

Diseño y Desarrollo de Nuevos Fármacos anti-SIDA

Arturo San Feliciano, Esther del Olmo, José Luís López-Pérez

Departamento de Química Farmacéutica. Facultad de Farmacia. CISET. Universidad de Salamanca. España. Conferencia impartida en el Taller: "Actualidad Terapéutica en Enfermedades Tropicales" celebrado en el CISET-Universidad de Salamanca, el 12 de Noviembre de 2004

Correspondencia:

Arturo San Feliciano

Departamento de Química Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Campus Unamuno. 37007-Salamanca. E-mail: asf@usal.es

Resumen

En esta revisión se describen los agentes quimioterápicos actualmente disponibles frente al SIDA, presentando los aspectos estructurales y químicos de los fármacos en uso, sus deficiencias y lagunas farmacológicas y los compuestos con actividad contrastada, que se encuentran en distintas fases de desarrollo, para terminar examinando las perspectivas de alcanzar una situación más eficaz en la terapéutica del síndrome y una mejor calidad de vida en los pacientes.

Palabras clave: SIDA. Fármacos anti-VIH. Diseño. Desarrollo. Perspectivas.

Summary

In this review a description is presented on the currently available chemotherapeutic agents against AIDS, focused on their structural and chemical aspects, their pitfalls and pharmacological deficiencies. Also, the new anti-HIV compounds displaying a confirmed activity and being in different stages of development will be considered. Finally, future perspectives for attaining a better therapeutic status and an improved quality of life for AIDS patients will be examined.

Key words: AIDS. Anti-HIV drugs. Design. Development. Perspective.

Fármacos Anti-SIDA en uso clínico

Como se ha mencionado en un artículo precedente de los Drs. Alcamí y Bedoya, se hallan autorizados actualmente para uso clínico, bastantes fármacos anti-SIDA que actúan como *Inhibidores de la Transcriptasa Inversa (RTI: Reverse Transcriptase Inhibitors)* del VIH; también otros que son *Inhibidores de la Proteasa aspártica (PI: Protease Inhibitors)* del virus y, hasta el momento, un solo agente que actúa como *Inhibidor de la fusión (FI: Fusion Inhibitor)* del virus con la célula que va a ser infectada.

Dentro del grupo de los *RTI*, los compuestos en uso se agrupan en dos bloques sustancialmente diferentes, en función de la estructura que presentan; distinguiéndose, por una parte, los fármacos *NRTI*, con estructuras que se aproximan bastante a las de los nucleósidos, constituyentes ordinarios del virus y de la propia célula y, por otra parte, aquellos que no tienen un parentesco estructural claro con los nucleósidos y que se denominan no nucleosídicos (*NNRTI Non Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors*).

Los elementos de cada grupo que han sido aprobados por la FDA (*Food and Drug Administration*) de los Estados Unidos, con sus dominaciones internacionales y sinonimias aparecen clasificados en la Tabla 1¹. De la mayoría de estos fármacos se han elaborado preparaciones farmacéuticas simples, para poder ser administradas por vía oral y parenteral y también asociaciones con otros fármacos o compuestos adyuvantes y simultáneamente, se han desarrollado otros medicamentos, que se aplican para tratar o paliar las enfermedades oportunistas concomitantes, las manifestaciones secundarias principales del propio SIDA, o los efectos adversos que el tratamiento antiviral conlleva (anemia, neutropenia, anorexia, diarrea, pérdida de peso, etc.)².

Inhibidores nucleosídicos de transcriptasa inversa. NRTIs.

Desde el punto de vista estructural, los *NRTIs* son próximos o muy próximos a los nucleósidos y nucleótidos presentes en los ácidos nucleicos ordinarios, por otra parte comunes para el virus y para la célula.

En virtud de las modificaciones estructurales sobre la parte de la base nucleica o sobre la parte del carbohidrato, se configuran tres tipos de antimetabolitos:

1. Compuestos con Base pirimidínica o purínica natural (B) y unidad Glicosídica (G') diferente de ribosa o desoxirribosa: configuración B-G'.
2. Compuestos con base pirimidínica o purínica modificada (B') y unidad glicosídica natural de ribosa o desoxirribosa (G): configuración B'-G.
3. Compuestos con bases nucleicas modificadas (B') y carbohidratos distintos de ribosa y desoxirribosa (G'): configuración B'-G'.

Los tres tipos de configuraciones se han obtenido en numerosas sustancias representativas; si bien las más útiles frente al VIH han resultado ser las configuraciones B-G', en las cuales una base nucleica natural se conjuga con un carbohidrato aparente; mientras que no se ha aprobado aún para uso clínico ningún compuesto del tipo B'-G. En este sentido, hay que hacer notar que, mientras la parte correspondiente a la base B' presenta una proximidad estructural grande con las bases nucleicas naturales, la parte correspondiente a G' puede estar estructuralmente muy alejada de la unidad de desoxirribosa y de hecho ya se ha configurado una subclase de *NRTIs*, en la que se incluye el agente clínico tenofovir cicloproximo, que más adecuadamente se denomina de *análogos acíclicos* de nucleósidos. En la Figura 1 aparecen recogidas las asociaciones men-

cionadas, junto con las variantes principales de las bases y de los carbohidratos o sustitutos que aparecen en inhibidores potenciales de TI y con las estructuras de los fármacos en uso clínico.

Mecanicamente, los NRTIs se comportan como antimetabolitos de los nucleósidos originales, asociándose competitivamente, o no, con las enzimas que facilitan la síntesis o las evoluciones nucleicas, inhibiendo su función o consiguiendo suplantar al nucleósido natural e incorporándose subrepticamente en el metabolismo patogénico, para que el sistema genere nucleósidos extraños, no funcionales, que posteriormente provoquen la no viabilidad del virus o de la célula infectada.

En realidad, la estrategia para la generación de estos antimetabolitos es, en términos estructurales, común con la establecida para los fármacos antineoplásicos. De hecho la zidovudina, el primer NRTI utilizado en clínica frente al SIDA, fue sintetizado y ensayado como posible agente anticanceroso más de veinte años antes³.

La aplicabilidad terapéutica de sustancias de este tipo como agentes anti-SIDA, radica fundamentalmente en el hecho de su eficacia concreta anti-transcriptasa inversa, que es una diana específica de los retrovirus y el mayor éxito clínico de estos fármacos procedería de su selectividad frente a la TI, lo que equivaldría a su índice terapéutico, calculado *in vitro* (IT*). Pues bien, los cálculos indican que los NRTIs en uso, presentan valores de IT* entre 385 (abacavir) y 9100 (zalcitabina), con mejora muy sustancial de este índice en el fosfonoderivado tenofovir, en el que alcanza un valor superior a 72500; de lo cual se deduce que, bien la parte G', estructuralmente bastante diferente de la desoxirribosa, o bien la presencia del fosfonato, o probablemente ambos factores conjuntamente, serían los causantes de la disminución muy considerable de la toxicidad celular de este NRTI con respecto a los de generaciones anteriores.

Inhibidores no nucleosídicos de transcriptasa inversa. NNRTIs

Los inhibidores de TI sin parentesco estructural con los nucleósidos que han sido autorizados para uso clínico (Figura 2) son nevirapina⁴, delavirdina⁵ y efavirenz⁶. Como puede observarse, estos compuestos apenas tienen características estructurales comunes y se desarrollaron independientemente. La nevirapina, es una bispiridodiazepinona, que demostró su selectividad no competitiva frente a TI de VIH-1 humano y no fue activa frente VIH de simios ni felinos, ni tampoco frente a polimerasas de ADN en mamíferos. La delavirdina, procede del desarrollo de bisheteroarilpiperazinas; constituyó el derivado clínicamente más útil de los compuestos relacionados con la atevirdina, de la cual se llegaron a llevar a cabo ensayos clínicos de Fase II y que había sido descubierta mediante screening virtual computarizado por investigadores de la compañía Upjohn. El efavirenz contiene un sistema de benzoxazinona, que en realidad corresponde a un carbamato cíclico de un derivado de alcohol antranílico; su introducción en clínica estuvo motivada, además de por su potencia anti transcriptasa, por su efecto sobre estirpes resistentes a otros NNRTIs y por su buen perfil farmacocinético. Los tres fármacos son inhibidores potentes de la TI, destacando su índice terapéutico *in vitro* (IT*), entre 8 000 (nevirapina) y más de 100 000 (delavirdina), que les convierte en agentes terapéuticos, en principio, menos tóxicos y fundamentalmente más selectivos que los inhibidores nucleosídicos.

