vinkers, M., Heeres, J., Janssen, P.A., Arnold, E., Das, K., Clark, A.D., Jr., Hughes, S.H., Boyer, P.L., de Bethune, M.P., Pauwels, R., Andries, K., Kukla, M., Ludovici, D., De Corte, B., Kavash, R., Ho, C. (2003) On the detection of multiple-binding modes of ligands to proteins, from biological, structural, and modeling data, *J. Comput. Aided Mol. Des.*, **17**, 129–134.
64. Daeyaert, F., de Jonge, M., Heeres, J., Koymans, L., Lewi, P., Vinkers, M.H., Janssen, P.A. (2004) A pharmacophore docking algorithm and its application to the cross-docking of 18 HIV-NNRTI's in their binding pockets, *Proteins*, **54**, 526–533.
65. Guillemont, J., Pasquier, E., Palandjian, P., Vernier, D., Gaurrand, S., Lewi, P.J., Heeres, J., de Jonge, M.R., Koymans, L.M., Daeyaert, F.F., Vinkers, M.H., Arnold, E., Das, K., Pauwels, R., Andries, K., de Bethune, M.P., Bettens, E., Hertogs, K., Wigerinck, P., Timmerman, P., Janssen, P.A. (2005) Synthesis of novel diarylpyrimidine analogues and their antiviral activity against human immunodeficiency virus type 1, *J. Med. Chem.*, **48**, 2072–2079.
66. Mordant, C., Schmitt, B., Pasquier, Demestre, C., Queguiner, L., Masungi, C., Peeters, A., Smeulders, L., Bettens, E., Hertogs, K., Heeres, J., Lewi, P., Guillemont, J. (2007) Synthesis of novel diarylpyrimidine analogues of TMC278 and their antiviral activity against HIV-1 wild-type and mutant strains, *Eur. J. Med. Chem.*, **42**, 567–579.
67. Baert LEC, L.P., Heeres, J. *Prevention of HIV-infection with TMC278*. 2006.
68. Ripamonti, D., Bombana, E., Rizzi, M. (2014) Rilpivirine: drug profile of a second-generation non-nucleoside reverse transcriptase HIV-inhibitor, *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.*, **12**, 13–29.
69. Feng, X.Q., Zeng, Z.S., Liang, Y.H., Chen, F.E., Pannecouque, C., Balzarini, J., De Clercq, E. (2010) Synthesis and biological evaluation of 4-(hydroxyimino)arylmethyl diarylpyrimidine analogues as potential non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors against HIV, *Bioorg. Med. Chem.*, **18**, 2370–2374.
70. Zeng, Z.S., Liang, Y.H., Feng, X.Q., Chen, F.E., Pannecouque, C., Balzarini, J., De Clercq, E. (2010) Lead optimization of diarylpyrimidines as non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase, *ChemMedChem*, **5**, 837–840.
71. Gu, S.X., He, Yang, S.Q., Ma, X.D., Chen, F.E., De Clercq, E., Balzarini, J., Pannecouque, C. (2011) Synthesis and structure-activity relationship of novel diarylpyrimidines with hydromethyl linker (CH(OH)-DAPYs) as HIV-1 NNRTIs, *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 5117–5124.
72. Das, K., Clark A.D., Lewi, P.J., Heeres, J., De Jonge, M.R., Koymans, L.M., Vinkers, H.M., Daeyaert, F., Ludovici, D.W., Kukla, M.J., De Corte, B., Kavash, R.W., Ho, C.Y., Ye, H., Lichtenstein, M.A., Andries, K., Pauwels, R., De Bethune, M.P., Boyer, P.L., Clark, P., Hughes, S.H., Janssen, P.A., Arnold, E. (2004) Roles

- of conformational and positional adaptability in structure-based design of TMC125-R165335 (etravirine) and related non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors that are highly potent and effective against wild-type and drug-resistant HIV-1 variants, *J. Med. Chem.*, **47**, 2550–2560.
73. Gu, S.X., Li, Z.M., Ma, X.D., Yang, S.Q., He, Q.Q., Chen, F.E., De Clercq, E., Balzarini, J., Pannecouque, C. (2012) Chiral resolution, absolute configuration assignment and biological activity of racemic diarylpyrimidine CH(OH)-DAPY as potent nonnucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.*, **53**, 229–234.
 74. Feng, X.Q., Liang, Y.H., Zeng, Z.S., Chen, F.E., Balzarini, J., Pannecouque, C., De Clercq, E. (2009) Structural modifications of DAPY analogues with potent anti-HIV-1 activity, *ChemMedChem*, **4**, 219–224.
