

# HIV蛋白酶抑制剂研究进展

杨勤刚, 何煦昌, 白东鲁\*

(中国科学院 上海生命科学研究院 上海药物研究所, 上海 201203)

关键词: 艾滋病; HIV; 蛋白酶抑制剂

中图分类号: R916.1; R916.2 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2005)05 - 0389 - 06

## Current status of HIV protease inhibitors

YANG Qin-gang, HE Xu-chang, BAI Dong-lu\*

(Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

**Key words:** AIDS; HIV; protease inhibitors

艾滋病 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)是由人免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV)感染导致人体免疫机能缺陷,而易于发生机会性感染和肿瘤的临床综合征<sup>[1]</sup>。在过去的20多年里造成2 000多万人死亡,目前全世界艾滋病病毒感染者已达4 000万左右<sup>[2]</sup>。

自1981年发现首例艾滋病病例以来,世界各国的科学家们就致力于寻找抗艾滋病药物。随着人们对HIV病毒学和分子生物学等方面研究的深入,1986年,Kramer等<sup>[3]</sup>首次报导HIV蛋白酶 (protease, PR)可作为潜在的艾滋病药物“靶标”。HIV蛋白酶是由两条相同的肽链组成的同质二聚体,具有 $C_2$ 对称轴,每条肽链由99个氨基酸残基构成。HIV蛋白酶的活性中心位于两条肽链之间,由两个起催化的天冬氨酸 (Asp 25和 Asp 25')组成。在这两个天冬氨酸残基的附近有一个水分子,在催化过程中此水分子作为亲核体。两个单体的相同的氨基酸残基构成与底物键合的缝隙,其一边由上述的两个天冬氨酸残基组成,另一边是由此二聚体形成的 $\beta$ -发卡式

的结构。HIV蛋白酶可以裂解难以水解的肽键,如: Tyr-Pro和 Phe-Pro<sup>[4,5]</sup>。HIV蛋白酶在病毒复制过程中的主要作用是将 gag和 gag-pol基因产物裂解成病毒成熟所需要的结构蛋白 (基质、壳、核壳)和酶类 (蛋白酶、整合酶、逆转录酶)<sup>[6]</sup>。虽然在体内抑制这种酶的活性,其子代病毒仍会产生,但却是不成熟和不具传染性的。因此抑制HIV蛋白酶,可阻止病毒进一步感染。目前人们已经制备了大量的肽类和非肽类HIV蛋白酶抑制剂。

### 1 拟肽类 HIV蛋白酶抑制剂

HIV蛋白酶是天冬氨酰蛋白酶,它的底物是肽。在水解过程中,一个水分子被天冬氨酰残基的羧基活化,水分子中的氧原子亲核进攻要断裂的酰胺键的羰基,产生一个四面体型过渡中间体,然后分裂形成氨基和羧基化合物 (图1)。将短肽底物中能被HIV蛋白酶裂解的肽键用不可裂解的电子等排物代替,就得到了一系列的拟肽类HIV蛋白酶抑制剂<sup>[7]</sup>。

1.1 经FDA批准上市的HIV蛋白酶抑制剂 目前已在临床广泛应用的HIV蛋白酶抑制剂有:沙奎那韦 (saquinavir 1)、茚地那韦 (indinavir 2)、利托那韦 (ritonavir 3)、奈非那韦 (nelfinavir 4)、安普那韦 (amprenavir 5)和洛匹那韦 (lopinavir 6),其中洛匹那韦是和低剂量的利托那韦做成复合制剂,少量的

收稿日期: 2005-01-06.

基金项目: 上海市科委重点科技攻关项目 (024319226); 国家高技术研究发展计划 (863计划) 资助项目 (2004AA2Z3756).

\* 通讯作者 Tel: 86 - 21 - 50805896, Fax: 86 - 21 - 50807088, E-mail: dibai@mail.shnc.ac.cn

