

HIV非核苷类逆转录酶抑制剂研究进展

周 婷, 谢 蓝*

(军事医学科学院 毒物药物研究所, 北京 100850)

关键词: 非核苷类逆转录酶抑制剂; 逆转录酶; 艾滋病; 人类免疫缺陷病毒

中图分类号: R916.4; R916.693 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2004)08-0666-07

Progress in HIV non nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs)

ZHOU Ting, XIE Lan*

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China)

Key words: NNRTIs; reverse transcriptase; HIV; AIDS

1 引言

艾滋病(AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(HIV)感染引起的严重疾病。HIV属于RNA逆转录病毒,又分为HIV-1和HIV-2型。这两种类型病毒的基因组在DNA碱基序列方面有着明显的差别,因而相应的逆转录酶和包膜上糖蛋白的结构有所不同。世界上大部分地区的艾滋病人是被病毒HIV-1所感染,现有药物主要是抑制HIV-1型病毒的复制。HIV对细胞的感染过程包括与宿主细胞溶合,DNA转录并整合入宿主细胞基因组,进行蛋白质表达,最后组装新病毒溢出细胞。抗艾滋病病毒药物可以通过抑制或阻断病毒复制过程中的任何一个阶段达到治疗和缓解疾病的目的。

在HIV的复制循环中,逆转录酶(RT)在完成RNA指导的DNA合成、RNA水解反应和DNA指导的DNA合成过程中起着十分重要的作用。因此,HIV逆转录酶是抗HIV/AIDS药物发展中的一个重要生物靶点。针对HIV逆转录酶的药物分为核苷类RT抑制剂(NRTIs)和非核苷类RT抑制剂(NNRTIs)。NRTIs类药物有7种,分别为齐多夫定(AZT)、去羟肌苷(ddI)、拉米夫定(3TC)、扎西他滨

(ddC)、司他夫定(d4T)、阿巴卡韦(ABC)和替诺福韦(tenofovir)。这些药物在体内磷酸化后,竞争性地抑制逆转录酶对正常核苷类作用底物的利用,中止DNA链延长,从而阻碍病毒繁殖^[1]。NNRTIs则与HIV-1逆转录酶直接结合形成稳定的复合物,使酶的构象发生改变,抑制酶的活性。该类药物目前只有奈韦拉平(nevirapine,1)、地拉韦啉(delavirdine,2)和依非韦伦(efavirenz,7)^[2]。近年来,由于NRTIs类药物副作用导致临床应用的限制以及NNRTIs类药物高效低毒的优势,人们开始更多地关注NNRTIs的发展。

2 现有非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTIs)及其特点

非核苷类逆转录酶抑制剂具有结构多样、高效、低毒以及与其他药物的协同作用等特性,加之药物作用位点明确,酶的结构清楚,因而一直是寻找新的抗艾滋病病毒药物的重要方向之一。非核苷类逆转录酶抑制剂的研究始于1989-1990年,到目前为止,已有40多种不同结构类型、作用机制明确的NNRTIs相继报道,其中许多候选药物已进入临床试验期。这些化合物根据结构上的共性,大致可归纳为以下几类。

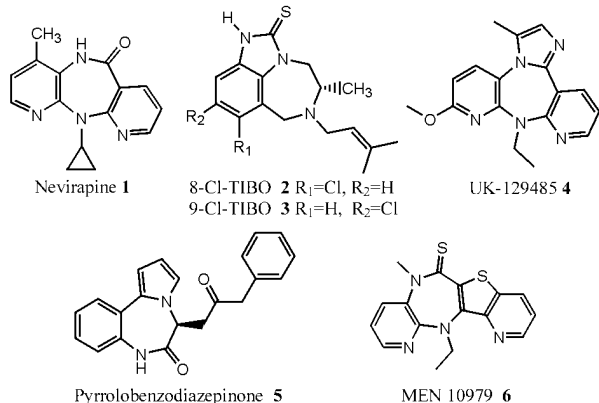
2.1 苯并二氮杂萘及吡啶并二氮杂萘类化合物如已经上市的药物Nevirapine(1),以及TIBO及其衍生物[8-Cl-TIBO(2),9-Cl-TIBO(3)],UK129485(4),

收稿日期: 2003-09-27.