 75. Liang, Y.H., Feng, X.Q., Zeng, Z.S., Chen, F.E., Balzarini, J., Pannecouque, C., De Clercq, E. (2009) Design, synthesis, and SAR of naphthyl-substituted Diarylpyrimidines as non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase, *ChemMedChem*, **4**, 1537–1545.
 76. Liang, Y.H., He, Q.Q., Zeng, Z.S., Liu, Z.Q., Feng, X.Q., Chen, F.E., Balzarini, J., Pannecouque, C., Clercq, E.D. (2010) Synthesis and anti-HIV activity of 2-naphthyl substituted DAPY analogues as non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.*, **18**, 4601–4605.
 77. Lee, W.G., Frey, K.M., Gallardo-Macias, R., Spasov, K.A., Chan, A.H., Anderson, K.S., Jorgensen, W.L. (2015) Discovery and crystallography of bicyclic arylaminoazines as potent inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 4824–4827.
 78. Gu, S.X., Yang, S.Q., He, Q.Q., Ma, X.D., Chen, F.E., Dai, H.F., Clercq, E.D., Balzarini, J., Pannecouque, C. (2011) Design, synthesis and biological evaluation of cycloalkyl arylpyrimidines (CAPYs) as HIV-1 NNRTIs, *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 7093–7099.
 79. Huang, B., Kang, D., Yang, J., Zhan, P., Liu, X. (2016) Novel diarylpyrimidines and diaryltriazines as potent HIV-1 NNRTIs with dramatically improved solubility: a patent evaluation of US20140378443A1, *Expert. Opin. Ther. Pat.*, **26**, 281–289.
 80. Sergeyev, S., Yadav, A.K., Franck, P., Michiels, J., Lewi, P., Heeres, J., Vanham, G., Arien, K.K., Vande Velde, C.M., De Winter, H., Maes, B.U. (2016) 2, ,6-Di(aryl amino)-3-fluoropyridine Derivatives as HIV Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors, *Journal of Medicinal Chemistry*, **59**, 1854–1868.
 81. Andries, K., Azijn, H., Thielemans, T., Ludovici, D., Kukla, M., Heeres, J., Janssen, P., De Corte, B., Vingerhoets, J., Pauwels, R., de Bethune, M.P. (2004) TMC125, a novel next-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor active against nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-resistant human immunodeficiency virus type 1, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48**, 4680–4686.
 82. Usach, I., Melis, V., Peris, J.E. (2013) Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: a review on pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability, *J. Int. AIDS Soc.*, **16**, 1–14.
 83. Sun, L.Q., Qin, B., Huang, L., Qian, K., Chen, C.H., Lee, K.H., Xie, L. (2012) Optimization of 2, ,4-diarylanilines as non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **22**, 2376–2379.

84. Weuts, I., Van Dycke, F., Voorspoels, J., De Cort, S., Stokbroekx, S., Lee-mans, R., Brewster, M.E., Xu, D., Segmuller, B., Turner, Y.T., Roberts, C.J., Davies, M.C., Qi, S., Craig, D.Q., Reading, M. (2011) Physicochemical properties of the amorphous drug, cast films, and spray dried powders to predict formulation probability of success for solid dispersions: etravirine, *J. Pharm. Sci.*, **100**, 260–274.
85. Zeng, Z.S., He, Q.Q., Liang, Y.H., Feng, X.Q., Chen, F.E., De Clercq, E., Balzarini, J., Pannecouque, C. (2010) Hybrid diarylbenzopyrimidine non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors as promising new leads for improved anti-HIV-1 chemotherapy, *Bioorg. Med. Chem.*, **18**, 5039–5047.
86. Smith, S.J., Pauly, G.T., Akram, A., Melody, K., Rai, G., Maloney, D.J., Ambrose, Z., Thomas, C.J., Schneider, J.T., Hughes, S.H. (2016) Rilpivirine analogs potentially inhibit drug-resistant HIV-1 mutants, *Retrovirology*, **13**, 11.
87. Corbett, J.W., Ko, S.S., Rodgers, J.D., Jeffrey, S., Bachelier, L.T., Klabe, R.M., Diamond, S., Lai, C.M., Rabel, S.R., Saye, J.A., Adams, S.P., Trainor, G.L., Anderson, P.S., Erickson-Viitanen, S.K. (1999) Expanded-spectrum nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors inhibit clinically relevant mutant variants of human immunodeficiency virus type 1, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**, 2893–2897.