利托那韦是用来抑制洛匹那韦的代谢以增加它在血液中的浓度,从而加强其抗 HIV 作用<sup>[8]</sup>。

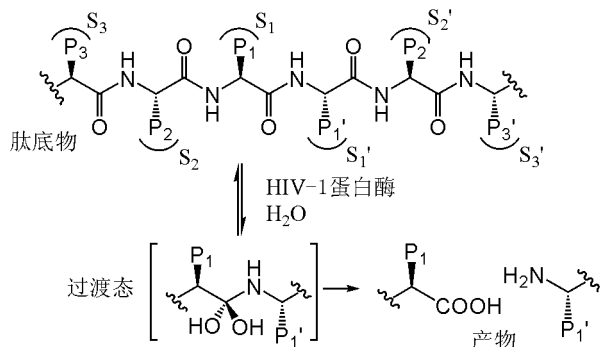


图 1 HIV 蛋白酶与肽底物的结合和水解

自从这些 HIV 蛋白酶抑制剂以及高效抗逆转录病毒疗法 (highly active anti-retroviral therapy, HAART)应用于临床以来, HIV 感染者死亡率明显降低。然而长期使用这些蛋白酶抑制剂产生明显的毒副作用和耐药性。脂代谢紊乱是多种副作用中最突出且最复杂的,临床表现为面部和外周脂肪消耗,腹、背、胸部脂肪积聚。病人出现高甘油三脂血症和高胆固醇血症、乳酸和血糖升高、对胰岛素产生耐药性等<sup>[9]</sup>。其次是耐药性,尤其是交叉耐药性是导致临床治疗失败的一个主要原因。HIV 耐药性的产生是由于高的病毒复制速率,逆转录酶在逆转录过程中的出错和在蛋白酶抑制剂的选择性作用下的进化结果。对 HIV 蛋白酶的分子作用机制、遗传变异特点的研究正在不断深入,在此基础上必将开发出更多的新药<sup>[10,11]</sup>。

2003 年又有 atazanavir (7) 和 fosamprenavir (8) 两个新的蛋白酶抑制剂通过了美国 FDA 的审批。由 Bristol-Myers Squibb 公司研发的 atazanavir 是一种每天只需服用一次的全新的蛋白酶抑制剂。它对胰岛素和脂肪代谢影响非常小,病人没有腹泻等副作用。能轻度增加胆红素水平,个别患者出现黄疸等,但病人很少因此而停止用药<sup>[12]</sup>。Fosamprenavir 是安普那韦的前体药物,由 Vertex 公司和 Glaxo-SmithKline 公司联合开发。它是安普那韦磷酸化钙盐,易溶于水,生物利用度高,病人服用少量 fosamprenavir 就可以达到与安普那韦相同的疗效<sup>[13]</sup>。

这些蛋白酶抑制剂虽然能抑制 HIV 复制,但不能彻底消灭体内的病毒,也不能阻止体内耐药毒株的出现和传播。因此,新的蛋白酶抑制剂的研究开发势在必行。

### 1.2 正在做临床研究的拟肽类 HIV 蛋白酶抑制剂

国际上已上市的 HIV 蛋白酶抑制剂都是拟肽类化合物。此类药物具有很强的活性,在高效抗逆转录病毒疗法中起着关键的作用。结合结构生物学和计算机辅助药物设计等新方法,设计合成新的拟肽类 HIV 蛋白酶抑制剂仍是抗艾滋病药物研究的一个热点。正在做临床研究的有 TMC114 (9), GW640385 (10) 和 RO033-4649 (11)。

TMC114 (9) 是在安普那韦的基础上,以 (3R), (3aS), (6aR) 二并四氢咪喃代替 (3R) 四氢咪喃基团。TMC114 对实验室培养 HIV-1 毒株和原发的临床分离毒株都有很高的活性,其 IC<sub>50</sub> 分别为 ~0.003 μmol·L<sup>-1</sup> 和 ~0.009 μmol·L<sup>-1</sup>, 细胞毒性很低。TMC114 可以抑制对沙奎那韦、茚地那韦、奈非那韦或利托那韦具有耐药性的 HIV-1<sub>NL4-3</sub> 变异毒株 (IC<sub>50</sub> = 0.003 - 0.029 μmol·L<sup>-1</sup>), 对安普那韦耐药性的 HIV-1<sub>NL4-3</sub> 变异毒株活性较差 (IC<sub>50</sub> = 0.22 μmol·L<sup>-1</sup>)。对于从临床分离的对多个蛋白酶抑制剂具有耐药性的 HIV-1 变异毒株,它也有很好的抑制活性。TMC114 是由 Tibotec-Virco 公司开发,目前处于临床 II 期研究阶段<sup>[14]</sup>。