Podría considerarse que la causa de esa menor toxicidad relativa estaría justificada, precisamente, por el propio alejamiento estructural de los

Tabla 1. Agentes terapéuticos anti-SIDA aprobados por la FDA-USA (Sept. 2004)

| Inhibidores de Transcriptasa Inversa análogos de Nucleósidos (NRTI) | Inhibidores de la Proteasa aspártica (PI) |
|---|--|
| Zidovudina; AZT; Azidotimidina; Didanosina; Didesoxiinosina; ddI; Zalcitabina; Dideoxycitidina; ddC; Lamivudina; 3TC; emtricitabina Estavudina; Dideshidrodesoxitimidina; Abacavir succinato; ABC succinato; Tenofovir disoproxilo (Fumarato) Emtricitabina; FTC | Saquinavir; Ro 31-8959; Indinavir; MK639; L 735,524; Ritonavir; ABT-538; Nelfinavir; AG-1343 Amprenavir; VX-478; 141W94 Lopinavir; ABT-378; Tenofovir + Ritonavir; Azatanavir Fosamprenavir |
| Inhibidores de Transcriptasa Inversa No-Nucleósidos (NNRTI) | Inhibidores de la Fusión (FI) |
| Nevirapina; BI-RG-587; Delavirdina; BHAP; U-90152; Efavirenz; DMP-266; | Enfuvirtide; Fuzeon, Pentafuside, T20; |

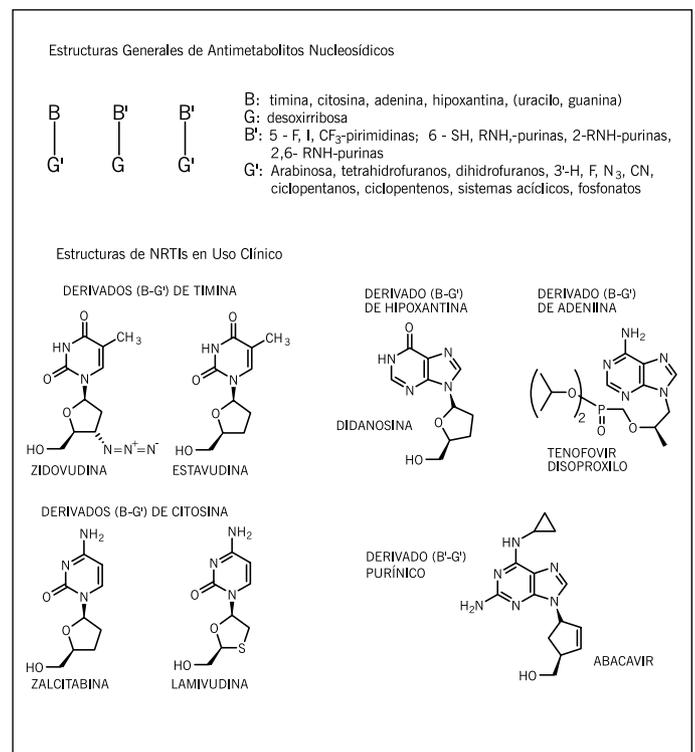


Figura 1. Aspectos Estructurales de Antimetabolitos NRTI anti-SIDA

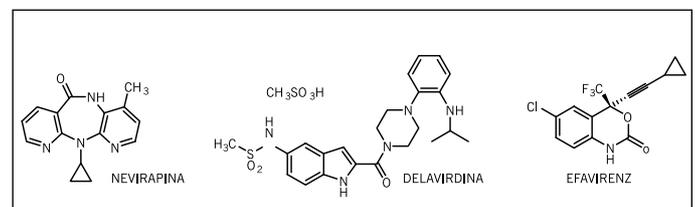


Figura 2. Estructuras de Inhibidores no nucleosídicos de transcriptasa inversa (NNRTIs)

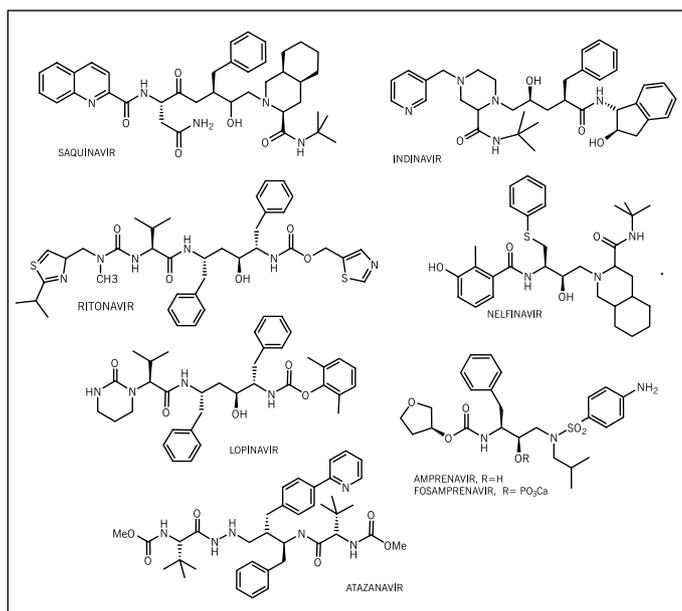


Figura 3. Estructuras de Inhibidores de la Proteasa Aspártica (PIs)

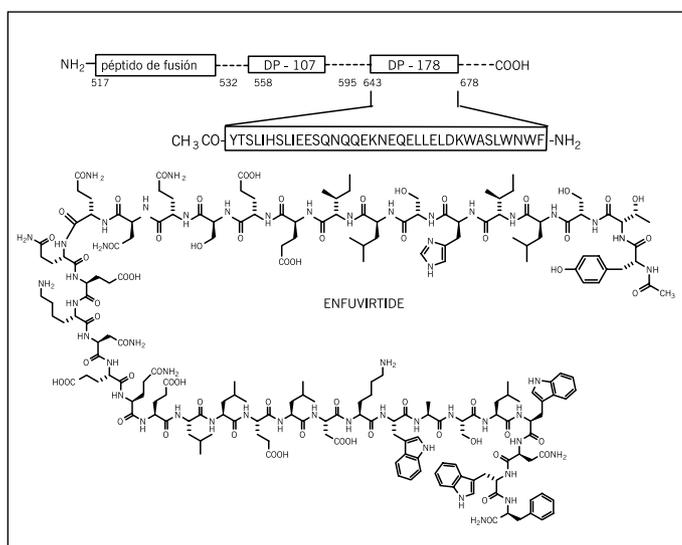


Figura 4. Unidad polipeptídica base del inhibidor de fusión de VIH, enfuvirtide y su estructura. Modificado de refs. 16 y 17

nucleósidos, lo que podría evitar su interferencia en la síntesis y modulación de la función de los ácidos nucleicos de la célula o el organismo hospedador.