88. Corbett, J.W., Rodgers, J.D. (2002) Discovery of second generation quinazolinone non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors of HIV-1, *Prog. Med. Chem.*, **40**, 63–105.
89. Girardet, J.L., K.Y., Shaw, S., Kin, H.W. *Diaryl-purine, azapurines and -deazapurines as non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors for treatment of HIV*. 2006.
90. Lai, M.T., Feng, M., Falgueyret, J.P., Tawa, P., Witmer, M., DiStefano, D., Li, Y., Burch, J., Sachs, N., Lu, M., Cauchon, E., Campeau, L.C., Grobler, J., Yan, Y., Ducharme, Y., Cote, B., Asante-Appiah, E., Hazuda, D.J., Miller, M.D. (2014) In vitro characterization of MK-1439, a novel HIV-1 nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **58**, 1652–1663.
91. Ren, J., Chamberlain, P.P., Stamp, A., Short, S.A., Weaver, K.L., Romines, K.R., Hazen, R., Freeman, A., Ferris, R.G., Andrews, C.W., Boone, L., Chan, J.H., Stammers, D.K. (2008) Structural basis for the improved drug resistance profile of new generation benzophenone non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors, *J. Med. Chem.*, **51**, 5000–5008.
92. Tang, G., Kertesz, D.J., Yang, M., Lin, X., Wang, Z., Li, W., Qiu, Z., Chen, J., Mei, J., Chen, L., Mirzadegan, T., Harris, S.F., Villasenor, A.G., Fretland, J., Fitch, W.L., Hang, J.Q., Heilek, G., Klumpp, K. (2010) Exploration of piperidine-4-yl-aminopyrimidines as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. N-Phenyl derivatives with broad potency against resistant mutant viruses, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 6020–6023.
93. Chen, X., Liu, X., Meng, Q., Wang, D., Liu, H., De Clercq, E., Pannecouque, C., Balzarini, J. (2013) Novel piperidinylamino-diarylpyrimidine derivatives with dual structural conformations as potent HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **23**, 6593–6597.
94. Wan, Z.Y., Yao, J., Tao, Y., Mao, T.Q., Wang, X.L., Lu, Y.P., Wang, H.F., Yin, H., Wu, Y., Chen, F.E., De Clercq, E., Daelemans, D., Pannecouque, C. (2015) Discovery of piperidin-4-yl-aminopyrimidine derivatives as potent non-nucleoside HIV-1 reverse

- transcriptase inhibitors, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **97**, 1–9.
95. Miyasaka, T., Tanaka, H., Baba, M., Hayakawa, H., Walker, R.T., Balzarini, J., De Clercq, E. (1989) A novel lead for specific anti-HIV-1 agents: 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine, *J. Med. Chem.*, **32**, 2507–2509.
 96. Chen, W., Zhan, P., Wu, J., Li, Z., Liu, X. (2012) The development of HEPT-type HIV non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors and its implications for DABO family, *Curr. Pharm. Des.*, **18**, 4165–4186.
 97. Hopkins, A.L., Ren, J., Esnouf, R.M., Willcox, B.E., Jones, E.Y., Ross, C., Miyasaka, T., Walker, R.T., Tanaka, H., Stammers, D.K., Stuart, D.I. (1996) Complexes of HIV-1 reverse transcriptase with inhibitors of the HEPT series reveal conformational changes relevant to the design of potent non-nucleoside inhibitors, *J. Med. Chem.*, **39**, 1589–1600.
 98. Hopkins, A.L., Ren, J., Tanaka, H., Baba, M., Okamoto, M., Stuart, D.I., Stammers, D.K. (1999) Design of MKC-442 (emivirine) analogues with improved activity against drug-resistant HIV mutants, *J. Med. Chem.*, **42**, 4500–4505.
 99. Tanaka, H., Baba, M., Ubasawa, M., Takashima, H., Sekiya, K., Nitta, I., Shigeta, S., Walker, R.T., De Clercq, E., Miyasaka, T. (1991) Synthesis and anti-HIV activity of 2-, 3-, and 4-substituted analogues of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT), *J. Med. Chem.*, **34**, 1394–1399.
