

Retroviruses

1970: **Baltimore+Temin**

Αντίστροφη μεταγραφάση

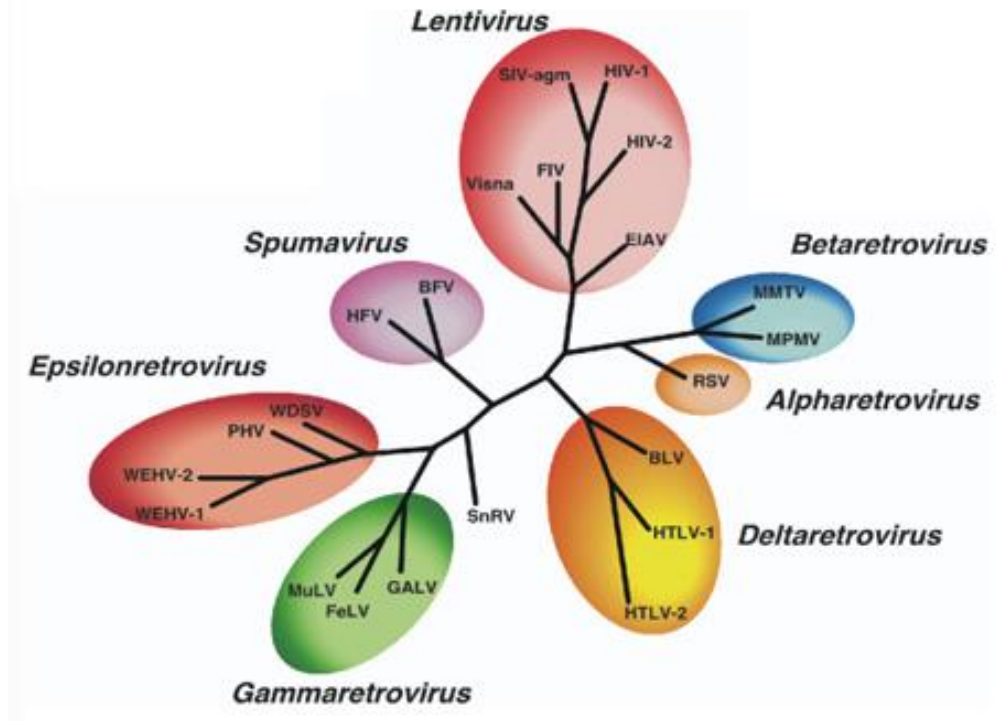
Nobel prize

- Oncovirus (oncornavirus):
- HTLV-1, HTLV-2, HTLV-5
- Spumavirus (δεν είναι παθογόνος)
- Lentivirus (HIV-1, HIV-2)

Peyton Rous: Rous sarcoma virus,
συσχέτιση ρετροϊών με ογκογονίδια
(growth-controlling genes)

Robert Gallo: ο HTLV-1 μπορεί
να προκαλέσει λεμφοκυτταρική λευχαιμία
στον άνθρωπο

Δεκαετία 1980-90: ταυτόχρονη αναγνώριση από τους **Robert Gallo** (ΗΠΑ) και **Luc Montagniet** (Γαλλία) της προσβολής από τον HIV-1 ως παθογόνου αιτίου για το AIDS