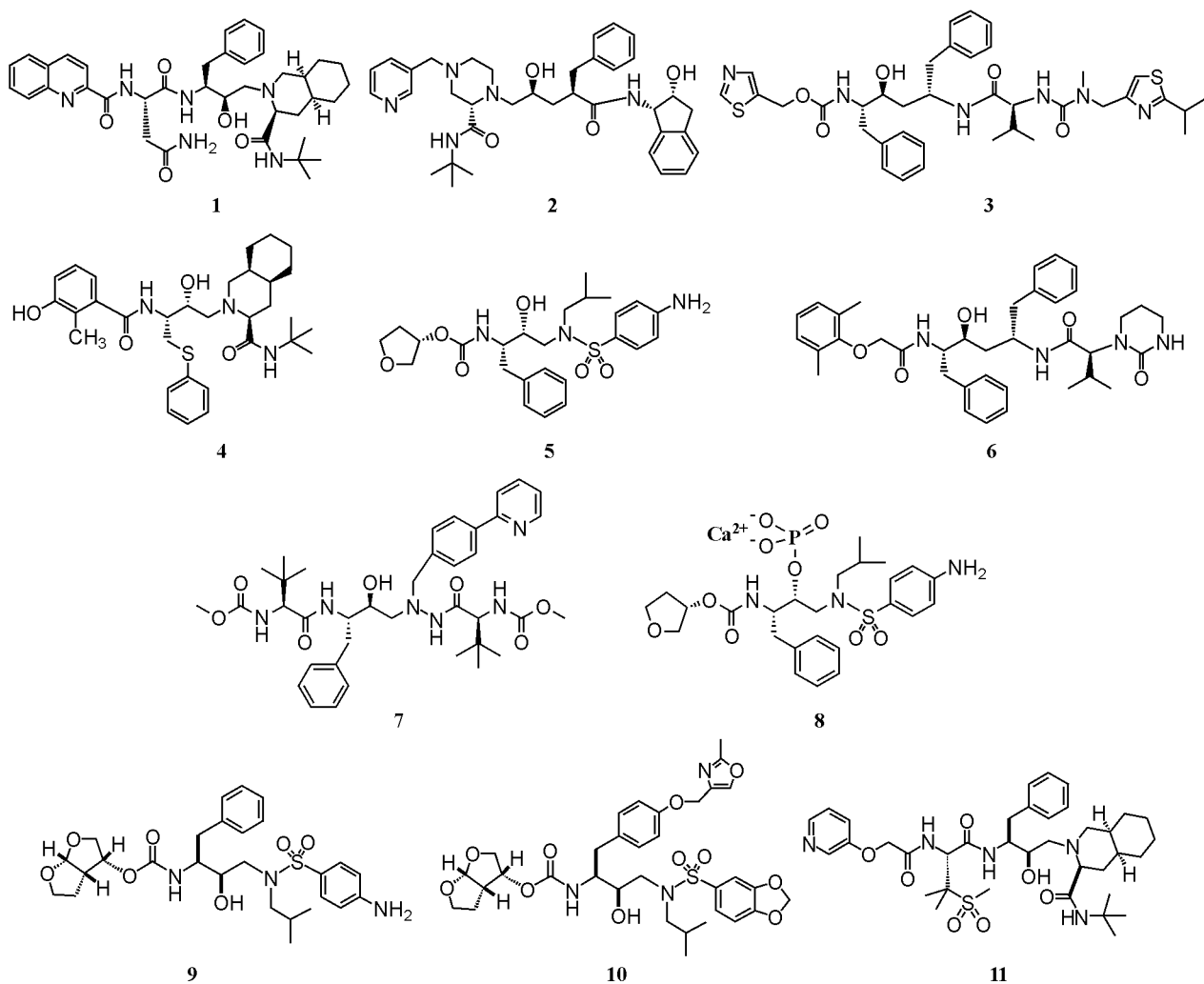
GW640385 (VX-385, 10) 是 GlaxoSmithKline 和 Vertex 公司在安普那韦的基础上开发的新药,对野生 HIV 毒株 (IC<sub>50</sub> = 1.1 nmol·L<sup>-1</sup>) 和临床分离的对多个蛋白酶抑制剂具有耐药性的 HIV 毒株都有很高的活性。GW640385 对一批临床分离的具有耐药性的 55 个 HIV 毒株中的 65% 仍有抗病毒活性。它剂量低,由此可以降低药物的副作用。与利托那韦联用时,药效还能增强。目前 GW640385 处于临床 I 期研究阶段<sup>[15]</sup>。