 100. Tang, J., Maddali, K., Dreis, C.D., Sham, Y.Y., Vince, R., Pommier, Y., Wang, Z. (2011) N-3 Hydroxylation of Pyrimidine-2, ,4-diones Yields Dual Inhibitors of HIV Reverse Transcriptase and Integrase, *ACS Med. Chem. Lett.*, **2**, 63–67.
 101. Tang, J., Maddali, K., Dreis, C.D., Sham, Y.Y., Vince, R., Pommier, Y., Wang, Z. (2011) 6-Benzoyl-3-hydroxypyrimidine-2, ,4-diones as dual inhibitors of HIV reverse transcriptase and integrase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **21**, 2400–2402.
 102. Tang, J., Maddali, K., Metifiot, M., Sham, Y.Y., Vince, R., Pommier, Y., Wang, Z. (2011) 3-Hydroxypyrimidine-2, ,4-diones as an inhibitor scaffold of HIV integrase, *J. Med. Chem.*, **54**, 2282–2292.
 103. Balzarini, J., Baba, M., De Clercq, E. (1995) Differential activities of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine derivatives against different human immunodeficiency virus type 1 mutant strains, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**, 998–1002.
 104. Tanaka, H., Takashima, H., Ubasawa, M., Sekiya, K., Nitta, I., Baba, M., Shigeta, S., Walker, R.T., De Clercq, E., Miyasaka, T. (1992) Synthesis and antiviral activity of deoxy analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT) as potent and selective anti-HIV-1 agents, *J. Med. Chem.*, **35**, 4713–4719.
 105. Baba, M., Shigeta, S., Tanaka, H., Miyasaka, T., Ubasawa, M., Umezū, K., Walker, R.T., Pauwels, R., De Clercq, E. (1992) Highly potent and selective inhibition of HIV-1 replication by 6-phenylthiouracil derivatives, *Antiviral. Res.*, **17**, 245–264.
 106. Kim, D.K., Gam, J., Kim, Y.W., Lim, J., Kim, H.T., Kim, K.H. (1997) Synthesis and anti-HIV-1 activity of a series of 1-alkoxy-5-alkyl-6-(arylthio)uracils, *J. Med. Chem.*, **40**, 2363–2373.

107. Kim, D.K., Gam, J., Kim, G., Lim, J., Lee, N., Kim, H.T., Kim, K.H. (1996) Synthesis and anti-HIV-1 activity of a series of 1-(alkoxymethyl)-5-alkyl-6-(arylselenenyl)uracil and -2-thiouracils, *J. Heterocycl. Chem.*, **33**, 1275–1283.
108. Tanaka, H., Takashima, H., Ubasawa, M., Sekiya, K., Inouye, N., Baba, M., Shigeta, S., Walker, R.T., De Clercq, E., Miyasaka, T. (1995) Synthesis and antiviral activity of 6-benzyl analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT) as potent and selective anti-HIV-1 agents, *J. Med. Chem.*, **38**, 2860–2865.
109. Mitchell, M.L., Son, J.C., Guo, H., Im, Y.A., Cho, E.J., Wang, J., Hayes, J., Wang, M., Paul, A., Lansdon, E.B., Chen, J.M., Graupe, D., Rhodes, G., He, G.X., Geleziunas, R., Xu, L., Kim, C.U. (2010) N1-Alkyl pyrimidinediones as non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 1589–1592.
110. Baba, M., Shigeta, S., Yuasa, S., Takashima, H., Sekiya, K., Ubasawa, M., Tanaka, H., Miyasaka, T., Walker, R.T., De Clercq, E. (1994) Preclinical evaluation of MKC-442, a highly potent and specific inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 in vitro, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **38**, 688–692.
111. Yuasa, S., Sadakata, Y., Takashima, H., Sekiya, K., Inouye, N., Ubasawa, M., Baba, M. (1993) Selective and synergistic inhibition of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase by a non-nucleoside inhibitor, MKC-442, *Mol. Pharmacol.*, **44**, 895–900.
112. Szczech, G.M., Furman, P., Painter, G.R., Barry, D.W., Borroto-Esoda, K., Grizzle, T.B., Blum, M.R., Sommadossi, J., Endoh, R., Niwa, T., Yamamoto, M., Moxham, C. (2000) Safety assessment, in vitro and in vivo, and pharmacokinetics of emivirine, a potent and selective nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor of human immunodeficiency virus type 1, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **44**, 123–130.