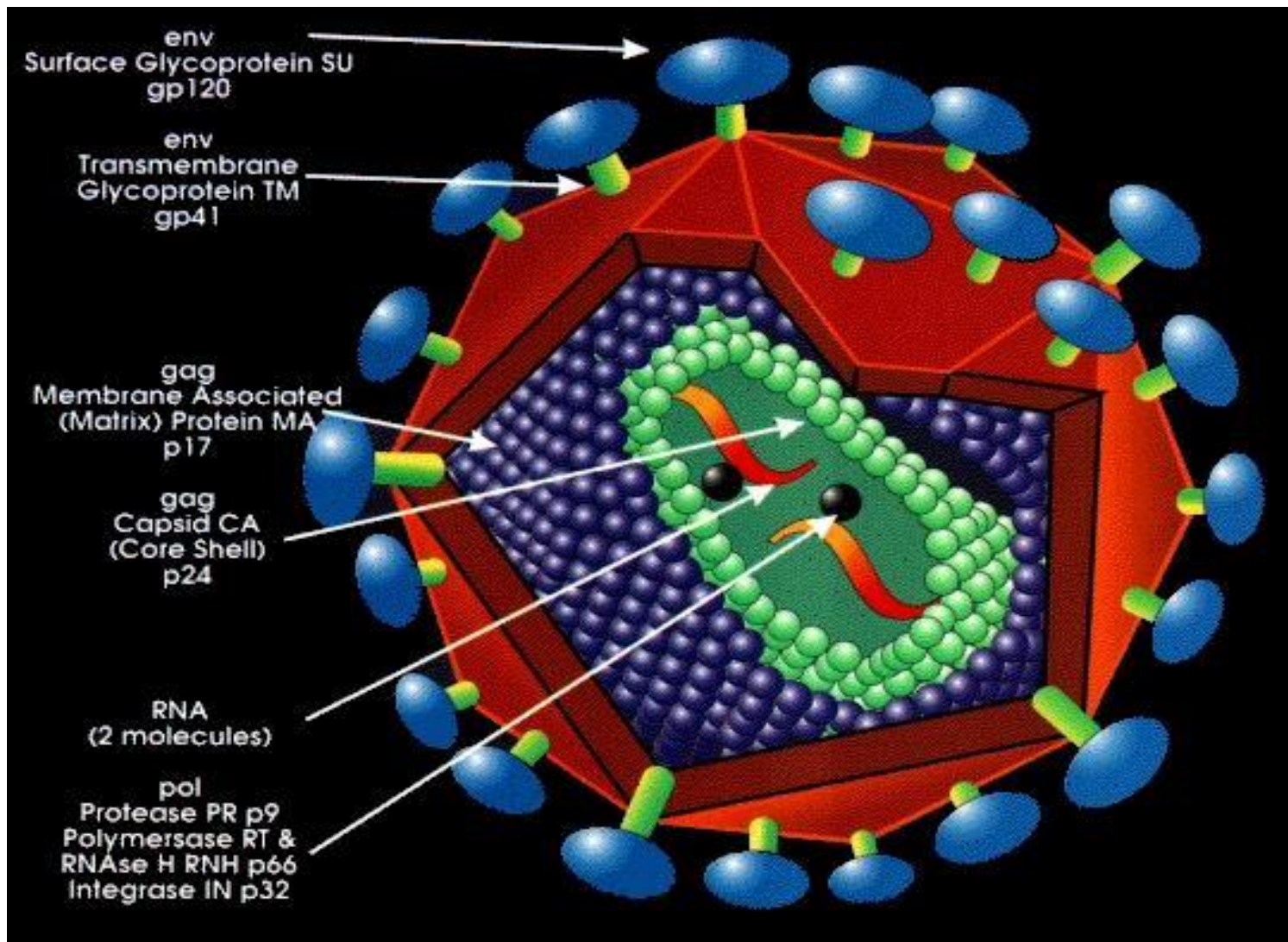


Ο ιός HIV προσβάλλει τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και σταδιακά εξασθενίζει την άμυνα του οργανισμού. Ο πολλαπλασιασμός του είναι σύνθετη και πολυεπίπεδη διαδικασία την οποία επιχειρούν να αναστείλουν τα αντιικά φάρμακα.