RO033-4649 (11) 是 Roche 公司在沙奎那韦的基础上,通过结构活性关系研究针对 HIV 耐药毒株开发的新药。它对野生 HIV-1 毒株的蛋白酶具有很好的活性 (IC<sub>50</sub> = 1 nmol·L<sup>-1</sup>), 而对细胞的蛋白酶在 50 μmol·L<sup>-1</sup> 的浓度时,仍无活性。对野生 HIV-1 和平均具有 10 个耐药性变异位点的毒株具有中度的活性 (IC<sub>50</sub> = 17 nmol·L<sup>-1</sup>, IC<sub>90</sub> = 37 nmol·L<sup>-1</sup>)。该药处于临床 I 期研究阶段<sup>[16]</sup>。

拟肽类蛋白酶抑制剂具有很高的活性,已在临床上广泛应用,积累了大量经验。针对目前临床上出现的耐药性问题,研究具有新的结合方式的拟肽类蛋白酶抑制剂以及对现有活性先导化合物的改造仍然是一个主要的研究方向<sup>[7,8,17,18]</sup>。

### 2 非肽类 HIV 蛋白酶抑制剂

由于拟肽类化合物在临床试验中发现其药代动



力学不理想,口服吸收率低,加上复杂、昂贵的合成工艺限制了其发展。各国的研究人员将注意力集中到研究分子量低、可以和酶上有限的区域结合的非肽类 HIV蛋白酶抑制剂。近几年,从大量非肽类化合物中已筛选出一些活性的先导化合物。其中发展较快的是二氢吡喃酮类和环脲类化合物。

**2.1 二氢吡喃酮类** 二氢吡喃酮类化合物是一类最具发展潜力的非肽类 HIV蛋白酶抑制剂。最初 Upjohn公司和 Parke-Davis公司的研究人员分别从化合物库中筛选出具有 HIV蛋白酶抑制活性的化合物 wafarin(12)和 4-羟基香豆素类化合物,如 PD 099560(13)。Pharmacia公司在其化合物库中进一步筛选与 wafarin结构类似的化合物得到苯丙香豆素(phenprocoumon, 14)。苯丙香豆素与 HIV蛋白酶复合物的晶体结构分析显示(图 2),其香豆素环上的羟基与两个起催化作用的天冬氨酸残基 Asp 25 和 Asp 25' 形成氢键,内酯的两个氧原子与两个异亮氨酸残基 Ile 50 和 Ile 50' 形成氢键,代替蛋白酶与

肽底物复合物中的水分子,将酶的活性中心和抑制剂结合起来<sup>[19,20]</sup>。在此基础上,Pharmacia公司通过 X射线结晶学、计算机分子模拟、合成化学和分子生物学等方法对其进行优化,得到化合物 PNU-96988(15)。它具有良好的酶抑制活性( $K_i = 38 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )和病毒抑制活性。对 HIV-1 感染的 H9 和 MT4 细胞,  $ED_{50} = 3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。该化合物在临床 I 期研究阶段表现良好,由于第二代抑制剂的活性更好而终止了研究。第二代化合物 PNU-103017(16)具有很高的 HIV-1 和 HIV-2 蛋白酶抑制活性( $K_i$ 分别为 0.8

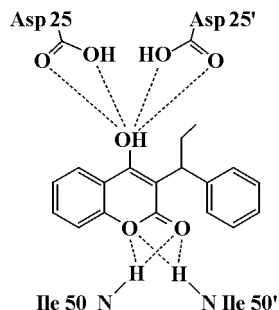


图 2 苯丙香豆素与 HIV-1 蛋白酶的结合

和  $3.2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 及很好的病毒抑制活性和生物利用度。由于分子中的环辛基吡喃酮限制该分子与蛋白键合以及更优秀的第三代化合物 tipranavir (PNU-140690, 17) 的出现而同样终止了临床研究<sup>[21]</sup>。