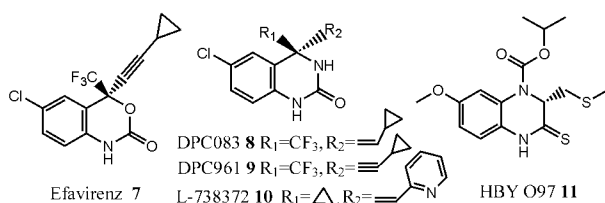
通讯作者 Tel / Fax: 89-10-66931690,

E-mail: lanxieshi@yahoo.com

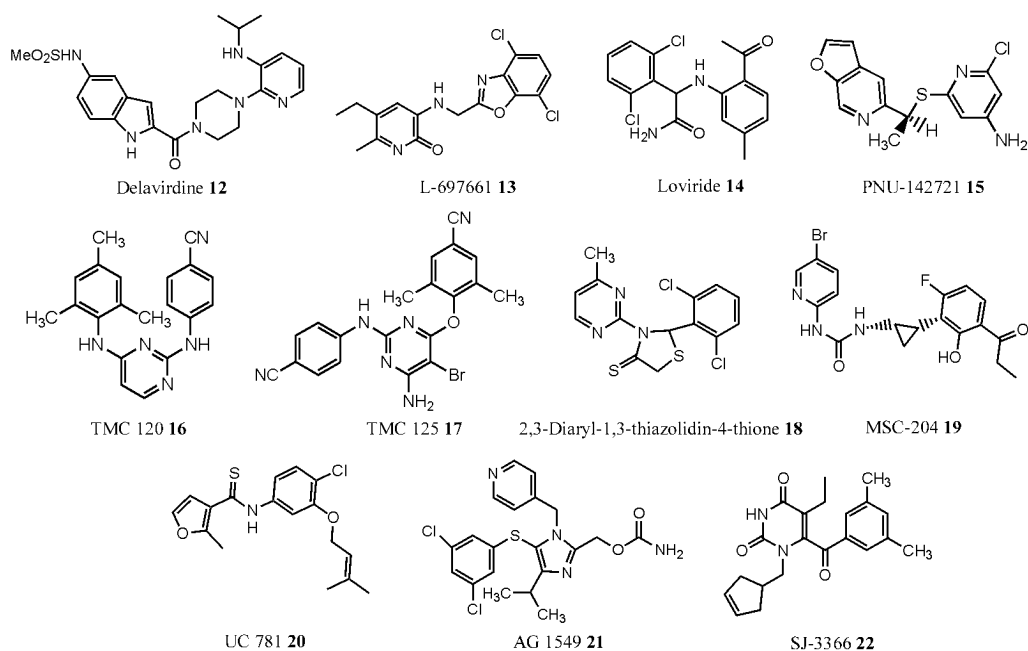
Pyrrolobenzodiazepinone (5), MEN 10979 (6)^[3]。



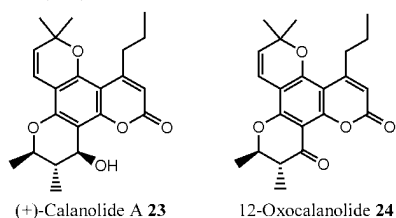
2.2 苯并六元杂环类化合物 如已经上市的药物 Efavirenz (7)^[2], 以及 DPC 系列化合物 [DPC083 (8), DPC961 (9)^[4], L-738372 (10), HBY 097 (11)。



2.3 呈“蝴蝶样”结构的一类化合物 它们不具有相同的母核,其共性体现在具有特征性很强的“蝴蝶样”结构:两端有两组不饱和官能团,中间由各种不同的结构连在一起,且连接部分长度近似,约为 7.5 Å。可以归为这一类的化合物数量很多,这里只列举部分具有代表性,且活性较高的化合物。如已经上市的药物 Delavirdine (12), 以及 L-697661 (13), Loviride (14), PNU-142721 (15)^[5], TMC 120 (16)^[6], TMC 125 (17)^[6], 2, 3-diaryl-1, 3-thiazolidin-4-thione (18)^[7,8], MSC-204 (19)^[9], UC781 (20)^[10,11], AGI 549 (21)^[12], SJ-3366 (22)^[13]。



2.4 天然产物及衍生物 如从热带植物中提取的化合物 (+)-Calanolide A (23) 及其衍生物 12-Oxocalanolide (24)^[14]。



一些 NNRTIs 由于在某一方面或几方面比较特殊,得到了研究人员的特别关注。(+) - Calanolide A

(23) 是唯一作为非核苷类逆转录酶候选药物进入 II 期临床试验的来源于植物的天然产物^[15]。化合物 23 是一个四环香豆素类化合物,分子中含 3 个手性中心。它在体内有很好的生物利用度,能有效地抑制具有抗药性病毒的复制。它在体内的半衰期约为 20 h,故有利于减少病人每天服药次数。PNU-142721 (15) 处于临床前试验阶段。结果表明它不但具有很好的口服生物利用度,而且能穿透血脑屏障进入人脑^[15],这无疑将有益于抑制储存于人脑巨噬细胞内的病毒。同时该化合物对 KI03N 突变株的 HIV-1 RT 显示了很好的抑制作用,并有望很快进入