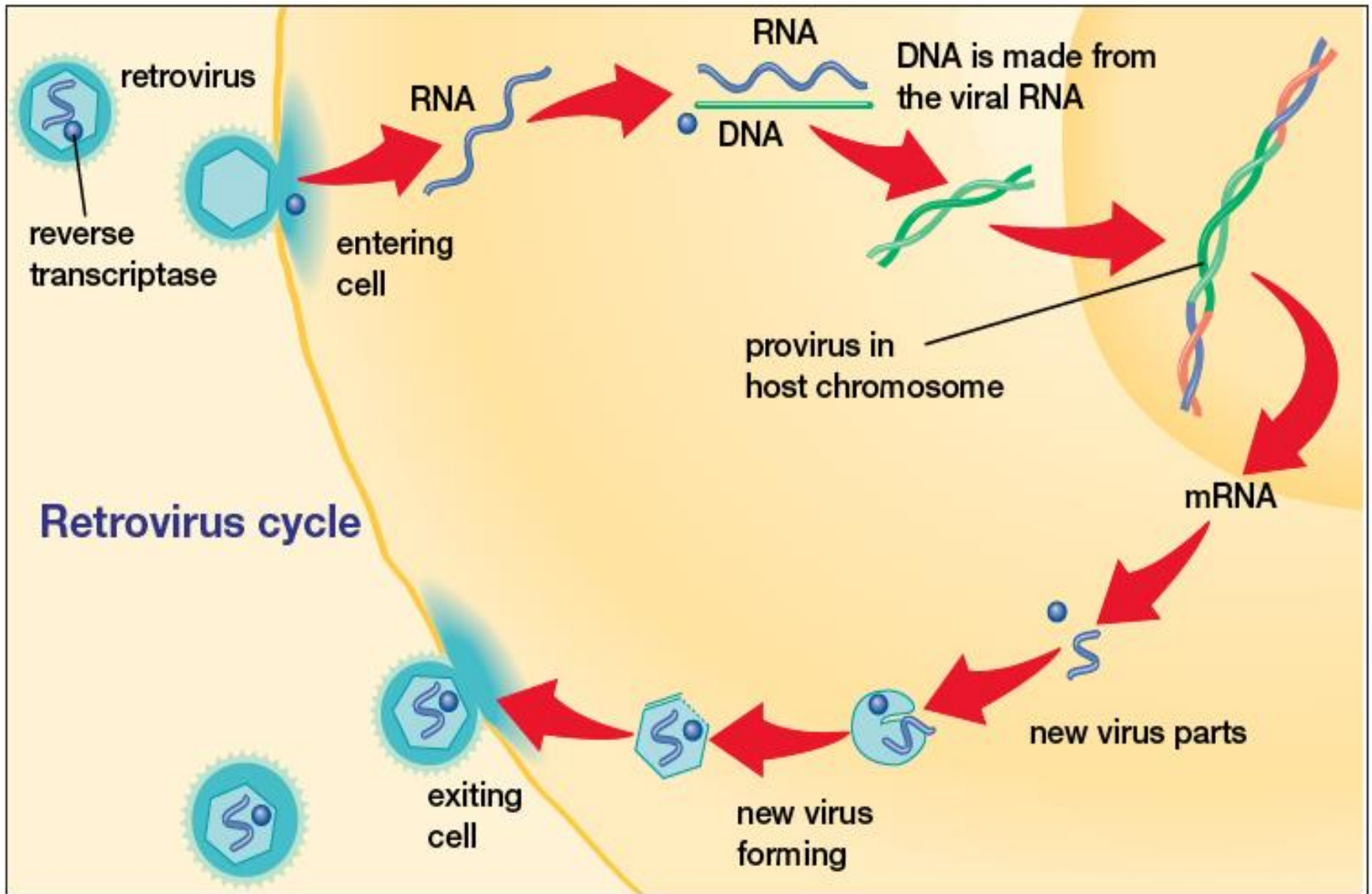
Σύμφωνα με το αρμόδιο τμήμα του ΟΗΕ (UNAIDS) περισσότεροι από **37.000.000** ασθενείς ζουν μολυσμένοι τον ιο HIV, συμπεριλαμβανομένων 2.100.000 παιδιών ηλικίας κάτω των 15 ετών. Εξ αυτών 18.000.000 έχουν πρόσβαση στα φάρμακα.

Αν και οι θάνατοι μειώνονται (680.000/έτος) ως αποτέλεσμα της φαρμακευτικής αγωγής, τα περιστατικά νέας μόλυνσης παραμένουν σταθερά (1.500.000/έτος).