Tipranavir 具有更高的 HIV-1 蛋白酶抑制活性和抗病毒活性 ( $K_i = 0.008 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{IC}_{50} = 0.03 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{IC}_{90} = 0.10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[22]</sup>。它对 HIV-1 的实验室病毒株及临床分离株包括耐药株均表现出很强的活性, 其体外平均  $\text{IC}_{90}$  为  $0.16 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。体外研究显示, 该药与其他抗逆转录病毒药物联用时可产生协同作用。当与利托那韦联用时, 该药的血液浓度显著提高。II 期临床试验显示该药与利托那韦联用有良好的安全性和耐受性。它的主要不良反应为胃肠道副作用, 包括腹泻、恶心、呕吐及腹痛。Tipranavir 代表了一类有效对抗多重耐药株的结构全新的药物。考虑到与其他蛋白酶抑制剂的交叉耐药性, 它可用于对现有蛋白酶抑制剂产生耐药性的病人<sup>[23]</sup>。目前该药处于临床 III 期试验阶段。

Parke-Davis 公司的研究人员也报道了一系列具有抗病毒活性的此类化合物, 如 PDI 78390 (18,  $K_i = 0.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[24]</sup>。由于氨基在体内代谢过程中不稳定, 他们又开发了另一个含有噻吩基团的化合物 (19), 其  $\text{IC}_{50}$  和  $\text{EC}_{50}$  分别为  $0.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $0.12 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 而且具有很好的药代动力学特性<sup>[25]</sup>。

吡喃酮类化合物具有很高的蛋白酶抑制活性和良好的生物利用度, 新的类似化合物的研究开发是非肽类蛋白酶抑制剂研究的一个热点。

**2.2 环脲类** Dupont-Merck 公司的研究人员在环脲类 HIV 蛋白酶抑制剂的研究方面起了开创性的作用。他们通过 HIV 蛋白酶与抑制剂复合物晶体的 X 射线结构分析的研究, 发现在复合物中有一个四配位的水分子“桥”, 它作为氢键的“受体”与酶活性中心的两个异亮氨酸残基 Ile 50 和 Ile 50' 形成两个氢键; 同时又作为“供体”与抑制剂中的羰基氧原子形成氢键, 从而将活性中心与抑制剂结合起来。以此为基础, 他们设计了七元环脲的骨架 (图 3)。其中羰基氧原子模拟复合物中水分子的作用, 而邻二羟基与酶活性中心的两个天冬氨酸残基 Asp 25 和 Asp 25' 形成氢键<sup>[21, 26]</sup>。在  $\text{P}_1/\text{P}_1'$  位设计为苄基取代, 苄基具有较强的酶亲和力和一定的亲脂性。两个侧链则与活性中心的其他氨基酸残基作用<sup>[27]</sup>。在此基础上, 他们设计合成了一系列环脲类化合物,

其中化合物 DMP323 (20) 活性较高 ( $K_i = 0.34 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{IC}_{90} = 57 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 曾作为临床候选化合物, 后因其溶解性差导致血浓度不稳定而放弃<sup>[28]</sup>。化合物 DMP450 (21,  $K_i = 0.28 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{IC}_{90} = 130 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 是在 DMP323 基础上为提高水溶性而设计的。I 期临床实验表明它具有很好的耐受性, 但由于可导致心律不齐而终止了研究<sup>[28, 29]</sup>。

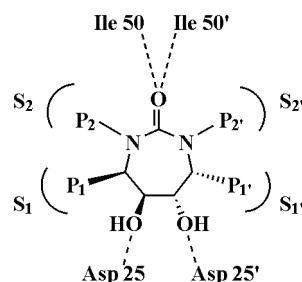


图 3 环脲类化合物与 HIV 蛋白酶的结合

随后 Dupont-Merck 公司的研究人员又报道了两个新的非对称的环脲类 HIV 蛋白酶抑制剂 DMP850 (22) 和 DMP851 (23)。它们显示很高的酶亲和力 ( $K_i = 31$  和  $21 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和抗病毒活性 ( $\text{IC}_{90} = 62$  和  $56 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )。已作为第三代临床候选化合物进行研究<sup>[30]</sup>。