I 期临床试验。

DPC083(8) 已进入 II 期临床试验,它对单变异/双变异(如 KI03N, Y181C, V108I/KI03N, KI03N/Y181C 和 KI03N/P225H) 病毒菌株的抑制活性均可达到 $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平。化合物 8 是依非韦伦的一个衍生物,但对 HIV 复制的抑制活性要比依非韦伦强 1020 倍^[4]。其原因是它与血液中蛋白的结合力较弱,从而使药物在血液中有较高的有效浓度。DPC083 还具有 >90 h 的半衰期,从而使服药次数降低至 1 次/d 或 23 次/周。由此可见,结构上的细小变化有时会大大改善药物的性质。DPC083 的副作用主要表现在中枢神经系统方面,如头昏、眼花、皮疹。有研究^[4]表明这些副作用与用药剂量相关。

TMC-125(17) 是至今发现最有希望的抗 HIV 候选药物之一。它可以非常有效地抑制具有 L100I, KI03N, Y181C, Y188L, KI03N + L100I 和 KI03N + Y181C 等变异病毒的复制。该药物在单独使用 7 d 后血液内病毒载量降低了两个数量级,其效果类似于一个正在试验中的五药处方。该候选药物的一个类似物 TMC120(16) 与之有类似的活性和特点,并已进入了 II 期临床试验阶段。

UC781(20) 是另一个有效的非核苷类逆转录酶抑制剂。它可以使 AZT 恢复对由自身导致抗药性病毒菌株的抑制活性^[16]。UC781(20) 还有杀菌作用。如果把它做成适当剂型的阴道杀菌剂,就可降低或预防 HIV 病毒对人体的感染^[11]。AGI 549 (capravirine, 21) 可以与逆转录酶在 p66 区域许多位点(如 101, 103 和 236 等)形成氢键^[17],对许多变异的 HIV 病毒菌株(包括 KI03N) 都有很好的抑制作用^[12]。该化合物曾作为候选药物在美国进入了 II/III 临床试验。但是,该药物在狗的长期毒性试验中却出现了血管炎副作用,为此美国 FDA 于 2001 年 1 月部分中止了该药的临床试验。由于 Capravirine 对抗药性病毒菌株有独特的效果,研制该药物的 Agouron 制药公司与 FDA 密切合作,正在进行更多的毒性试验,以便进一步评价该药物的安全性。SJ-3366(22) 对 HIV-1 病毒的抑制活性 EC_{50} 值低于 $1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,而治疗指数(therapeutic index) 大于 4 000 000^[13]。此外,化合物 22 还可以抑制 HIV-2 病毒进入细胞。

表 1 中列出了上面提及化合物的生物学数据。

表 1 NNRTIs 在细胞和酶试验中的数据

Compound	HIV-1- Cytotoxicity				HIV-1 RT
	Cell ^a	$EC_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^b	$CC_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^c	SI ^d	$IC_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^e
Nevirapine (1)	C8166	0.048	321	8 025	0.032
8-Cl-TIBO (2)	CEM	< 0.001 85	5.85	> 3 162	0.057
9-Cl-TIBO (3)	CEMSS	0.009	46	5 111.11	0.006 - 0.015
UK-129485 (4)	H9	< 0.002	> 10	> 5 000	0.156
Pyrralobenzodiazepinone (5)	MF-2	< 0.3 ^f	10 ^f	> 33	0.04 ^f
MEN 10979 (6) ^[3]	C8166	0.002 5	38	15 000	0.18
Efavirenz (7) ^[2]	MF-4	$EC_{95} 0.001 5$	80	80 000	> 300
DPC 083 (8) ^[4]	MF-2	0.002 1	-	-	0.023
DPC 961 (9) ^[4]	MF-2	$EC_{90} 0.02$	-	-	0.031
L-738372 (10)	MF-4	< 0.025	-	-	0.012
HBV 097 (11)	H9	0.001	200	200 000	0.8
Delavirdine (12)	PBMC	0.000 1	10	> 100 000	1.1
L-697,661 (13)	H9	0.012	> 60	> 4 800	0.019
Loviride (14)	MF-4	0.013	710	54 615	0.2
PNU-142721 (15) ^[5]	MF-4	$EC_{90} 0.001$	-	-	0.02
TMC 120 (16) ^[6]	MF-4	0.001	2.08	2 314	-
TMC-125 (17) ^[6]	MF-4	0.001 4	> 100	> 9 523	0.01
2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-thione (18) ^[7,8]	MF-4	0.028	24.4	86	-
MSC-204 (19) ^[9]	MF-4	0.016	87	5 438	0.007
UC 781 (20) ^[10,11]	MF-2	0.008	-	> 3 000	> 30
AGI 549 (21) ^[12]	MF-4	0.001 4 ^f	11 ^f	7 850	0.45
SJ-3366 (22) ^[13]	MF-4	0.002	1 106.842	553 421	-
(+)-Calanolide A (23) ^[14]	CEMSS	0.1	20	200	0.07
12-Oxocalanolide (24) ^[14]	CEMSS	0.4	5.6	14	5.8