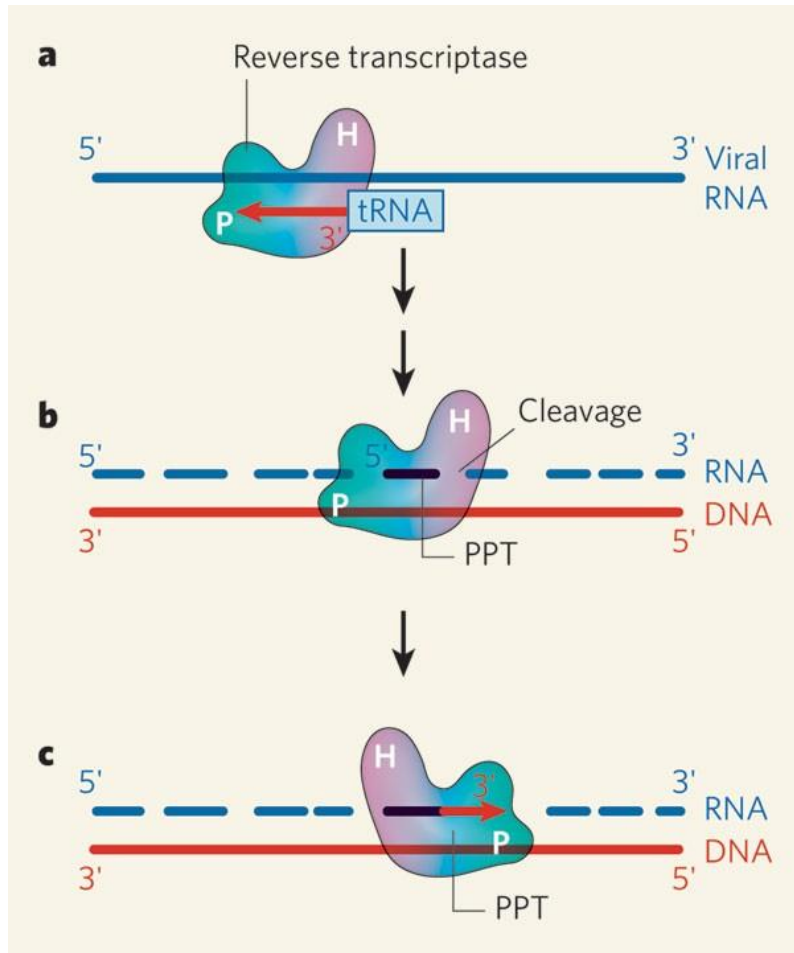




Μελέτη του ιικού σωματίου. Η παρουσία αντισωμάτων για τις επιφανειακές πρωτεΐνες αποτελεί σημαντικό δείκτη της ασθένειας AIDS και στόχο της ανάπτυξης εμβολίων.



Ο HIV δημιουργεί πολλά αντίγραφα κυκλικού proviral DNA που κωδικοποιεί πλήθος δομικών πρωτεϊνών ($gag \rightarrow GP120, GP41$ envelope) και λειτουργικών ενζύμων ($pol \rightarrow RT, protease, integrase$), ($tat \rightarrow$ σύνδεση σε ρυθμιστικές περιοχές, ενεργοποίηση ν m-RNA)