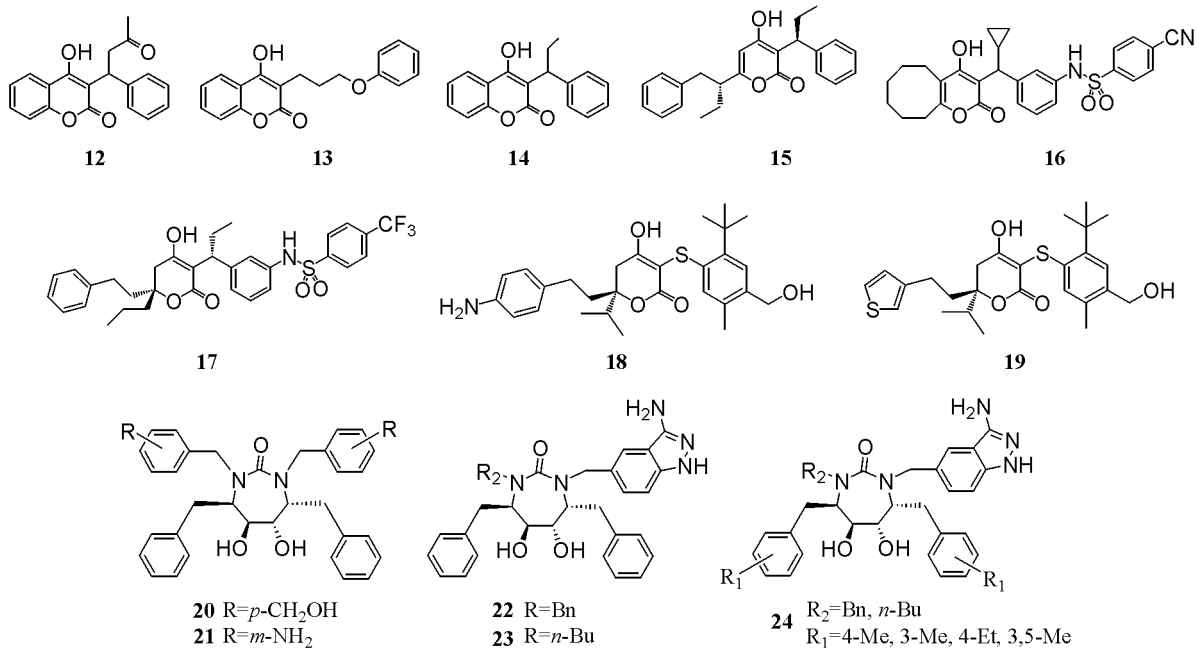
为提高体内抗病毒活性, Bristol-Myers Squibb 公司的研究人员又设计合成了一系列  $\text{P}_1/\text{P}_1'$  位为烷基取代的苄基环脲类化合物 (24), 但由于药代动力学问题阻碍了进一步研究<sup>[31]</sup>。

另外, 七元环磺酰胺、环砜、磷酰胺和重氮环脲等类化合物也有报道, 虽然这些化合物的作用机理与七元环脲类化合物不尽相同, 但也显示出较强的抗病毒活性<sup>[7, 8, 32]</sup>。

### 3 新的研究方向<sup>[11, 7]</sup>

**3.1 蛋白酶单体的二聚化抑制剂** HIV 蛋白酶是由两条相同的肽链组成同质二聚体, 两个单体的二聚化对于具有催化作用的位点的生成具有决定性的作用, 因此抑制单体的二聚化可以阻止蛋白酶生成。由于两单体的接触面是由包括两单体的 C 端和 N 端的氨基酸残基在内的 4 股反平行的  $\beta$ -发卡式结构形成的, 而二聚体的接触面在病毒的变异过程中非常稳定, 所以针对蛋白酶单体的二聚化而开发新的拟肽类或非肽类 HIV 蛋白酶抑制剂已成为研究的新热点<sup>[33, 34]</sup>。

**3.2 蛋白酶杂二聚体的研究** 通过设计有缺陷的蛋白酶单体, 如用其他氨基酸取代蛋白酶中的 Asp-25, Ile-49, Gly-50 等, 使这些有缺陷的蛋白酶单体与



HIV蛋白酶形成杂二聚体来抑制 HIV蛋白酶的活性,也是一个新的研究方向<sup>[35]</sup>。

**3.3 其他** 通过对一些化合物库随机筛选,寻找一些结构全新的具有 HIV蛋白酶抑制活性的化合物,再进行结构优化,依旧是开发新的蛋白酶抑制剂的重要途径<sup>[8, 36, 37]</sup>。

#### 4 总结

HIV蛋白酶是一个抗艾滋病病毒药物研究的理想靶点。蛋白酶抑制剂以及高效抗逆转录病毒疗法在临床上的应用,可以明显降低病毒载量,改善患者的生活质量,延长病人生命。另一方面,蛋白酶抑制剂副作用明显,更由于 HIV病毒快速地进行变异,耐药性也成为严重的问题。目前科研人员已将研究重点放在如何防止病毒产生耐药性上,并针对现有蛋白酶抑制剂的一些缺陷,正在设计和研究新一代安全有效的蛋白酶抑制剂。