^aDifferent cell lines; ^b50 % Effective concentration, or concentration required to inhibit HIV-1-induced cytopathicity by 50 %; ^c50 % Cytotoxic concentration, or concentration required to reduce viability of the host cells by 50 %; ^dSelective index, or ratio of CC_{50} to EC_{50} ; ^e50 % Inhibitory concentration, or concentration required to inhibit HIV-1 RT activity by 50 %; ^fThese values are expressed in $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (instead of $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

从中可知,很多化合物在酶或细胞试验中都显示了非常高的抑制活性,其有效抑制浓度可达 1×10^{-9} mol·L⁻¹ 水平。由于试验条件的差异,这些体外活性数据有一定程度的不平行性。

3 NNRTI 药物作用机制研究

NNRTIs 通过抑制逆转录酶(RT)来阻止 HIV 病毒感染宿主细胞,但它们与 NRTIs 的作用位点和机制不同。所有 NNRTIs 都作用于 HIV-1 逆转录酶两个亚单位 p66 和 p55 相交接处的一个亲脂性很强的“疏水口袋”(hydrophobic pocket)。这一位点距 NRTIs 结合的聚合酶活性位点很近,约 10 Å(图1)^[18]。

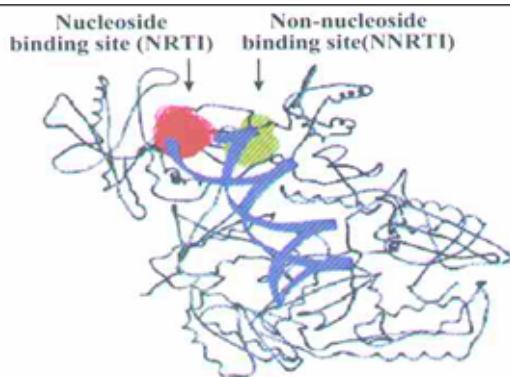


图1 两类 RT 抑制剂的作用位点

事实上,在没有 NNRTIs 结合的情况下,HIV-1 RT 上的非核苷类抑制剂结合位点并不存在;只有当 NNRTIs 与之结合时,HIV-1 RT 的氨基酸 Tyr181, Tyr188 和 Trp229 的芳环残基才能通过重新取向产生一个体积足以容纳抑制剂的“疏水口袋”^[19]。小分子抑制剂正是通过 RT 的这种构象改变进入“疏水口袋”,通过各种作用力与 RT 结合位点的氨基酸形成稳定的复合物。计算机图形学考察发现,许多 NNRTIs 在促使 RT 构象改变的同时自身也发生构象调整,以便能和 RT 结合的更加紧密。比如前面所列的第三类化合物:虽然表面结构相差较大,但仔细观察会发现,它们都可以调整为相似的“蝴蝶样”构象,尤其是处于 RT“疏水口袋”部位的情况下,两个不饱和官能团(两翼,wing 1 和 wing 2),通过中间相隔 7.5 Å,折叠出一个 108°~115° 的角度,如图 2 所示 PETF-4。通过计算机可以模拟出化合物在生物体内的有效构象,其中有些具有很高的相似度。图 3 是 TTD QM96521(黑色)和 Nevirapine(1,灰色)分别与 RT 结合时构象的叠加图^[19]。除此之外,9-Cl-TIBO(3)^[20],Nevirapine(1)和 Loviride(14)晶体结构也具有十分近似的构象。这种构象直接影响着药物分子与

RT 酶的亲和程度^[21],保证了药物能与 RT p66 亚单位作用形成稳定的复合物,使酶失活。然而,也有例外的情况,如 HBY 097(11)。它在与 RT 的疏水口袋结合时,没有保持大多数 NNRTI 的蝴蝶状构象(如图 4)^[20]。