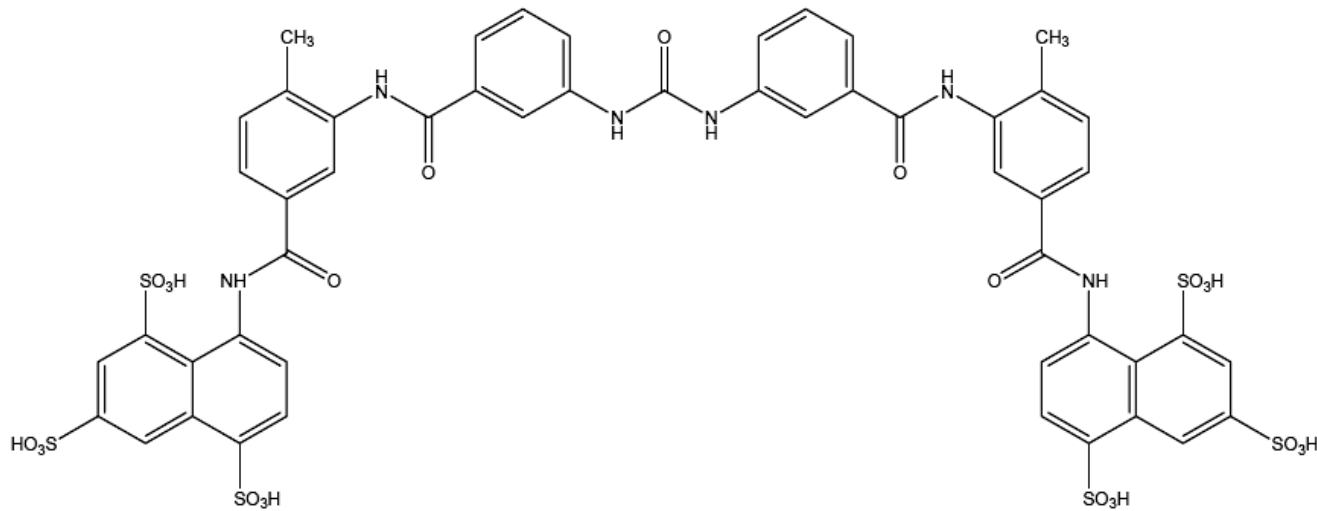


Εντός του ξενιστή κυττάρου η αντίστροφη μεταγραφάση λειτουργεί ως **ικκή DNA πολυμεράση**: χρησιμοποιεί ως μήτρα συγκεκριμένο τμήμα του ιικού RNA (tRNA_{lys3}), για τη σύνθεση του πρώτου ιικού (-)DNA, που στη συνέχεια θα υβριδιστεί σε RNA:DNA.

Ακολούθως το ένζυμο λειτουργεί ως ριβονουκλεάση (**RNAάση H**) και απομακρύνει τον κλώνο RNA.

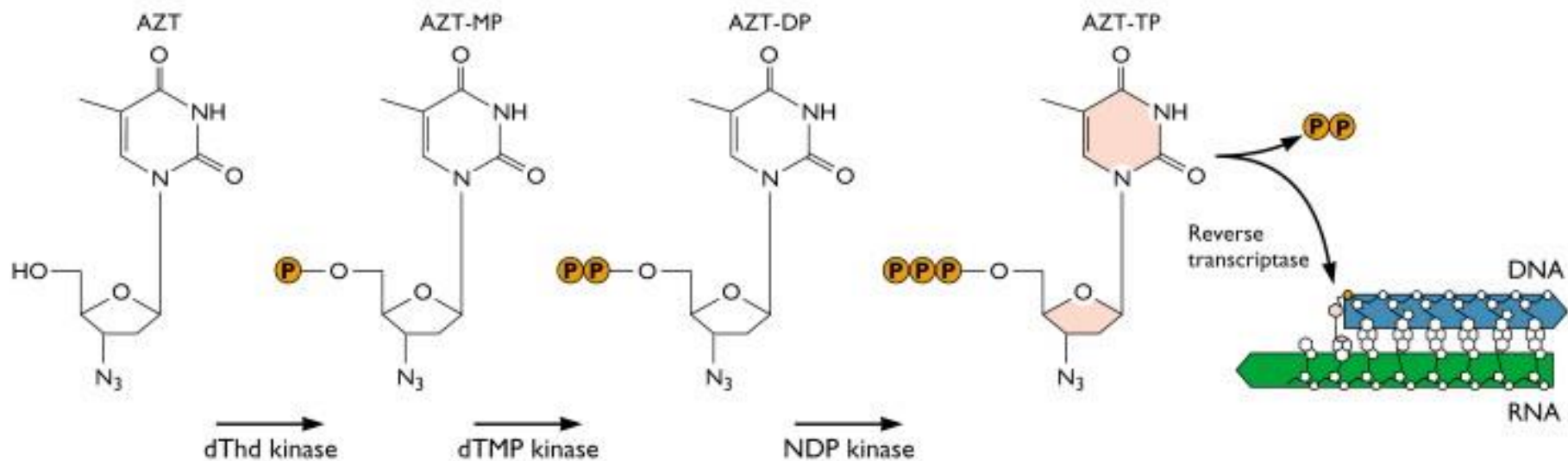
Τέλος δρα ως **DNA πολυμεράση** συνθέτοντας τον συμπληρωματικό κλώνο (+)DNA και συνεχίζοντας για τη σύνθεση των άλλων αντιγράφων (dsDNA). Η ενσωματάση θα παρεμβάλει αυτό το ικό DNA στο DNA του ξενιστή.