Inhibidores de la Proteasa Aspártica, PIs

La Proteasa Aspártica procesa algunas proteínas estructurales y funcionales indispensables para el VIH y el desarrollo de agentes terapéuticos basados en su inhibición comenzó al principio de los noventa, después de su

aislamiento, clonación y varios estudios estructurales del sitio activo, con el establecimiento de la estructura cristalina de su complejo con acetilpeptstatina, un inhibidor común de peptidasas, mediante difracción de Rayos X⁷. Después de unos trabajos y ensayos muy intensos, a finales de 1995 se produjo la autorización clínica de saquinavir⁸ y en seguida la de otros dos inhibidores reversibles de la proteasa, indinavir⁹ y ritonavir¹⁰. Los tres son de naturaleza peptidomimética y se habían diseñado como bioisómeros estables de la acetilpeptstatina, sustituyendo el enlace amida, hidrolizable por la proteasa, por agrupaciones de hidroxietilamina, no hidrolizables por el centro bis aspártico de aquella; manteniendo, no obstante, los radicales de los aminoácidos del inhibidor original en el entorno reconocible por el centro activo de la enzima. Con posterioridad a estos primeros medicamentos se autorizaron nelfinavir¹¹, lopinavir¹² y amprenavir¹³, que fueron desarrollados con el mismo modelo peptidomimético, pero utilizando en el primer caso una estrategia de cálculo iterativo de estructuras peptídicas para el diseño. También se autorizaron más recientemente atazanavir¹⁴, con una distribución funcional casi simétrica y utilizable en dosis diaria única, la asociación ritonavir - lopinavir para el tratamiento del VIH resistente al primero de ellos y más recientemente el profármaco fosfato de amprenavir, fosamprenavir, en forma de sal cálcica.

En la Tabla 1 aparecen los nombres de los fármacos de este grupo, que han sido autorizados hasta el momento, en forma de preparados simples o asociaciones para uso clínico, y sus estructuras moleculares se presentan en la Figura 3.

El índice terapéutico *in vitro* IT* de estos compuestos, oscila entre aproximadamente 1000 (nelfinavir) y 50000 (saquinavir), lo que indica que son sustancias bastante o muy selectivas. Se pueden efectuar algunas comparaciones estructurales entre los primeros elementos de esta familia de fármacos y los introducidos más recientemente. Como primera apreciación, cabe notar que en los compuestos de desarrollo más antiguo, el grupo hidroxilo se encuentra flanqueado por dos grupos de amina terciaria o amida en posiciones β y γ o δ del hidroxilo principal; mientras que en los más modernos se tiende a duplicar la agrupación aminoétilo, que se localiza a ambos lados y en forma aproximadamente simétrica respecto de aquel. También puede apreciarse que el tamaño molecular es menor en los compuestos modernos y que la parte moduladora de la cinética del fármaco es también más simple.

Inhibidores de la Fusión Viral. FIs

La fusión es la etapa principal de la fase de infección. En ella, la envoltura del virus, ya adherido a la membrana celular y facilitado por el denominado péptido de fusión, se abre para liberar la cápsula viral en el citoplasma. Hasta el momento presente, sólo se ha autorizado el uso clínico de enfuvirtide (pentafuside)¹⁵ como inhibidor de la fusión del VIH. Este agente terapéutico, es de naturaleza polipeptídica y corresponde, en realidad, a un fragmento de 36 aminoácidos del precursor glicoproteico gp160 y de la glicoproteína viral gp41 (Figura 4), denominado DP-178, con una masa de más de 4000 Da. Fue sintetizado químicamente y limitado en el extremo amina por un grupo acetilo y como amida en el extremo carboxílico; de manera que podría representarse por Ac-DP178-NH₂ (Figura 4). Se cree que actúa perturbando el cambio conformacional necesario para la fusión de la proteína gp41^{16,17}.

Deficiencias y efectos secundarios de los fármacos en uso clínico

Aunque la situación terapéutica del SIDA, basada en la combinación de dos o tres fármacos, configurando la técnica terapéutica TARGA (HAART,

Highly Active Anti-Retroviral Therapy), que actúan por mecanismos complementarios o que refuerzan o sinergizan su acción sobre un mecanismo determinado, puede considerarse aceptable, porque ha conseguido transformar una patología mortal en una patología crónica, aunque sea así sólo en los países desarrollados, en los que se tiene acceso a los agentes anti-SIDA y también a los medicamentos capaces de combatir las infecciones oportunistas y los agentes complementarios que ayudan a paliar los efectos adversos del tratamiento TARGA; la situación de extraordinaria diseminación contagiosa de la enfermedad, la aparición continuada de resistencias a los fármacos disponibles y nuevos (Tabla 2)¹⁸ y la escasez de recursos para combatirla en la mayoría de los países más afectados, ha conducido a cifras de mortalidad (más de tres millones de fallecidos durante 2004), morbilidad (casi 40 millones de afectados) y nuevas infecciones (unos 5 millones de nuevos casos en 2004)¹⁹, que son suficientes para considerar que el SIDA se está convirtiendo en una de las pandemias mayores de todos los tiempos y que indirectamente llegará a constituirse en un auténtico control discriminatorio de la población mundial.

Particularmente trágica resulta la asociación SIDA-Tuberculosis que multiplica las resistencias a los fármacos de una y otra patología y conduce casi con seguridad a la muerte de los afectados sin recursos²⁰.

Como ejemplo, en relación con resistencias detectadas a los diversos NRTIs en una sola sede hospitalaria, véanse los contenidos de la Tabla 2. Como puede observarse se han encontrado cepas, como la 41, la 219 o, particularmente, la 69SS, que son resistentes, en mayor o menor grado, a todos los NRTIs incluidos en la tabla y cabe resaltar que, recientemente, se ha detectado que las mutaciones de resistencia se producen también en pacientes con bajos niveles de viremia²¹.

En términos terapéuticos clínicos, es clara la necesidad de desarrollar nuevos agentes con mayor eficacia y utilidad y menores efectos indeseables, debido a la toxicidad intrínseca de los medicamentos en uso y al desarrollo rápido de resistencias por el virus. A estos aspectos hay que añadir las deficiencias farmacológicas motivadas por la mala absorción y una farmacocinética, necesitada de mejoras en muchos casos, y a la gran variedad e importancia de los efectos secundarios observados. Alteran el metabolismo lipídico, provocando lipodistrofia y dislipemia (con incrementos significativos del colesterol total y el asociado a lipoproteínas de baja densidad, LDL-C), afectan al hígado y al sistema cardiovascular (provocan incrementos de más del 25% de infartos/año respecto de los controles), provocan neuropatías, náuseas, vómitos y otros trastornos gastrointestinales y, entre otros efectos, algunos fármacos pueden llegar a generar resistencia a la insulina, en hasta el 85% de los pacientes diabéticos e incluso a inducir la diabetes hasta en el 6% de ellos.

Como ejemplo, véase la Tabla 3, en la que se reproducen datos de algunos efectos adversos de los PIs y puede apreciarse que con la excepción de fosamprenavir, todos los fármacos incluidos en la tabla provocan disturbios gastrointestinales que afectan a más del 10% de los pacientes tratados²².

Desarrollo de nuevos fármacos anti-VIH

El hecho de que los países más desarrollados se hayan visto también afectados por la epidemia, sumado con las deficiencias terapéuticas y farmacológica ya mencionadas, de los agentes terapéuticos en uso, las características particulares y casi inabordables hasta hoy de la resistencia y otros aspectos del VIH, su implicación con otras patologías trascendentes y, naturalmente, los aspectos económicos involucrados en el avance terapéutico anti-SIDA, motivan que el esfuerzo investigador y

Tabla 2. Resistencia y multiresistencia a NRTIs*

* Modificado de ref. 18, **Véanse acrónimos en Tabla 1

| Cepa VIH | Fármaco | | | | | | |
|----------|---------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | AZT** | D4T | TDF | ABC | DDI | 3TC | FTC |
| 41 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 67 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 210 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 215 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 219 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 184 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 69 | ★ | ★ | ★ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 65 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 74 | ★ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 75TM | ★ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 62 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 75I | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 69SS | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |

(++++ ← mayor grado de resistencia (----) Hipersensibilidad

Tabla 3. Efectos adversos gastrointestinales asociados a los PIs*

| Efecto adverso | Dosis (mg/día) | | | | | | |
|--------------------|----------------|-------------------|------------|-------------|------------------|-------------|-------------|
| | FPV 2800 | FPV/R 1400/200 | ATV 400 | IDV 2400 | LPV/R 800/200 | NFV 2500 | SQV 1800 |
| Dolor abdomen | 1% | 1% | 6% | 17% | 4% | - | 2% |
| Diarrea | 5% | 13% | 6% | 3% | 16% | 20% | 20% |
| Náusea | 5% | 3% | 16% | 12% | 7% | 2% | 11% |
| Dolor de cabeza | 2% | 4% | 14% | 5% | 2% | - | 5% |
| Picor | 8% | 3% | 9% | 1% | 1% | 1% | - |
| Nefrolitiasis | - | - | - | 9% | - | - | - |
| indicadores | | | | | | | |
| incremento ALT | 6% | 4% | 6% | 7% | 7% | 1% | 2% |
| Bilirrubina | - | - | 22% | 12% | 3% | - | 2% |

FPV: fosamprenavir; FPV/R: fosamprenavir/ritonavir; ATV: atazanavir; IDV: indinavir; LPV/R: lopinavir/ritonavir; NFV: nelfinavir; SQV: saquinavir; ALT: alanina transaminasa. *modificada de ref²²

económico que se está haciendo para el desarrollo de nuevos antiretrovirales constituya un proceso en progresión continua. Este desarrollo, actualmente, se encuentra enfocado tanto hacia las dianas vitales del propio virus, incluidas las que ya cuentan con agentes aplicables en clínica y a otras nuevas, descubiertas recientemente, como hacia los factores de la célula infectada que resultan indispensables para cerrar el ciclo de replicación, desarrollo y diseminación del virus.

Los objetivos del desarrollo de nuevos agentes terapéuticos anti-SIDA se enfocan hacia dos finalidades diferentes:

- Mejorar los agentes actuales, por medio de la quimiomodulación y la generación de análogos, para obtener compuestos con mayor

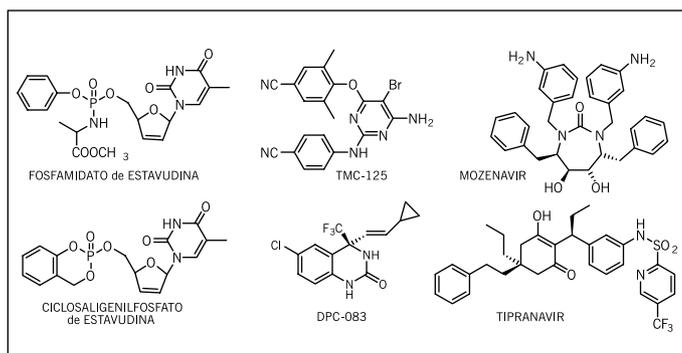


Figura 5. Resistencia y multiresistencia a NRTIs*

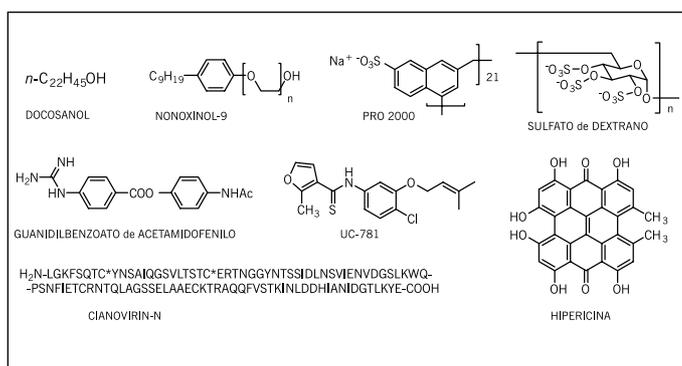


Figura 6. Estructuras de algunos compuestos virucidas frente a VIH

actividad intrínseca, menor toxicidad, mejor farmacocinética (profármacos y formas de liberación controlada), mejor actividad frente a VIHs resistentes y con menores efectos secundarios.

- Desarrollar nuevos tipos de agentes activos, por medio del Diseño o Descubrimiento de compuestos, que puedan actuar selectivamente sobre las dianas virales o celulares conocidas.

En lo referente a las mejoras, entre los centenares de compuestos que han demostrado actividad, puede mencionarse que se están logrando algunas importantes. Ciertos NRTIs, en fases avanzadas de desarrollo clínico, como los pronucleótidos de tipo fosforamidato²³ y los ciclosaligenilos de nucleósidos²⁴ no sufren el paso de fosforilación de los análogos nucleosídicos, mejorando con ello sus características metabólicas y disminuyendo los daños hepáticos y renales. Los NNRTIs de 2ª y 3ª generación, como dapivirina (TMC-125) y DPC-083²⁵, de estructura muy próxima a la de efavirenz, son activos frente a cepas resistentes de VIH. En cuanto a los PIs, Los derivados cíclicos de urea (mozenavir)²⁶ y de 4-hidroxipirona (tipranavir)²⁷, contienen nuevo esqueleto no peptidomimético y podrán ser útiles frente a mutantes de VIH que hayan resultado resistentes a los inhibidores peptidomiméticos (Figura 5).

En relación con el diseño y descubrimiento de nuevos compuestos, las numerosas sustancias con actividad anti-VIH descritas en los últimos años, abarcan prácticamente todas las etapas del ciclo viral: adhesión, entrada, fusión, transcripción inversa, integración, transactivación, maduración y liberación y se enfocan, como se ha mencionado, hacia dianas celulares o hacia dianas específicas del propio virus²⁸.

Para las dianas virales, además de las ya bien establecidas transcriptasa inversa y proteasa, se han identificado otras muchas, entre las cuales destacan los receptores externos o de anclaje del virus, considerados como posible objetivo para bloquear la infectividad y los receptores internos, entre los que destacan, porque ya han sido objeto de desarrollo de fármacos antivirales, los que promueven la desencapsulación, la integración viral, la proteína de transactivación Tat y los eyectores de Zinc, principalmente.

Entre las dianas celulares, se agrupan las correspondientes a receptores, enzimas y cofactores de superficie y de membrana, que tienen relevancia fundamental en la infección y, por otro lado, las intracelulares, que participan o colaboran en la replicación, el desarrollo y maduración del virus.

Se han descrito algunos compuestos denominados “virucidas”, capaces de desactivar el virus antes o después de que se produzca la interacción con la célula a infectar, cuyo efecto puede asociarse a su toxicidad (reactividad) intrínseca para el virus, a una posible interacción múltiple o simultánea con varias dianas virales o a una interacción de bloqueo irreversible con alguna diana vital para el virus. Los compuestos virucidas tienen gran interés; ya que podrían utilizarse como agentes profilácticos para impedir la transmisión sexual o en otras circunstancias de riesgo infeccioso. Las estructuras de algunos de ellos se presentan en la Figura 6. En la mayoría de estos compuestos, el efecto virucida se produce como consecuencia de que constituyen una barrera frente a la infección, al asociarse a receptores de la superficie del virus o de la célula.

El *n*-docosanol es activo después de una preincubación, lo que indica que previsiblemente actúa a través de uno de sus metabolitos²⁹. El nonoxinol-9 y el guanidilbenzoato son anticonceptivos vaginales con propiedades virucidas³⁰. El sulfato de dextrano³¹ y el PRO 2000³² tienen carácter de detergentes aniónicos; el primero se une también a la proteína gp120, que es una glicoproteína de la envoltura que interviene en las primeras etapas de la infección interaccionando con los receptores celulares CD4, con la cooperación de correceptores CCR5 y CXCR4. El compuesto PRO 2000 tiene espectro amplio y también perturba la interacción gp-120/CD4. El compuesto UC-781 se une fuertemente, posiblemente de forma irreversible a la TI, inactivando el VIH y se ha propuesto como agente para evitar la transmisión sexual³³. El cianovirin-N es un polipéptido aislado de cianobacterias³⁴ y la hipericina es un componente del *Hypericum perforatum* una planta utilizada como antidepresivo³⁵. El problema principal de los virucidas radica en que provocan irritación y deterioro de las mucosas y tejidos en los que se aplica y por ello, en contra de lo deseado, facilitan la infección de los tejidos dañados³⁶.