113. Tanaka, H., Baba, M., Hayakawa, H., Sakamaki, T., Miyasaka, T., Ubasawa, M., Takashima, H., Sekiya, K., Nitta, I., Shigeta, S., Walker, R.T., Balzarini, J., Declercq, E. (1991) A new class of HIV-1-specific 6-substituted acycloauridine derivatives: synthesis and anti-HIV-1 activity of 5- or 6-substituted analogues of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT), *J. Med. Chem.*, **34**, 349–357.
114. Goudgaon, N.M., Schinazi, R.F. (1991) Activity of acyclic 6-(phenylselenenyl)pyrimidine nucleosides against human immunodeficiency viruses in primary lymphocytes, *J. Med. Chem.*, **34**, 3305–3309.
115. Petersen, L., Jessen, C.H., Pedersen, E.B., Nielsen, C. (2003) Synthesis and evaluation of new potential HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. New analogues of MKC-442 containing Michael acceptors in the C-6 position, *Org. Biomol. Chem.*, **1**, 3541–3545.
116. Pan, H.C., Chen, C.Z., Piras, G., Dutschman, G.E., Rowe, E.C., Chen, Y.C., Chu, S.H. (1994) Synthesis and anti-HIV-1 activities of 6-arylthio and 6-arylselenoacyclonucleosides, *J. Heterocycl. Chem.*, **31**, 177–185.
117. Buckheit, R.W., Fliakas-Boltz, V., Decker, W.D., Roberson, J.L., Stup, T.L., Pyle, C.A., White, E.L., McMahon, J.B., Currens, M.J., Boyd, M.R., Bader, J.P. (1995) Comparative anti-HIV evaluation of diverse HIV-1-specific reverse

- transcriptase inhibitor-resistant virus isolates demonstrates the existence of distinct phenotypic subgroups, *Antiviral. Res.*, **26**, 117–132.
118. Meng, G., C.F., De Clercq, E., Dai, H.F. (2003) Interactive study between two types of 6-naphthyl methyl HEPT analogs and HIV-1 reverse transcriptase inhibitors, *Process Engineer. Chem.*, **1**, 23–27.
 119. Meng, G., Chen, F.E., De Clercq, E., Balzarini, J., Pannecouque, C. (2003) Nonnucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors: Part I. Synthesis and structure-activity relationship of 1-alkoxymethyl-5-alkyl-6-naphthylmethyl uracils as HEPT analogues, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **51**, 779–789.
 120. Sun, G.F., Chen, X.X., Chen, F.E., Wang, Y.P., De Clercq, E., Balzarini, J., Pannecouque, C. (2005) Nonnucleoside HIV-1 reverse-transcriptase inhibitors, part 5. Synthesis and anti-HIV-1 activity of novel 6-naphthylthio HEPT analogues, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **53**, 886–892.
 121. Ji, L., Chen, F.E., Xie, B., De Clercq, E., Balzarini, J., Pannecouque, C. (2007) Synthesis and anti-HIV activity evaluation of 1-[(alkenyl or alkynyl or alkyloxy)methyl]-5-alkyl-6-(1-naphthoyl)-2, 4-pyrimidinediones as novel non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.*, **42**, 198–204.
 122. Tanaka, H., Takashima, H., Ubasawa, M., Sekiya, K., Nitta, I., Baba, M., Shigeta, S., Walker, R.T., De Clercq, E., Miyasaka, T. (1992) Structure-activity relationships of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine analogues: effect of substitutions at the C-6 phenyl ring and at the C-5 position on anti-HIV-1 activity, *J. Med. Chem.*, **35**, 337–345.
 123. Gaudio, A.C., Montanari, C.A. (2002) HEPT derivatives as non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase: QSAR studies agree with the crystal structures, *J. Comput. Aided. Mol. Des.*, **16**, 287–295.
 124. Goudgaon, N., McMillan, A., Schinazi, R. (1992) 1-(Ethoxymethyl)-6-(phenylselenenyl) pyrimidines with activity against human immunodeficiency virus types 1 and 2. *Antivir. Antivir. Chem. Chemother.*, **3**, 263–266.
 125. Chiu, T.L., So, S.S. (2004) Development of neural network QSPR models for Hansch substituent constants. 2. Applications in QSAR studies of HIV-1 reverse transcriptase and dihydrofolate reductase inhibitors, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **44**, 154–160.
 126. Sorensen, E.R., El-Brollosy, N.R., Jorgensen, P.T., Pedersen, E.B., Nielsen, C. (2005) Synthesis of 6-(3, 5-dichlorobenzyl) derivatives as isosteric analogues of the HIV drug 6-(3, 5-dimethylbenzyl)-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (GCA-186), *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **338**, 299–304.