Η ενεργοποίηση του κυττάρου από τον ιό έχει ως συνέπεια τη μεταγραφή του pro-viral DNA σε ικό mRNA που θα μεταφραστεί στο κυτταρόπλασμα προς πολυπρωτεΐνες, που θα διασπασθούν με τη δράση της ικής πρωτεάσης.



Το **suramin** (αντιτρυπανοσωμιακό) είναι το πρώτο φάρμακο που χρησιμοποιήθηκε έναντι του HIV. Αναστέλλει την διείσδυση του ιού στα κύτταρα. Ορισμένα πολυσουλφουρωνένα παράγωγα και σουλφονικοί εστέρες χρησιμοποιούνται και σήμερα για τοπική εφαρμογή.

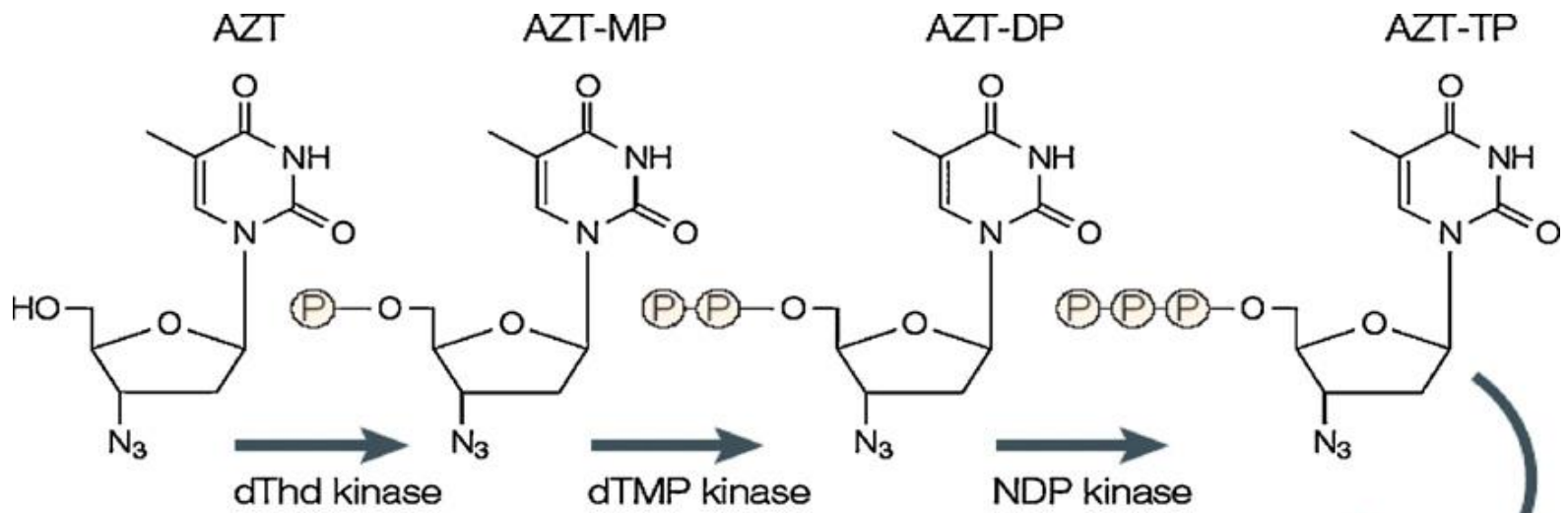
Το 1985 ανακαλύπτεται η **αντι-ρετροϊκή δράση του AZT**. Κυκλοφορεί με επείγουσες διαδικασίες (1987) στα «δυτικά» κράτη. Αποσαφηνίζεται ο μηχανισμός δράσης των **νουκλεοζιτικών αναστολέων της αντίστροφης μεταγραφάσης (NRTIS)** και μετά την σύνθεση πληθώρας παραγώγων, διερευνώνται εκτεταμένα οι σχέσεις δομής-δράσης.