#### References

- [1] Fauci AS. The human immunodeficiency virus: infectivity and mechanism of pathogenesis [ J ]. *Science*, 1988, **239** (4840): 617 - 622.
- [2] Fernandez-Ortega C, Dubed M, Ramos Y, et al. Non-induced leukocyte extract reduces HIV replication and TNF secretion [ J ]. *Biochem Biophys Res Comm*, 2004, **325**(3): 1075 - 1081.
- [3] Kramer RA, Schaber MD, Skalla AM, et al. HTLV-III gag protein is processed in yeast cells by the virus pol-protease [ J ]. *Science*, 1986, **231**(4745): 1580 - 1584.
- [4] Erickson JW. HIV-1 protease as a target for AIDS therapy [ A ]. Ogden RC, Flexner CW. *Protease Inhibitors in AIDS Therapy* [ M ]. New York: Marcel Dekker, 2001. 1 - 25.
- [5] Wlodawer A, Gustchina A. Structural and biochemical studies of retroviral proteases [ J ]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, **1477**(1 - 2): 16 - 34.
- [6] Erik DC. *Antiretroviral Therapy* [ M ]. Washington D. C.: HSM Press, 2001. 148 - 150.
- [7] Rodriguez-Barrrios F, Gago F. HIV protease inhibition: limited recent progress and advances in understanding current pitfalls [ J ]. *Curr Top Med Chem*, 2004, **4**(9): 991 - 1007.
- [8] Tumer SR. HIV protease inhibitors the next generation [ J ]. *Curr Med Chem Anti-Infective Agents*, 2002, **1**(2): 141 - 162.
- [9] Bucher HC, Young J, Battegay M. Protease inhibitors-sparing simplified maintenance therapy: a need for perspective [ J ]. *J Antimicrob Chemother*, 2004, **54**(2): 303 - 305.
- [10] King NM, Prabu-Jeyabalan M, Nalivaika EA. Combating susceptibility to drug resistance: lessons from HIV-1 protease [ J ]. *Chem Biol*, 2004, **11**(10): 1333 - 1338.
- [11] PrejdoVa J, Soucek M, Konvalinka J. Determining and overcoming resistance to HIV protease inhibitors [ J ]. *Curr Drug Targets Infect Disorders*, 2004, **4**(2): 137-152.
- [12] Piliero PJ. Atazanavir: a novel HIV-1 protease inhibitor [ J ]. *Expert Opin Invest Drugs*, 2002, **11**(9): 1295 - 1301.
- [13] Becker S, Thomson L. Fosamprenavir: advancing HIV protease inhibitor treatment options [ J ]. *Expert Opin Pharmacother*, 2004, **5**(9): 1995 - 2005.
- [14] Koh Y, Nakata H, Maeda K, et al. Novel bis-tetrahydrofuranlyurethane-containing nonpeptidic protease inhibitor (PI) UIC-94017 (TMCI14) with potent activity against multi-PI-resistant human immunodeficiency virus