 127. El-Brollosy, N.R., Sorensen, E.R., Pedersen, E.B., Sanna, G., La Colla, P., Loddo, R. (2008) Synthesis and antiviral evaluation of 6-(trifluoromethylbenzyl) and 6-(fluorobenzyl) analogues of HIV drugs emivirine and GCA-186, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **341**, 9–19.
 128. Danel, K., Larsen, E., Pedersen, E.B., Vestergaard, B.F., Nielsen, C. (1996) Synthesis and potent anti-HIV-1 activity of novel 6-benzyluracil analogues of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine, *J. Med. Chem.*, **39**, 2427–2431.
 129. Buckheit, R.W., Jr., Watson, K., Fliakas-Boltz, V., Russell, J., Loftus,

- T.L., Osterling, M.C., Turpin, J.A., Pallansch, L.A., White, E.L., Lee, J.W., Lee, S.H., Oh, J.W., Kwon, H.S., Chung, S.G., Cho, E.H. (2001) SJ-3366, a unique and highly potent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) that also inhibits HIV-2, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 393–400.
130. Buckheit, R.W., Jr., Hartman, T.L., Watson, K.M., Kwon, H.S., Lee, S.H., Lee, J.W., Kang, D.W., Chung, S.G., Cho, E.H. (2007) The structure-activity relationships of 2,4(1H,3H)-pyrimidinedione derivatives as potent HIV type 1 and type 2 inhibitors, *Antivir. Chem. Chemother.*, **18**, 259–275.
131. Tanaka, H., Baba, M., Saito, S., Miyasaka, T., Takashima, H., Sekiya, K., Ubasawa, M., Nitta, I., Walker, R.T., Nakashima, H., Declercq, E. (1991) Specific anti-HIV-1 «acyclonucleosides» which cannot be phosphorylated: synthesis of some deoxy analogues of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine, *J. Med. Chem.*, **34**, 1508–1511.
132. El-Brollosy, N.R., Jorgensen, P.T., Dahan, B., Boel, A.M., Pedersen, E.B., Nielsen, C. (2002) Synthesis of novel N-1 (allyloxymethyl) analogues of 6-benzyl-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (MKC-442, emivirine) with improved activity against HIV-1 and its mutants, *J. Med. Chem.*, **45**, 5721–5726.
133. Hannongbua, S., Nivesanond, K., Lawtrakul, L., Pungpo, P., Wolschann, P. (2001) 3D-quantitative structure-activity relationships of HEPT derivatives as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors, based on Ab initio calculations, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **41**, 848–855.
134. Dueweke, T.J., Pushkarskaya, T., Poppe, S.M., Swaney, S.M., Zhao, J.Q., Chen, I.S., Stevenson, M., Tarpley, W.G. (1993) A mutation in reverse transcriptase of bis(heteroaryl)piperazine-resistant human immunodeficiency virus type 1 that confers increased sensitivity to other nonnucleoside inhibitors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **90**, 4713–4717.
135. Buckheit, R.W., Jr., Watson Buckheit, K., Sturdevant, C.B., Buckheit, R.W., 3rd (2013) Selection and characterization of viruses resistant to the dual acting pyrimidinedione entry and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor IQP-0410, *Antiviral. Res.*, **100**, 382–391.
136. El-Brollosy, N.R., Nielsen, C., Pedersen, E. (2005) Synthesis of N-1-(Indanyloxymethyl) and N-1-(4-hydroxybut-2-enyloxymethyl) analogues of the HIV drugs emivirine and GCA-186, *Monatsh. Chem.*, **136**, 1247–1254.
137. Pontikis, R., Benhida, R., Aubertin, A.M., Grierson, D.S., Monneret, C. (1997) Synthesis and anti-HIV activity of novel N-1 side chain-modified analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT), *J. Med. Chem.*, **40**, 1845–1854.
138. Cho, E.H., Chung, Kim, J.Y., Lee, S.H., Kwon, H.S., Lee, J.E., Joo, J.H., Kim, B.C., Kang, D.W. *Antiviral substituted pyrimidinedione homocarbocyclic nucleoside derivatives and methods for the preparation thereof and compositions containing the same as active ingredients*. 1999.
139. Guo, H.K., Lee, Lee, I.Y., Mitchell, M.L., Son, J.C., Xu, L. *The novel HIV reverse transcriptase inhibitors*. 2008.