Fármacos que afectan a dianas virales del VIH

A medida que se han ido conociendo distintas dianas virales y poniendo a punto los métodos de evaluación, se han ido descubriendo diversos compuestos, a veces correspondientes a fragmentos modificados de las propias biomoléculas virales o celulares implicadas, que han alcanzado diversos niveles de desarrollo como fármacos anti-VIH. En las Tablas 4 y 5 se recogen los principales compuestos de actividad contrastada, asociados con sus respectivas dianas; aunque en varios casos, un mismo compuesto puede haberse descrito o propuesto que puede actuar sobre varias dianas. En las Figuras 7, 8 y 9, se presentan las estructuras moleculares de los compuestos más representativos, para dar idea de la diversidad de tipos estructurales con potencial utilidad frente al SIDA.

Los MIPs (*Macrophage Inflammatory Proteins*) son quimiocinas polipeptídicas naturales, que actúan como ligandos fisiológicos de los correceptores CCR3 y CCR5³⁷. Los derivados de cosalano se asocian a la glicoproteína gp120 generando una pantalla iónica que impide su adhe-

Tabla 4. Dianas virales y fármacos potenciales relacionados

| Dianas | Fármacos potenciales |
|--|---|
| Proteínas de la envoltura gp120 (superficie) | Polisulfatos, policarboxilatos, cianovirin-N, resobene, PRO 542 MIP1α, SPC3 , cosalanos, ALX40-4C , RPR103611 , T-1249, 5-Helix, IQN17 |
| gp41 (transmembrana) | |
| Precursor y Proteínas Gag p55, p6, p2, p1 CA p24 (proteína de cápsula) NC p7 (eyectores de zinc) | azodicarbonamida , 2,2' <i>ditiobisbenzamidas</i> , <i>Cl 1012</i> , NSC 624151, |
| MA, p17 (proteína matriz), p9, p7, | |
| Enzimas TI (transcriptasa inversa) | NRTIs: Fosfonatos, ciclosaligenilos, Amdoxovir , <i>etinil</i> derivados, <i>fosfamidos</i> , NNRTIs: <i>capravirina</i> , <i>calanolida A</i> , DPC-083 , <i>dapivirina</i> , SJ-3366, <i>emivirina</i> , <i>pnu142721</i> , |
| p61, (polimerasa), RNasa H Proteasa, p10 Integrasa, p32 | Mozenavir, tipranavir Ác. Chicórico , dicafeilquinico , arctigenina , Ácidos 4-aril-2,4-dioxobutanoicos , <i>etopósido</i> , L731988, S-1360. |
| Factores regulatorios y auxiliares Tat, (prot. transactivadora)Rev, Nef, Vif, Vpr, Vpu, Vpx, Tev, | K-37 , temacrazina , CGP 64222 , Ro 24-7429 Ro 5-3335, EM2487, <i>ditianos</i> , |
| ARN de VIH | flavopiridol , fluoroquinolona K 12 (inh. Transcripción) |

Nombres en negrita: véanse estructuras en las Figuras 7 u 8.
Nombres en cursiva: estructuras no representadas.
Otros nombres: estructuras o tipos estructurales en figuras anteriores.

Tabla 5. Dianas celulares y algunos fármacos potenciales relacionados

| DIANAS de superficie | Fármacos potenciales |
|--|--|
| CXCR4 CCR5, CCR3, etc. | AMD3100 TAK 779, RANTES , SCH-C, SCH-D, PRO 140, prostratina |
| CD4, CD26, Glicolípidos, Proteoglicanos heparínicos, Galactoceramidas | |
| DIANAS intracelulares objetivo | |
| Enzimas celulares N-myristoil-transferasa, gp-160, Ribonucleótido-reductasa, Poliamina-sintetasa, Glicosilasas | Citocinas, segundos mensajeros TNF-α, IL-1a, IL-6, Fosfolipasa C, PKC Calcio intracelular |
| factores de transcripción Sp1, NF-kB | Moléculas auxiliares Ciclofilinas; MAP- K, ERK-K (quinasas) |

Nombres en negrita: véanse estructuras en la Figura 9.
Nombres en cursiva: estructuras no representadas.
Otros nombres: estructuras o tipos estructurales en Figuras anteriores.

sión a los receptores de la superficie celular³⁸. El compuesto ALX 40-4C³⁹, se une a la gp120, pero también al correceptor celular CXCR-4 (Fusina), bloqueando la interacción directa entre ambos. El compuesto RPR 103611 representado y otros derivados del ácido betulínico⁴⁰, particularmente el dimetilsuccinato del alcohol en la posición 3 del triterpenoide, aunque no tienen aún definido exactamente su mecanismo de acción, fueron los primeros compuestos no peptídicos capaces de

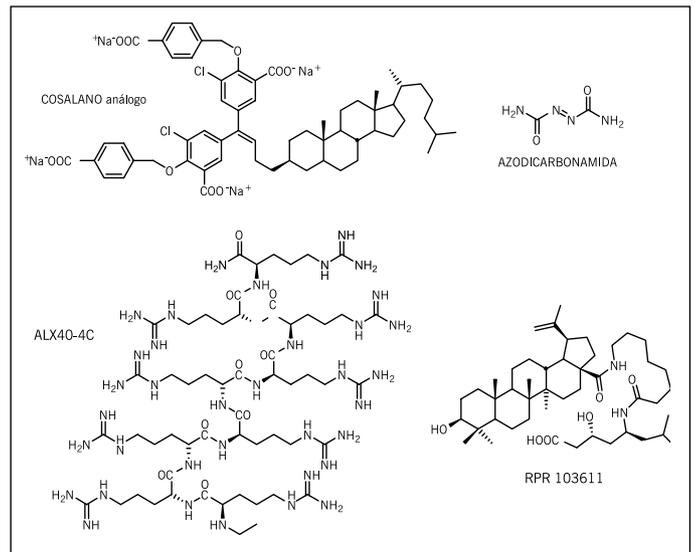


Figura 7. Estructuras de potenciales fármacos frente a la infección por VIH, que actúan principalmente sobre dianas virales

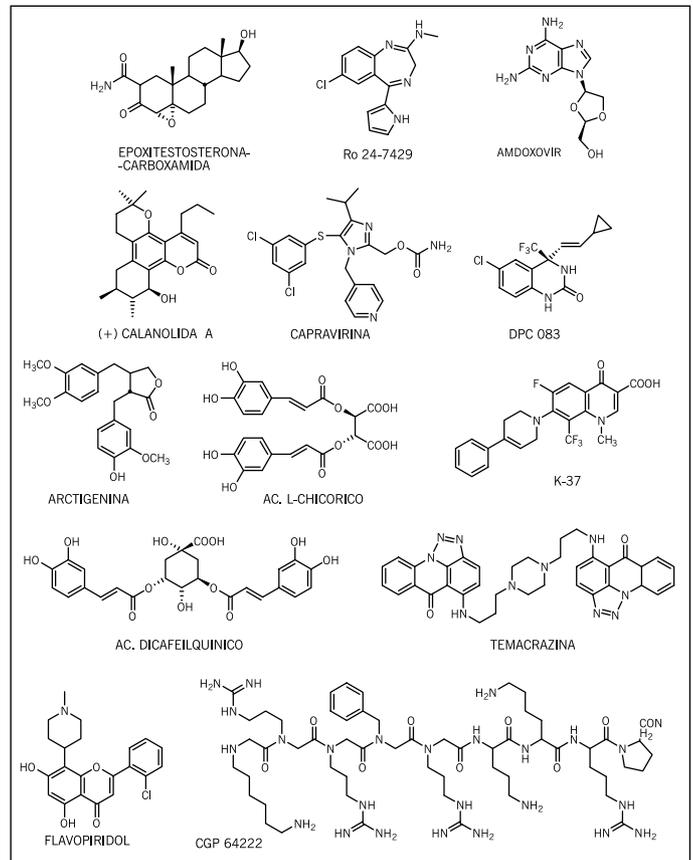


Figura 8. Estructuras de potenciales fármacos que actúan sobre dianas específicas del VIH.