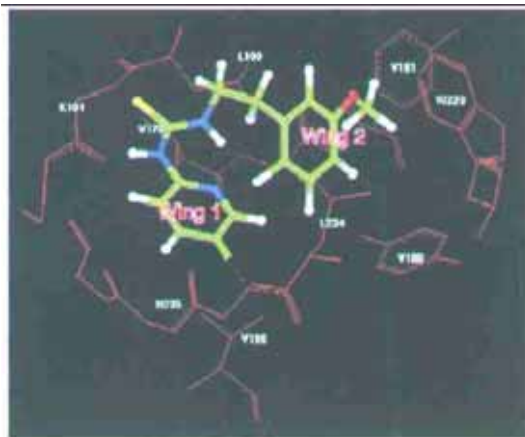


图2 PETF-4 通过分子对接方法得到的三维结构

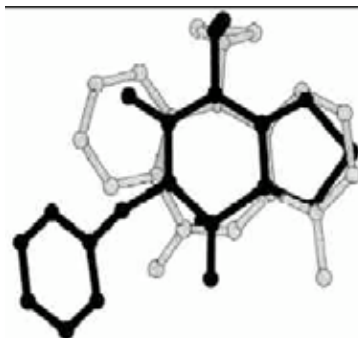


图3 QM96521, Nevirapine 构象叠加图

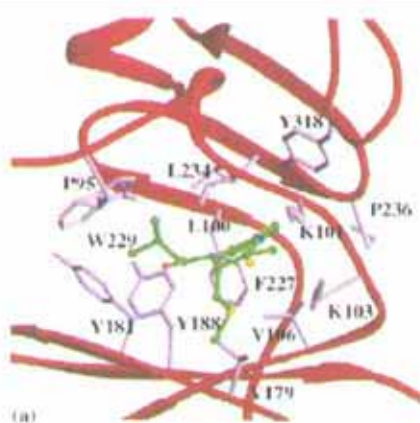


图4 与 RT 结合时的 HBY 097(绿色)

药物和酶之间结合的作用力主要有氢键、芳香环系之间的 π 键和范德华力(Van der Waals force)。其中贡献比较大的氨基酸侧链有 Val106,

Val108, Tyr181, Tyr188, Phe227, Trp229 和 Glu696^[22]。通过一些图例可以更清楚地看到目标分子与 RT 酶形成复合物时的形态及其周围受到何种力的作用。图 5 为 BHAP 衍生物 Delavirdine (12, 灰色) 和 L-697661 (13, 黑色) 在 NNRTIs 结合口袋的位置^[19]。RT 酶上的 Pro225 和 Val106 对稳定这两个化合物的结构起了很关键的作用。图 6 显示了 UC-781 与 RT 酶的结合情况。与其他 NNRTIs 作用类似, 通过与 Lys101 的羰基氧形成氢键, 同时与 Leu100, Val106, Val179, Tyr188, Phe227, Leu234, His235 产生相互作用力, 形成稳定复合物^[19]。图 7 显示了 8-Cl-TIBO (2) 与 RT 酶结合位点处氨基酸侧链的作用情况。8-Cl-TIBO 的侧链 (Wing 1) 与 p66 上的氨基酸 Pro95, Tyr181, Tyr188, Gly190 和 Trp229 作用, 苯并氮杂萘基团 (Wing 2) 同 p66 上的 Lys101, Lys103, Val106, Phe227, His235, Pro236 和 Tyr318 相互作用。而 Leu100 和 Leu234 同时和两翼作用^[23]。