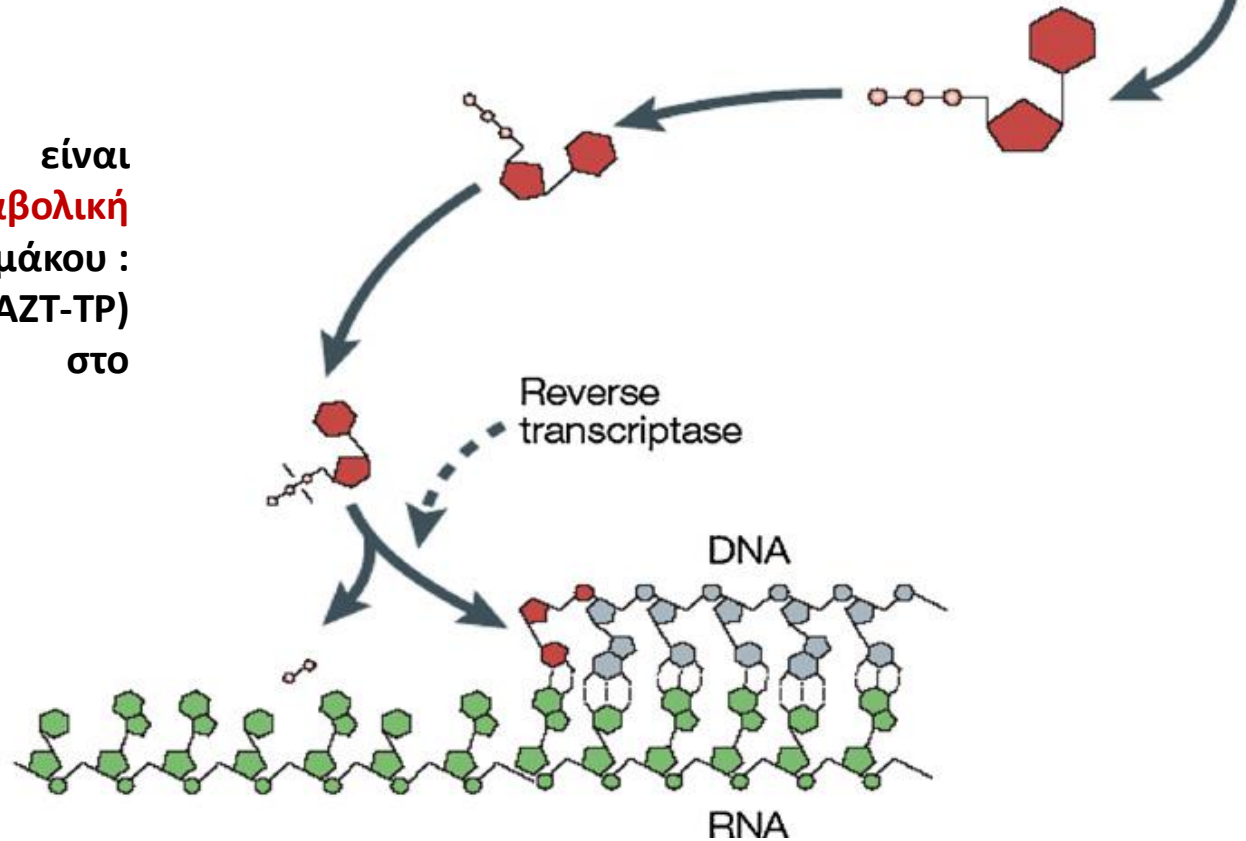
Τα **NRTIS** αναστέλλουν την αντίστροφη μεταγραφάση (κυρίως τη λειτουργία της ως RNA-άσης Η), αφού **ενεργοποιηθούν μεταβολικά** από κυτταρικά ένζυμα.