- in vitro* [ J ]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, **47** (10): 3123 - 3129.
- [ 15 ] Partridge M, Burns K. Vertex Pharmaceuticals and Glaxo-SmithKline. Investigational HIV protease inhibitor 640385 ( VX-385 ) combats resistance -preclinical results presented at 2nd IAS conference on HIV pathogenesis and treatment [ N ]. *Press Release*, 2003-07-14.
- [ 16 ] Cammack N, Swallow S, Heilek-Snyder G, *et al*. RO 033-4649: a new HIV-1 protease inhibitor designed for both activity against resistant virus isolates and favorable pharmacokinetic properties [ A ]. *10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections* [ R ]. Boston, 2003.
- [ 17 ] Abdel-Rahman HM, Al-karamany GS, El-koussi NA, *et al*. HIV protease inhibitors: peptidomimetic drugs and future perspective [ J ]. *Curr Med Chem*, 2002, **9**(21): 1905 - 1922.
- [ 18 ] Randolph JT, DeGoey DA. Peptidomimetic inhibitors of HIV protease [ J ]. *Curr Top Med Chem*, 2004, **4**(10): 1079 - 1095.
- [ 19 ] Thaisrivongs S, Tomich PK, Watenpaugh KD, *et al*. Structure-based design of HIV protease inhibitors: 4-hydroxycoumarins and 4-hydroxy-2-pyrones as non-peptidic inhibitors [ J ]. *J Med Chem*, 1994, **37**(20): 3200 - 3204.
- [ 20 ] Wang S, Milne GWA, Yan X, *et al*. Discovery of novel, non-peptide HIV-1 protease inhibitors by pharmacophore searching [ J ]. *J Med Chem*, 1996, **39**(10): 2047 - 2054.
- [ 21 ] Chrusciel RA, Strobbach JW. Non-peptidic HIV protease inhibitors [ J ]. *Curr Top Med Chem*, 2004, **4**(10): 1097 - 1114.
- [ 22 ] 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 ]. *J Med Chem*, 1996, **39**(22): 4349 - 4353.
- [ 23 ] Mehandru S, Markowitz M, Tipranavir: a novel non-peptidic protease inhibitor for the treatment of HIV infection [ J ]. *Exp Opin Investig Drugs*, 2003, **12**(11): 1821 - 1828.
- [ 24 ] Vara Prasad JVN, Boyer FE, Domagala JM, *et al*. Nonpeptidic HIV protease inhibitors possessing excellent antiviral activities and therapeutic indices. PD 178390: a lead HIV protease inhibitor [ J ]. *Bioorg Med Chem*, 1999, **7**(12): 2775 - 2800.
- [ 25 ] Hagen SE, Domagala J, Gajda C, *et al*. 4-Hydroxy-5,6-dihydropyrones as inhibitors of HIV protease: the effect of heterocyclic substituents at C-6 on antiviral potency and pharmacokinetic parameters [ J ]. *J Med Chem*, 2001, **44**(14): 2319 - 2332.
- [ 26 ] Lam PYS, Jadhav PK, Eyemann CJ, *et al*. Rational design of potent, bioavailable, nonpeptide cyclic ureas as HIV protease inhibitors [ J ]. *Science*, 1994, **263**(5145): 380 - 384.
- [ 27 ] De Lucca GV, Lam PYS. *De novo* design, discovery and development of cyclic urea HIV protease inhibitors [ J ]. *Drugs Future*, 1998, **23**(9): 987 - 994.
- [ 28 ] Lam PYS, Ru Y, Jadhav PK, *et al*. Cyclic HIV protease inhibitors: synthesis, conformational analysis, P2/P2' structure-activity relationship, and molecular recognition of cyclic ureas [ J ]. *J Med Chem*, 1996, **39**(18): 3514 - 3525.
- [ 29 ] Hodge CN, Aldrich PE, Bachelor 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 [ J ]. *Chem Biol*, 1996, **3**(4): 301 - 314.
- [ 30 ] Rodgers JD, Lam PYS, Johnson BL, *et al*. Design and selection of DMP 850 and DMP 851: the next generation of cyclic urea HIV protease inhibitors [ J ]. *Chem Biol*, 1998, **5**(10): 597 - 608.
- [ 31 ] Kaltenbach RF 3rd, Patel M, Waltemire RE, *et al*. Synthesis, antiviral activity and pharmacokinetics of P1/P1' substituted 3-aminoindazole cyclic urea HIV protease inhibitors [ J ]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, **13**(4): 605 - 608.
- [ 32 ] Huang PP, Randolph JT, Klein LL, *et al*. Synthesis and antiviral activity of P1'arylsulfonamide azacyclic urea HIV protease inhibitors [ J ]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, **14**(15): 4075 - 4078.
- [ 33 ] Boggetto N, Reboud-Ravaux M. Dimerization inhibitors of HIV-1 protease [ J ]. *Biol Chem*, 2002, **383**(9): 1321 - 1324.
- [ 34 ] Bowman MJ, Chmielewski J. Crucial amides for dimerization inhibitors of HIV-1 protease [ J ]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, **14**(6): 1395 - 1398.
- [ 35 ] Rozzelle JE, Dauber DS, Todd S, *et al*. Macromolecular inhibitors of HIV-1 protease [ J ]. *J Biol Chem*, 2000, **275**(10): 7080 - 7086.
- [ 36 ] Lebon F, Ledecq M. Approaches to the design of effective HIV-1 protease inhibitors [ J ]. *Curr Med Chem*, 2000, **7**(4): 455 - 477.
- [ 37 ] Bosi S, Ros TD, Spalluto G, *et al*. Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications [ J ]. *Eur J Med Chem*, 2003, **38**(11 - 12): 913 - 923.