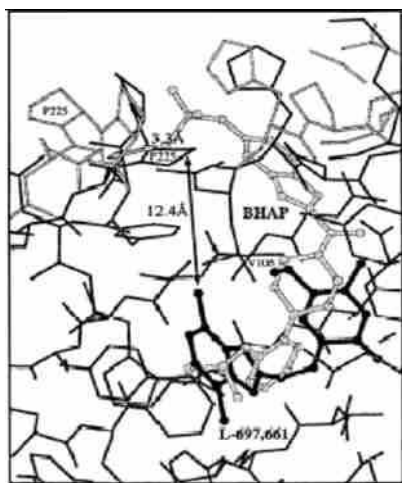


图 5 Delavirdine, L-697661 与 RT 结合

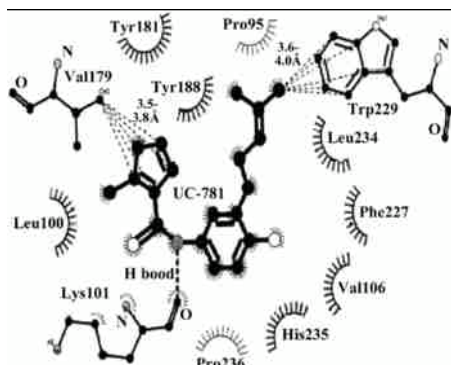


图 6 UC-781 与 RT 间各种作用力

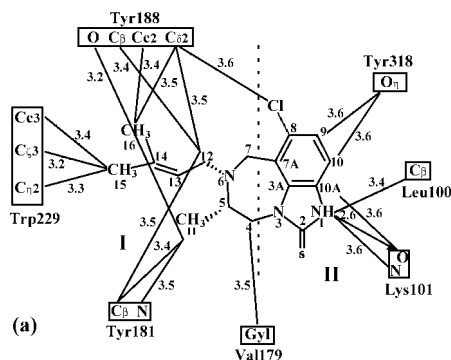


图 7 8-Cl-TIBO 与 RT 间各种作用力

4 HIV-1 对 NNRTIs 的耐药性

NNRTIs 在 DNA 链复制过程中不与 dNTP 位点结合, 因而不会影响细胞 DNA 聚合酶的正常功能, 所以毒性相对较低。但 NNRTIs 类药物在与 HIV-1 RT 作用后会在很短的时间内引发逆转录酶作用位点处表面氨基酸序列点突变或多点同时突变, 导致耐药性的产生, 这是 NNRTIs 所面临的主要问题, 阻碍了其应用。研究发现, HIV-1 RT 酶氨基酸序列中 98, 100, 101, 103, 106, 108, 179, 181, 188, 190, 225, 227, 230, 236, 238 部位突变与 NNRTIs 产生耐药性关系较大^[24]。而对大多数 NNRTIs 而言, 最常发生的突变点为 K103N 和 Y181C。不同的抑制剂往往会导致不同的突变部位, 如: TIBO 类化合物可诱发 L100I 突变; BHAP 类化合物能诱发 P236L 突变; 而 HBV 097 (11) 能引发 L74V 和 L75I 突变。另一方面, 不同的突变部位对抑制剂影响也不一样。如 L100I 单点突变, 对 Nevirapine (1) 影响很小, 但却可以使 9-Cl-TIBO (3) 的活性降低 100 倍^[25]。这使得临床上有可能采用不同的 NNRTIs 抑制某些变异的病毒。目前临床上避免或延缓抗药性的一个有效手段是不同类型的药物联合用药。

在 NNRTIs 新药的研究开发过程中, 改善或克服现有药物的耐药性是新一代药物的主要衡量指标。已报道的许多药物均对个别点突变的病毒显示出了良好的抑制作用(表 2)。其中, 依非韦伦的衍生物 DPC 083 和 DPC961 效果十分突出, 它们对 L100I, K103N, Y181C, Y188L 以及对两个点同时突变的 K103N+L100I 和 K103N+Y181C RT 酶, 抑制作用仍然很明显。2001 年, 一系列由 α -APA 类化合物启发而得的 ITU, DATA, DAPY 类化合物^[6, 26, 27], 同样显示了对广谱和重要的突变链有抑制作用, 其中 DAPY 类的 TMCI25 对两个点突变的逆转录酶抑制作用同样明显。

表 2 NNRTIs 对 RT 不同突变的抑制活性

No.	Cell	Mutation	EC ₅₀ /μmol·L ⁻¹	No.	Cell	Mutation	EC ₅₀ /μmol·L ⁻¹
8 ^[4]	MT-4	KI 03 N	< 0.027	17 ^[6]	MT-4	KI 03 N	0.0012
	MT-4	LI 001	< 0.09		MT-4	KI 03 N, Y181 C	0.0043
	MT-4	KI 03 N, P225 H	< 0.14		MT-4	LI 001	0.0033
	MT-4	KI 03 N, V108I	< 0.09		MT-4	LI 001, KI 03 N	0.019
	MT-4	KI 03 N, LI 001	< 1.69		MT-4	Y188 L	0.0046
9 ^[4]	MT-4	KI 03 N	< 0.01	19 ^[28]	MT-4	KI 03 N	0.358
	MT-4	LI 001	< 0.038		MT-4	LI 001	0.053
	MT-4	KI 03 N, P225 H	< 0.073		MT-4	Y181 C	0.095
	MT-4	KI 03 N, V108I	< 0.038	20 ^[29]	CEM	EI 38 K	0.015
	MT-4	KI 03 N, LI 001	< 1.1		CEM	KI 03 N	0.069
11 ^[30]	CEM	LI 001	0.006	CEM	LI 001	0.024	
	CEM	KI 03 N	0.009	CEM	V106 A	0.015	
	CEM	Y181 C	0.006	CEM	V179 D	0.017	
	CEM	V106 A	0.021	CEM	Y181 C	0.033	
	CEM	M 84I	0.003	CEM	Y188 H	0.045	
13	CEM	LI 001	1.45	21 ^[12]	MT-4	KI 03 N	6.9 × 10 ⁻⁴
	CEM	Y181 C	0.24		MT-4	F227L	0.001
16 ^[6]	-	LI 001	0.016		MT-4	GI 90 A	7.5 × 10 ⁻⁴
	-	KI 03	0.004	MT-4	LI 001	0.0021	
	-	V106 A	0.003	22 ^[13]	CEM SS	Y181 C	0.009
	-	Y181 C	0.008		CEM SS	Y188 C	0.06
	-	Y188 L	0.042		CEM SS	A98 G	0.0006
-	GI 90 A	0.001					