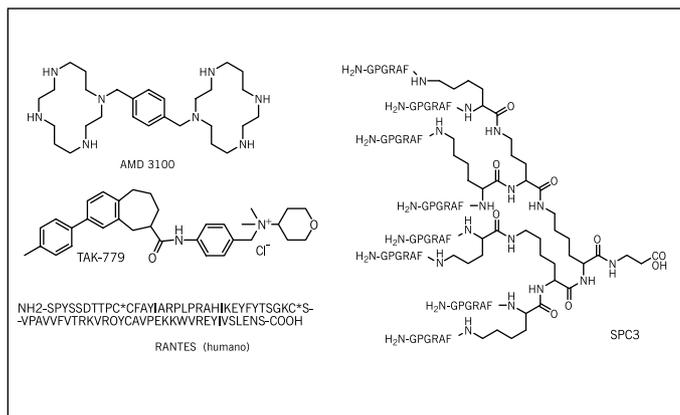


Figura 9. Estructuras de fármacos potenciales frente a la infección por VIH, que actúan principalmente sobre dianas celulares

impedir la interacción entre el virus y la célula⁴¹. La azodicarbonamida (ADA), actúa en etapas posteriores de la infección, interfiere como eyector de cinc la desencapsulación del virus y también la encapsulación de los nuevos viriones⁴². PRO-542 es anticuerpo recombinante⁴³.

El epoxiesteroide derivado de testosterona es un inhibidor de la transactivación por Tat⁴⁴, al igual que la benzodiazepina Ro 24-7429⁴⁵, mientras que amdoxovir, que pertenece al grupo de los NRTIs, se biotransforma en el análogo guanínico y ha demostrado utilidad frente a VIH resistente a zidovudina y 3TC. La (+)-calanolida A⁴⁶, aislada del árbol tropical *Calophyllum lanigerum* es un potente NNRTI (IC₅₀ = 70 nM) que ha merecido mucha atención, aunque no se han mejorado mucho las cualidades del producto natural, el cual ya ha sido sometido a varios ensayos clínicos. La capravirina⁴⁷ es otro NNRTI de naturaleza imidazólica y buena biodisponibilidad, que actúa sobre cepas de VIH resistentes a nevirapina.

La (-)-Arctigenina⁴⁸ es una lignanólida natural, aislada de asteráceas del género *Arctium*. Frente al VIH actúa como inhibidora de la integrasa, pero también presenta actividad frente a la Topoisomerasa II de ADN. También actúan por inhibición de la integrasa el ácido dicafelquínico⁴⁹, aislado de *Baccharis genistelloides*, sus derivados, y el ácido L-chicórico, que se identificó inicialmente como inhibidor de la integrasa y posteriormente también como antagonista de los receptores CXCR4^{50,51}.

La quinolona K-37 y otras análogas inhiben la transcripción (transactivación) viral, visiblemente por acción sobre la proteína Tat⁵². La bistriazoloacridona temacrazina bloquea la transcripción del ARN viral sin interferir la de la célula hospedadora⁵³. El flavopiridol tiene propiedades de quinasa dependiente de ciclinas (*Cdk*), bloquea la transactivación por Tat y es también antiproliferativo⁵⁴.

El nonapeptido CGP 64222, corresponde prácticamente a la secuencia de los aminoácidos 48-56 (RKKRRQRRR) de Tat. Bloquea la interacción Tat/TAR y mediante ello, la replicación viral. Se descubrió como miembro de una serie de colecciones combinatorias de peptidomiméticos de más de treinta millones de compuestos. Además de ser inhibidor de la transactivación por Tat, también actúa sobre la adhesión viral⁵⁵.

Fármacos que afectan a dianas celulares

Dentro de los fármacos anti-SIDA relacionados con las dianas celulares se distinguen dos subgrupos fundamentales, los que interactúan con los

receptores de la superficie externa celular y los que lo hacen con dianas intracelulares necesarias para la replicación o el desarrollo del virus (Tabla 5). Las primeras dianas han constituido hasta el presente un objetivo más común para el desarrollo de agentes anti-VIH y se relacionan también, en muchos casos, con las dianas de la envoltura viral. Las segundas son parte de sustancias o moléculas pertenecientes a la célula hospedadora, que tienen otras misiones naturales dentro de ella y su bloqueo podría provocar alguna perturbación adicional a la célula infectada. Las sustancias conocidas que afectan a estas últimas proceden principalmente de estudios y desarrollos relacionados con procesos fisiológicos o fisiopatológicos diversos y, de hecho, los compuestos que han merecido más investigaciones, estudios y ensayos como agentes anti-VIH corresponden a aquellos que interactúan con los receptores y correceptores de anclaje, que se encuentran en la membrana celular y facilitan la infección por VIH. Las estructuras de varios compuestos que actúan sobre dianas celulares, están representadas en la Figura 9.

La poliamina AMD3100 bloquea la interacción entre gp120 y CXCR4 y se encuentra en desarrollo clínico. La sal de amonio cuaternario TAK-779, es activa a concentraciones nanomolares y se une a los dominios transmembrana de CCR5. Su aplicación clínica ha encontrado problemas relacionados con la inflamación local en la zona de administración, lo que está promoviendo el ensayo de análogos sin ese efecto adverso. RANTES es un polipéptido de la familia de las quimiocinas, un ligando natural de los correceptores CCR3 y CCR5 de VIH⁵⁷. El SPC3 es un polipéptido ramificado de tipo dendrítico, que contiene en sus extremos ocho restos GPGRF que forman parte de la proteína gp120 y que podrían llegar a interactuar con los correceptores CXCR4 impidiendo la interacción infecciosa virus-célula⁵⁸. Los compuestos SCH son derivados piridínicos o piperazínicos inhibidores selectivos de CCR5.

La diversidad de tipos de actividad y dianas con posibilidad de servir de base para el diseño y la evaluación de compuestos y más aún la diversidad estructural que presentan las sustancias susceptibles de ser evaluadas, hacen que sea muy difícil la clasificación sistemática o agrupación de los antiguos y nuevos agentes terapéuticos potenciales. Entre las guías utilizadas en diversos ámbitos para tratar de sistematizar el estudio, puede encontrarse la ordenación alfabética de los nombres químicos o genéricos de las sustancias en desarrollo, lo cual facilita la creación de bases de datos sobre las sustancias y la localización de un compuesto activo definido. Sin embargo, parecen más convenientes las clasificaciones de los compuestos según la diana que afectan (transcriptasa, integrasa, polimerasa, etc.) o, si no se conoce ésta, según la función que modifican o el efecto que producen (inhibición de la fusión, de la biosíntesis proteica o nucleica, de la glicosilación, virucidas, etc.) integrando, o no, los aspectos estructurales (análogos de nucleósidos, peptidomiméticos, esteroides, etc.).

En la situación actual, en que todavía quedan bastantes sustancias por descubrir, parece apropiado utilizar un tipo mixto de clasificación/agrupación, basado primero en la diana específica que afectan o, en caso de no conocerse, en el efecto observable y posteriormente efectuar una subclasificación por el tipo estructural de los compuestos. De acuerdo con estas ideas, en la Tabla 6 se propone una posible agrupación-clasificación de agentes anti-VIH.

Perspectiva y conclusión

Sobre la base de los considerables avances que se han ido produciendo en la mayoría de los aspectos relacionados con el virus, con la patología y con su tratamiento, entre los que cabe considerar los relacionados con:

Tabla 6. Propuesta de Clasificación de Agentes Anti-SIDA

1. Con diana viral definida**Transcriptasa Inversa**

Análogos de nucleósidos, Análogos acíclicos fosfonados de nucleósidos
No nucleosídicos

Proteasa

Peptidomiméticos, No peptídicos

TAT, REV, NEF, VIF, VPR, VPU, VPX, TEV,

2. Con diana celular definida**Dianas de superficie**

CXCR4, CCR5, CCR3, etc.