140. Mitchell, M.L., Son, J.C., Lee, I.Y., Lee, C.K., Kim, H.S., Guo, H., Wang, J., Hayes, J., Wang, A., Paul, E.B., Lansdon, J.M., Chen, G., Eisenberg, R., Geleziunas, L. Xu, Kim, C.U. (2010) N1-Heterocyclic pyrimidinediones as non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 1585–1588.
141. Son, J.C., Kim, S.K., Lee, C.K., Kim, H.S. *Antiviral 2, 4-pyrimidinedione derivatives and process for the preparation thereof*. 2004.
142. De Clercq, E., (1994) Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), *Exp. Opin. Invest. Drugs*, **3**, 253–271.
143. Mai, A., Artico, M., Sbardella, G., Quartarone, S., Massa, S., Loi, A.G., De Montis, A., Scintu, F., Putzolu, M., La Colla, P. (1997) Dihydro(alkylthio)(naphthylmethyl)oxypyrimidines: novel non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors of the S-DABO series, *J. Med. Chem.*, **40**, 1447–1454.
144. Tramontano, E., Marongiu, M.E., de Montis, A., Loi, A.G., Artico, M., Massa, S., Mai, A., la Colla, P. (1994) Characterization of the anti-HIV-1 activity of 3, 4-dihydro-2-alkoxy-6-benzyl-4-oxypyrimidines (DABOs), new non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, *New Microbiol.*, **17**, 269–279.
145. Artico, M., Massa, S., Mai, A., Marongiu, M.E., Piras, G., Tramontano, E., Lacolla, P., (1993) 3,4-Dihydro-2-alkoxy-6-benzyl-4-oxypyrimidines (DABOs): A New Class of Specific Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type 1, *Antiviral Chem. Chemother.*, **4**, 361–368.
146. Massa S, **M.A.**, Artico, M., Sbardella, G., Tramontano, E., Loi, A.G., Scano, P., La Colla, P. (1995) Synthesis and Antiviral Activity of New 3, 4-Dihydro-2-alkoxy-6-benzyl-4-oxypyrimidines (DABOs), Specific Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type-1, *Antiviral Chem. Chemother.*, **6**, 1–8.
147. Manetti, F., Este, J.A., Clotet-Codina, I., Armand-Ugon, M., Maga, G., Crespan, E., Cancio, R., Mugnaini, C., Bernardini, C., Togninelli, A., Carmi, C., Alongi, M., Petricci, E., Massa, S., Corelli, F., Botta, M. (2005) Parallel solution-phase and microwave-assisted synthesis of new S-DABO derivatives endowed with subnanomolar anti-HIV-1 activity, *J. Med. Chem.*, **48**, 8000–8008.
148. Zhang, X.J., Lu, L.H., Wang, R.R., Wang, Y.P., Luo, R.H., Cong Lai, C., Yang, L.M., He, Y.P., Zheng, Y.T. (2013) DB-02, a C-6-cyclohexylmethyl substituted pyrimidinone HIV-1 reverse transcriptase inhibitor with nanomolar activity, displays an improved sensitivity against K103N or Y181C than S-DABOs, *PLoS One*, **8**, e81489.
149. Mai, A., Artico, M., Sbardella, G., Massa, S., Novellino, E., Greco, G., Loi, A.G., Tramontano, E., Marongiu, M.E., La Colla, P. (1999) 5-Alkyl-2-(alkylthio)-6-(2, 6-dihalophenylmethyl)-3, 4-dihydropyrimidin-4(3H)-ones: novel potent and selective dihydro-alkoxy-benzyl-oxypyrimidine derivatives, *J. Med. Chem.*, **42**, 619–627.
150. Sbardella, G., Mai, A., Artico, M., Chimenti, P., Massa, S., Loddo, R., Marongiu, M.E., La Colla, P., Pani, A. (2001) Structure-activity relationship studies on new DABOs: effect of substitutions at pyrimidine C-5 and C-6 positions on anti-HIV-1 activity, *Antivir. Chem. Chemother.*, **12**, 37–50.
151. Quaglia, M., Mai, A., Sbardella, G., Artico, M., Ragno, R., Massa,

- S., del Piano, D., Setzu, G., Doratiotto, S., Cotichini, V. (2001) Chiral resolution and molecular modeling investigation of rac-2-cyclopentylthio-6-[1-(2, 6-difluorophenyl)ethyl]-3, 4-dihydro-5-methylpyrimidin-4(3H)-one (MC-1047), a potent anti-HIV-1 reverse transcriptase agent of the DABO class, *Chirality*, **13**, 75–80.