5 展望

NNRTIs 类药物具有活性高、毒性低、结构多样化,且酶的结构清楚、药物作用靶点明确等优点。这使药物化学家在开发新型结构药物方面有很大的施展空间。他们可以从不同的来源去寻找、设计新结构类型的先导化合物,并对其进行结构修饰。随着分子生物学等相关学科和计算机化学的快速发展,基于生物靶点结构合理设计药物(structure-based drug design)已成为可能。由于 HIV-RT 酶是一个比较理想的药物设计靶点,人们基于它已知的结构和作用位点,在合理设计开发新型非核苷类 RT 抑制剂方面做了许多卓有成效的工作。现在发展的二代以至于三代非核苷类抗逆转录酶抑制剂已经能够对以往药物无法作用的 RT 酶突变株产生明显的抑制作用。其中一些化合物甚至能对两个氨基酸残基同时发生突变的 RT 酶产生明显抑制作用。这些结果将激励人们去更加理性地设计开发新型的 NNRTI 药物。新思维、新技术的应用将有利于克服传统方式的盲目、繁琐、耗时等缺点,加快新药研发的速度。

References:

[1] Zhang WS, Li AL. Medicinal chemistry (药物化学) [M]. Beijing: Higher Education Publishing House, 1999. 506 -

522.

- [2] 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 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, **39**(12):2602 - 2605.
- [3] Bellarosa D, Antonelli G, Bambacioni F, *et al.* New arylpyrido diazepine and thiodiazepine derivatives are potent and highly selective HIV-1 inhibitors targeted at the reverse transcriptase [J]. *Anticiral Res*, 1996, **30**:109 - 124.
- [4] Corbett JW, Ko SS, Rodgers JD, *et al.* Expanded spectrum nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors inhibit clinically relevant mutant variants of human immunodeficiency virus type 1 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, **43**(12): 2893 - 2897.
- [5] Wishka DKG, Graber DR, Kopta LA, *et al.* (-)-6-Chloro-2-[(1-furo[2,3-c]pyridin-5-yl)ethyl]thio-4-pyrimidinamine, PNU-142721, a new broad spectrum HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, **45**:1379 - 1386.
- [6] Ludovici DW, Kavash RW, Kukla MJ, *et al.* Evolution of anti-HIV drug candidates. Part 3: diarylpyrimidine (DAPY) analogues [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, **11**:2235 - 2239.
- [7] Rao A, Carbone A, Chimirri A, *et al.* Synthesis and anti-HIV activity of 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4(1H)-one derivatives [J]. *Il Farmaco*, 2002, **57**:747 - 751.
- [8] Rao A, Carbone A, Chimirri A, *et al.* Synthesis and anti-HIV activity of 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones [J]. *Il*