CD4, CD26, Glicolípidos, Proteoglicanos heparínicos, Galactoceramidas

Dianas intracelulares**Enzimas**

N-myristoil-transferasa, gp-160, Ribonucleótido-reductasa,
Poliamina-sintetasa, Glicosilasas, etc.

Factores de transcripción

Sp1, NF-kB,

Citocinas y segundos mensajeros

TNF- α , IL-1a, IL-6, Fosfolipasa C, PKC, Calcio intracelular, etc.

Moléculas auxiliares

Ciclofilinas, MAP- K, ERK-K, etc.

3. Con acción definida sobre

Adhesión, Fusión, Desencapsulación, Transporte, Procesado de ARN, Biosíntesis de poliaminas, Glicosilación, Encapsulación, Eyección de Zinc, Genoexpresión viral, etc.

4. Con efecto definido como

Virucidas, Vacunas, Anticuerpos

5. Otros tipos de agentes anti VIH

Antimetabolitos de aminoácidos

Ácidos Nucleicos Anti-Sentido

Hormonas, Vitaminas y relacionados

Antioxidantes

Agentes útiles en otras patologías

- El conocimiento básico de la biología del VIH, de sus constituyentes moleculares, de sus dianas vitales y de las funciones que desempeñan, información que aumenta cada año exponencialmente.
- Las mejoras sustanciales de la *calidad, amplitud y selectividad de los bioensayos* disponibles, que proporcionan resultados de evaluación muy fiables con gran rapidez.
- Los *planteamientos terapéuticos combinados e integrales* y el seguimiento más apropiado del comportamiento y evolución del paciente.
- El *gran número de compuestos activos conocidos*, que podría alcanzar actualmente el millar de sustancias, afectando a prácticamente cada una de las etapas del desarrollo del virus y entre las cuales, varias docenas de elementos representativos se encuentran actualmente en fases de estudio clínico o próximos a pasar a ellas.
- La capacidad de la Química y de la Biotecnología para producir cantidades ingentes de *nuevos compuestos potencialmente útiles* y de la propia Química para estudiarlos, caracterizarlos, modificarlos e incluso, *evaluarlos "virtualmente"* en su interacción con el biosustrato, antes incluso de su obtención.
- Que se descubrirán o generarán agentes que funcionen por *mecanismos nuevos* o complementarios y/o sinérgicos de/con los ya establecidos y
- *Muy principalmente en la confluencia multidisciplinar*, que en la actualidad se desarrolla con mayor fluidez y eficacia, de los grupos

de Química, Biología, Farmacia y Medicina, principales protagonistas del desarrollo de medicamentos.

En virtud de lo anterior, se puede asegurar que a corto, medio y más largo plazo, continuarán apareciendo en la clínica, nuevos agentes más selectivos y más eficaces frente al VIH y más seguros y con menos efectos adversos que los actuales y podrá ser más válida la *consideración del SIDA como una enfermedad crónica controlable*.

No obstante, el deficiente control sobre el contagio y la diseminación del VIH, la inaccesibilidad a la medicación en las regiones más desfavorecidas y la insuficiencia de medios materiales y humanos, no facilitarán que las mejoras terapéuticas lleguen a la población más afectada y más necesitada de ella. Se duplicará el número de infectados cada pocos años. Se incrementará sustancialmente el número de muertes causadas directa o indirectamente por el VIH, de forma mucho más intensa en los países sin recursos y, como en el caso de las otras dos patologías más relevantes, Tuberculosis y Malaria consideradas en este Taller-RICET, la pobreza, impedirá que los beneficios del progreso en el desarrollo de fármacos anti-SIDA puedan llegar a la mayoría de la población mundial.

Bibliografía

1. www.fda.gov/cder/approval/index.htm
2. www.medscape.com/druginfo/
3. Mitsuya H, Weinhiok KJ, Furman PA, *et al.* 3'-azido-3-deoxythymidine (BWA509U): An Antiviral Agent that Inhibits the Infectivity and Cytopathic Effect of Human T-Lymphotropicvirus Type III/Lymphoadenopathy-Associated Virus in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:7096-100.
4. Merluzzi VJ, Hargrave KD, Labadia M, *et al.* Inhibition of HIV-1 Replication by a Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor. *Science* 1990;250:1411-3.
5. Romero DL, Morge RA, Genin MJ, *et al.* Bis (Heteroaryl) Piperazine (Bhap) RT Inhibitors: Struct-Act. Relationships of Novel Substituted Indole Analogues and the Identification of Monomethanesulfonate (U-90152s). *J Med Chem* 1993;36(10):1505-8.
6. Young SD, Britcher SF, Tran LO, *et al.* L-743,726(Dmp-266): A Novel, Highly Potent Nonnucleoside Inhibitor of the Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39(12):2602-5.
7. Huff JR. HIV Protease: A Novel Chemotherapeutic Target for AIDS. *J Med Chem* 1991;34:2306-14.
8. Roberts NA, Martin JA, Kinchington D, *et al.* Rational Design of Peptide-Based HIV Proteinase Inhibitors. *Science* 1990;248:358-61.
9. Vacca JP, Dorsey BD, Schleif WA, *et al.* L-735,524: An Orally Bioavailable HIV-1 Protease Inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91(9):4096-100.
10. Kempt DJ, Marsh KC, Denissen JF, *et al.* Abt-538 Is A Potent Inhibitor of Human Immunodeficiency Virus Protease and has High Oral Bioavailability In Humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92(7):2484-88.
11. Kalish V, Kaldor S, Shetty B, *et al.* Iterative Protein Structure-Based Drug Design and Synthesis of HIV Protease Inhibitors. *Eur J Med Chem* 1995;30(Suppl):S201-S214.
12. Sham H, Kempf D, Molla A, *et al.* Abt-378, A Highly Potent Inhibitor of the Human Immunodeficiency Virus Protease. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(12):3218-24.
13. Navia MA, Sato VL, Tung RD. Design of Vx-478. A Potent Inhibitor of HIV Protease. *Int Antiviral News* 1995;3(9):143-5.
14. Haas DW, Zala C, Schrader S, *et al.* Protocol A1424-009 Study Group. Therapy With Atazanavir Plus Zalcitabine In Patients Failing Highly Active Antiretroviral Therapy: A Randomized Comparative Pilot Trial. *AIDS* 2003;17:1339-49.
15. Wild C, Greenwell T, Matthews T A. Synthetic Peptide from HIV-1 gp41 is a Potent Inhibitor of Virus-Mediated Cell-Cell Fusion. *AIDS Res Hum Retrovir* 1993; 9(11):1051-3.
16. De Clercq, E. Antiviral Drugs in Current Clinical Use. *J Clin Virology* 2004;30:115-33. De Clercq E. HIV-chemotherapy and prophylaxis: new drugs, leads and approaches. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36:1800-22.