152. Mai, A., Sbardella, G., Artico, M., Ragno, R., Massa, S., Novellino, E., Greco, G., Lavecchia, A., Musiu, C., La Colla, M., Murgioni, C., La Colla, P., Loddo, R. (2001) Structure-based design, synthesis, and biological evaluation of conformationally restricted novel 2-alkylthio-6-[1-(2, 6-difluorophenyl)alkyl]-3, 4-dihydro-5-alkylpyrimidin-4(3H)-ones as non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase, *J. Med. Chem.*, **44**, 2544–2554.
153. Ragno, R., Mai, A., Sbardella, G., Artico, M., Massa, S., Musiu, C., Mura, M., Marturana, F., Cadeddu, A., La Colla, P. (2004) Computer-aided design, synthesis, and anti-HIV-1 activity in vitro of 2-alkylamino-6-[1-(2, 6-difluorophenyl)alkyl]-3, 4-dihydro-5-alkylpyrimidin-4(3H)-ones as novel potent non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, also active against the Y181C variant, *J. Med. Chem.*, **47**, 928–934.
154. Mai, A., Artico, M., Ragno, R., Sbardella, G., Massa, S., Musiu, C., Mura, M., Marturana, F., Cadeddu, A., Maga, G., La Colla, P. (2005) 5-Alkyl-2-alkylamino-6-(2, 6-difluorophenylalkyl)-3, 4-dihydropyrimidin-4(3H)-ones, a new series of potent, broad-spectrum non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors belonging to the DABO family, *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 2065–2077.
155. Mai, A., Artico, M., Rotili, D., Tarantino, D., Clotet-Codina, I., Armand-Ugon, M., Ragno, R., Simeoni, S., Sbardella, G., Nawrozki, M.B., Samuele, A., Maga, G., Este, J.A. (2007) Synthesis and biological properties of novel 2-aminopyrimidin-4(3H)-ones highly potent against HIV-1 mutant strains, *J. Med. Chem.*, **50**, 5412–5424.
156. Loksha, Y.M., Pedersen, E.B., Loddo, R., La Colla, P. (2016) Synthesis and Anti-HIV-1 Evaluation of Some Novel MC-1220 Analogs as Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **349**, 363–372.
157. Mugnaini, C., Alongi, M., Togninelli, A., Gevariya, H., Brizzi, A., Manetti, F., Bernardini, C., Angeli, L., Tafi, A., Bellucci, L., Corelli, F., Massa, S., Maga, G., Samuele, A., Facchini, M., Clotet-Codina, I., Armand-Ugon, M., Este, J.A., Botta, M. (2007) Dihydro-alkylthio-benzyl-oxypyrimidines as inhibitors of reverse transcriptase: synthesis and rationalization of the biological data on both wild-type enzyme and relevant clinical mutants, *J. Med. Chem.*, **50**, 6580–6595.
158. He, Y., Chen, F., Sun, G., Wang, Y., De Clercq, E., Balzarini, J., Pannecouque, C. (2004) 5-Alkyl-2-[(aryl and alkyloxycarbonylmethyl)thio]-6-(1-naphthylmethyl) pyrimidin-4(3H)-ones as a unique HIV reverse transcriptase inhibitors of S-DABO series, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 3173–3176.
159. Nawrozki, M.B., Rotili, D., Tarantino, D., Botta, G., Eremiychuk, A.S., Musmuca, I., Ragno, R., Samuele, A., Zanolini, S., Armand-Ugon, M., Clotet-Codina, I., Novakov, I.A., Orlinson, B.S., Maga, G., Este, J.A., Artico, M., Mai, A. (2008) 5-Alkyl-6-benzyl-

- 2-(2-oxo-2-phenylethylsulfanyl) pyrimidin-4(3H)-ones, a series of anti-HIV-1 agents of the dihydro-alkoxy-benzyl-oxopyrimidine family with peculiar structure-activity relationship profile, *J. Med. Chem.*, **51**, 4641–4652.
160. Yu, M., Liu, X., Li, Z., Liu, S., Pannecouque, C., Clercq, E.D. (2009) Synthesis and biological evaluation of novel 2-(substituted phenylaminocarbonylmethylthio)-6-(2,6-dichlorobenzyl)-pyrimidin-4(3H)-ones as potent HIV-1 NNRTIs, *Bioorg. Med. Chem.*, **17**, 7749–7754.