- Farmaco*, 2003, **58**:115 - 120.
- [9] Vig R, Mao C, Venkatachalm TK, *et al.* Rational design and synthesis of phenethyl-5 -bromopyridyl thiourea derivatives as potent non-nucleoside inhibitors of HIV reverse transcriptase [J]. *Bioorg Med Chem*, 1998, **6**:1789 - 1797.
- [10] Balzarini J, Brouwer WG, Felauer EE, *et al.* Activity of various thiocarboxanilide derivatives against wild-type and several mutant human immunodeficiency virus type 1 strains [J]. *Antiviral Res*, 1995, **27**:219 - 236.
- [11] Borkow G, Barnard J, Nguyen TM, *et al.* Chemical barriers to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: retrovirucidal activity of UC781, a thiocarboxanilide nonnucleoside inhibitor of HIV-1 reverse transcriptase [J]. *J Virol*, 1997, **71**(4) :3023 - 3030.
- [12] Fujiwara T, Sato A, El-Farrash M, *et al.* S-1153 inhibits replication of known drug-resistant strains of human immunodeficiency virus type 1 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, **42**:1340 - 1345.
- [13] Buckheit RW, JR, Watson K, *et al.* SF-3366, a unique and highly potent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) that also inhibits HIV-2 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, **45**:393 - 400.
- [14] Xu ZQ, Buckheit RW, JR, *et al.* *In vitro* anti-human immunodeficiency virus (HIV) activity of the chromanone derivative, 12-oxocalanolid A, a novel NNRTI [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1998, **8**:2179 - 2184.
- [15] Creagh T, Ruckle JL, Tolbert DT, *et al.* Safety and pharmacokinetics of single doses of (+)-calanolide A, a novel, naturally occurring nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor, in healthy, human immunodeficiency virus-negative human subjects [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, **45**:1379 - 1386.
- [16] Borkow G, Arion D, Wainberg MA, *et al.* The thiocarboxanilide nonnucleoside inhibitor UC781 restores antiviral activity of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) against AZT-resistant human immunodeficiency virus type 1 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, **43**:259 - 263.
- [17] Ren J, Nichols C, Bird LE, *et al.* Binding of the second generation non-nucleoside inhibitors S-1153 to HIV-1 reverse transcriptase involves extensive main chain hydrogen bonding [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275**:14316 - 14320.
- [18] Rao A, Chimirri A, De Clercq E, *et al.* Synthesis and anti-HIV activity of 1-(2,6-difluorophenyl)-1H,3H-thiazolo[3,4-a]benzimidazole structurally-related 1,2-substituted benzimidazoles [J]. *Il Farmaco*, 2002, **57**:819 - 823.
- [19] De Clercq E. Perspectives of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) in the therapy of HIV-1 infection [J]. *Il Farmaco* 1999, **54**:26 - 45.
- [20] Yu H, Kalyan D, Ding JP, *et al.* Structures of tyrl88leu mutant and wild-type HIV-1 reverse transcriptase complexed with the non-nucleoside inhibitor HBY 097: inhibitor flexibility is a useful design feature for reducing drug resistance [J]. *J Mbl Biol*, 1998, **284**:313 - 323.
- [21] Parreira RLT, Abrahao O, *et al.* Conformational preferences of non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors [J]. *Tetrahedron*, 2001, **57**:3243 - 3253.
- [22] Barreca ML, Carotti A, Carrieri A, *et al.* Comparative molecular field analysis (CoMFA) and docking studies of non-nucleoside HIV-1 RT inhibitors (NNIs) [J]. *Bioorg Med Chem*, 1999, **7**:2283 - 2292.
- [23] Kalyan D, Ding JP, Yu H, *et al.* Crystal structures of 8-Cl and 9-Cl TIBO complexed with wild-type HIV-1 RT and 8-Cl TIBO complexed with the tyrl81cys HIV-1 RT drug-resistant mutant [J]. *J Mbl Biol*, 1996, **264**:1085 - 1100.
- [24] Gonzales MJ, Wu TD, Taylor J, *et al.* Extended spectrum of HIV-1 reverse transcriptase mutations in patients receiving multiple nucleoside analog inhibitors [J]. *AIDS*, 2003, **17**(6) :791 - 799.
- [25] Wang DP, Rizzo RC, Julian TR, *et al.* Antiviral drug design: computational analyses of the effects of the L100I mutation for HIV-RT on the binding of NNRTIs [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, **11**:2799 - 2802.
- [26] Ludovici DW, Kukla MJ, Grous PG, *et al.* Evolution of anti-HIV drug candidates. part 1: from α -anilinophenylacetamide (α -APA) to imidoyl thiourea (ITU) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, **11**:2225 - 2228.
- [27] Ludovici DW, Kavash RW, Kukla MJ, *et al.* Evolution of anti-HIV drug candidates. part 2: diaryltriazone (DATA) analogues [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, **11**:2229 - 2234.
- [28] Hogberg M, Sahlberg B, Engelhardt P, *et al.* Urea-PETT compounds as a new class of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. 3. synthesis and further structure-activity relationship studies of PETT analogues [J]. *J Med Chem*, 1999, **42**(20) :4150 - 4160.
- [29] Esnouf RM, Stuart DI, De Clercq E, *et al.* Models which explain the inhibition of reverse transcriptase by HIV-1-specific (thio) carboxanilide derivatives [J]. *Biochem Biophys Commun*, 1997, **234**(2) :458 - 464.
- [30] Balzarini J, Pelemans H, Riess G, *et al.* Retention of marked sensitivity to HBY097 in the combined presence of quinoxaline HBY097 and lamivudine [J]. *Biochem Pharmacol*, 1998, **55**(5) :617 - 625.