17. <http://www.niaid.nih.gov/daids/dtpdb/>
18. <http://hivdb.stanford.edu/>
19. www.unaids.org/wad2004/epi_graphics.html
20. www.who.int/tdr/diseases/tb/
21. Nettles RE, Kieffer TL, Simmons RP, et al. Genotypic resistance in HIV-1-infected patients with persistently detectable low-level viremia while receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2004;39:1030-7.
22. Sax PE, Kumar P. Tolerability and safety of HIV protease inhibitors in adults. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;37:1111-24.
23. Saboulard D, Naesens L, Cahard D, et al. Characterization of the activation pathway of phosphoramidate triester prodrugs of stavudine (d4T) and zidovudine (AZT). *Mol Pharmacol* 1999;56:693-704.
24. Balzarini J, Aquaro S, Knispel T, et al. Cyclosaligenyl-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine Monophosphate: Efficient Intracellular Delivery of d4TMP. *Mol Pharmacol* 2000;58:928-35.
25. Corbett JW, Ko SS, Rodgers JD, et al. L-743, 726 (DMP-266): a Novel, Highly Potent Nonnucleoside Inhibitor of the Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2893-7.
26. Hodge CN, Aldrich PE, Bachelier LT, et al. Improved Cyclic Urea Inhibitors of the HIV-1 Protease: Synthesis, Potency, Resistance Profile, Human Pharmacokinetics and X-Ray Crystal Structure of DMP 450. *Chem Biol* 1996;3:301-14.
27. Thaisrivongs S, Skulnick HI, Turner SR, et al. Structure-Based Design of HIV Protease Inhibitors: Sulfonamide-Containing 5,6-Dihydro-4-Hydroxy-2-Pyrones as Non-Peptidic Inhibitors. *J Med Chem* 1996;39(22):4349-53.
28. Alcamí J, Bedoya LM. El Estudio de la Interacción Virus-Hospedador como Fuente de Nuevas Dianas en la Infección por el VIH. *Enfermedades Emergentes* 2005;7(1):58-66.
29. Marcelletti JF, Lusso P, Katz, DH, N-Docosanol Inhibits In Vitro Replication of HIV and other Retroviruses. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996;12(1):71-4.
30. Bourinbaier AS, Lee-Huang S. Acrosin Inhibitor, 4'-Acetamidophenyl 4-Guanidinobenzoate, An Experimental Vaginal Contraceptive with Anti-HIV Activity. *Contraception* 1995;51(5):319-22.
31. Nakashima H, Yoshida O, Tochikura TS, et al. Sulfation of Polysaccharides Generates Potent and Selective Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Infection and Replication In Vitro. *Jpn J Cancer Res* 1987;78:1164-8.
32. Rusconi S, Moonis M, Merrill DP, et al. Naphthalene Sulfonate Polymers With CD-4 Blocking and Anti-Human Immunodeficiency Virus Type 1 Activities. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40(1):234-6.
33. Borkow G, Barnard J, Nguyen TM, Belmonte A, Wainberg MA, Parniak MA. Chemical Barriers to Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Infection: Retroviral Activity of Uc781, a Thiocarboxanilide Nonnucleoside Inhibitor of HIV-1 Reverse Transcriptase. *J Virol* 1997;71(4):3023-30.
34. Boyd MR, Gustafson KR, McMahon JB, et al. Discovery of Cyanovirin-N, a Novel Human Immunodeficiency Virus-Inactivating Protein that Binds Viral Surface Envelope Glycoprotein Gp120: Potential Applications to Microbicide Development. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41(7):1521-30.
35. Schinazi RF, Chu CK, Babu JR, et al. Anthraquinones as a New Class of Antiviral Agents Against Human Immunodeficiency Virus. *Antivir Res* 1990;13(5):265-72.
36. Dezzutti CS, James VN, Ramos A, et al. In Vitro Comparison of Topical Microbicides For Prevention of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Transmission. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:3834-44.
37. Cairns JS, D'Souza MP. Chemokines and HIV-1 Second Receptors: The Therapeutic Connection. *Nature Med* 1998;4(5):563-8.
38. Santhosh KC, Paul C, De Clercq E. Correlation of Anti-HIV Activity with Anion Spacing in a Series of Cosalane Analogues with Extended Polycarboxylate Pharmacophores, et al. *J Med Chem* 2001;44:703-14.
39. O'Brien WA, Sumner-Smith M, Mao S-H, Sadeghi S, Zhao J-Q, Chen. IS Anti-Human Immunodeficiency Virus Type 1 Activity of an Oligocationic Compound Mediated Via Gp120 V3 Interactions. *J Virol* 1996;70(5):2825-31.
40. Kashiwada Y, Hashimoto F, Cosentino LM, Chen, C-H, Garrett PE, Lee K.-H. Betulinic Acid and Dihydrobetulinic Acid Derivatives as Potent Anti-HIV Agents. *J Med Chem* 1996;39(5):1016-17.
41. Kanamoto T, Kashiwada Y, Kanbara K, et al. *Antimicrob. Agents Chemother* 2001; 45:1225-30.
42. Rice WG, Turpin JA, Huang M, et al. Azodicarbonamide Inhibits HIV-1 Replication by Targeting the Nucleocapsid protein. *Nature Med* 1999;3:341-5.
43. Jacobson JM, Lowy I, Fletcher CV, et al. Single-Dose Safety, Pharmacology, and Antiviral Activity of the Human Immunodeficiency Virus (HIV) Type 1 Entry Inhibitor PRO 542 in HIV-Infected Adults. *J Infectious Disease* 2000;182:326-9.
44. Michne WF, Schroeder JD, Bailey TR. Keto/Enol Epoxy Steroids: A New Structural Class of HIV-1 Tat Inhibitors. *J Med Chem* 1993;36(18):2701-2.
45. Kira T, Hashimoto K-I, Baba M, Okamoto T, Shigeta S. 2-Glycineamide-5-Chlorophenyl-2-Pyrryl-Ketone, a Non-Benzodiazepin Tat Antagonist, is Effective Against Acute and Chronic HIV-1 Infections In Vitro. *Antiviral Res* 1996;32(2):55-62.
46. Kashman Y, Gustafson, KR, Fuller, RW, et al. The Calanolides, a Novel HIV-Inhibitory Class of Coumarin Derivatives from the Tropical Rainforest Tree, *Calophyllum lanigerum*. *J Med Chem* 1992; 35(15): 2735-43.
47. Fujiwara T, Sato A, El-Farrash M, et al. S-1153 Inhibits Replication of Known Drug-Resistant Strains of Human Immunodeficiency Virus Type 1. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(6):1340-5.
48. Eich E, Pertz H, Kaloga M. (-)-Arctigenin as a Lead Structure for Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type-1 Integrase. *J Med Chem* 1996;39(1):86-95.
49. Robinson WE, Reinecke MG, Abdel-Malek S, Jia Q, Chow SA. Inhibitors of HIV-1 Replication that Inhibit HIV Integrase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(13):6326-31.
50. McDougall B, King PJ, Wu BW, Hostomsky Z, Reinecke MG, Robinson Jr WE. Dicafeoylquinic and Dicafeoyltartaric Acids Are Selective Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(1): 140-6.
51. Pluyms N, Neamati C, Pannecouque V, et al. Viral Entry as the Primary Target for the Anti-HIV Activity of Chioric Acid and its Tetra-acetyl Esters. *Mol Pharmacol* 2000;58: 641-8.
52. Baba M, Okamoto M, Kawamura M, et al. Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication and Cytokine Production by Fluoroquinoline Derivatives. *Mol Pharmacol* 1998;53:1097-103.
53. Turpin JA, Kearney M, Ptak RG, et al. Drug Resistance and Treatment Strategies. *Antiviral Ther* 2000;5(3):37-8.
54. Chao S-H, Fujinaga K, Marion JE, et al. Structural Studies on Glycogen Phosphorylase Complexes with Potent Inhibitors of the Enzyme: the Binding of Flavopiridol. *J Biol Chem* 2000;275:28345-8.
55. Hamy F, Felder ER, Heizman G, et al. An Inhibitor of the Tat/Tar RNA Interaction that Effectively Suppresses HIV-1 Replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(4):3548-53.
56. Schols D, Este JA, Henson G, Declercq E. Bicyclams, a Class of Potent Anti-HIV Agents, Are Targeted at the HIV Coreceptor Fusin/CXCR-4. *Antiviral Res* 1997;35(3):147-56.
57. Cairns JS, D'Souza MP. Chemokines and HIV-1 Second Receptors: The Therapeutic Connection. *Nature Med* 1998;4(5):563-8.
58. Yahi N, Fantini J, Baghdiguian S, et al. SPC3, A Synthetic Peptide Derived from the V3 Domain of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Gp120, Inhibits HIV-1 Entry Into CD4(+) and CD4(-) Cells by Two Distinct Mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(11):4867-71.