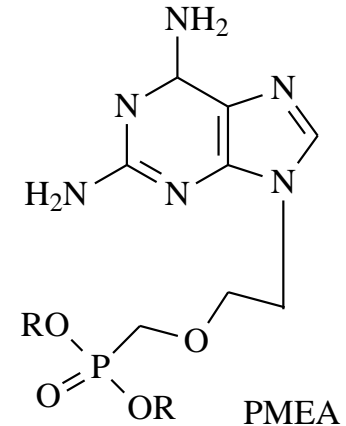
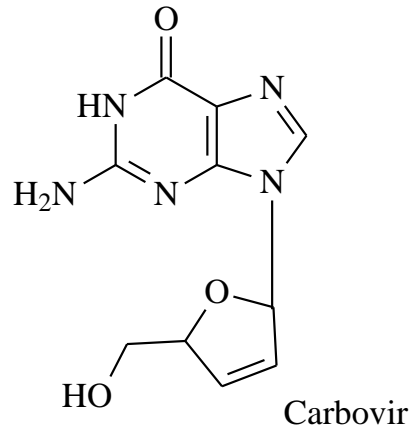
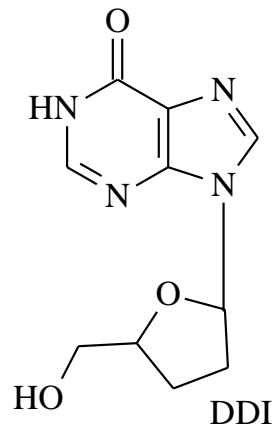
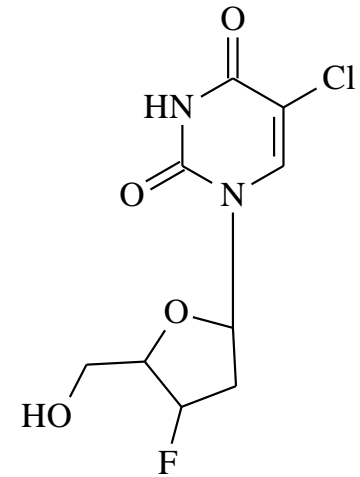
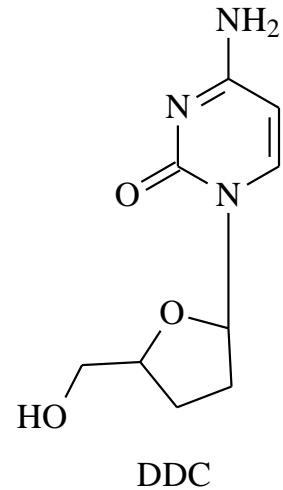
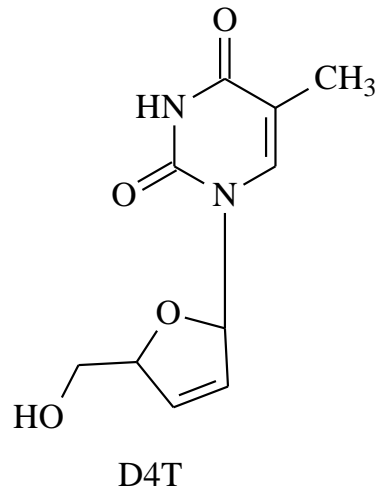
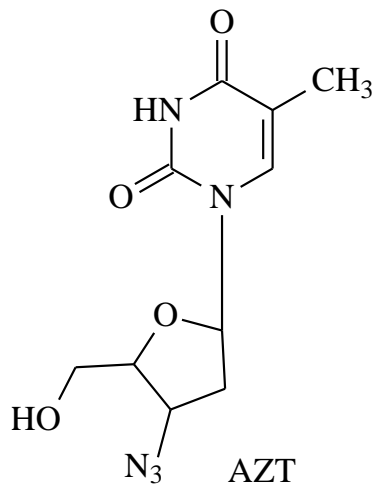
Το AZT-TP αναγνωρίζεται ως υπόστρωμα από την αντίστροφη μεταγραφάση και ενσωματώνεται στο νουκλεϊνικό οξύ. Δρα ως **chain terminator**, γιατί η παρουσία του 3'-αζιδίου απαγορεύει την δημιουργία του 5',3'-φωσφοδιεστερικού δεσμού.

Το AZT-TP αναστέλλει ασθενώς την ανθρώπινη γ-DNA πολυμεράση → τοξικότητα στο μυελό των οστών, περιφερική νευροπάθεια κ.α. παρενέργειες.



Η **αναγνώριση** είναι απαραίτητη για τη **μεταβολική ενεργοποίηση** του φαρμάκου : η δραστική μορφή (AZT-TP) σχηματίζεται μέσα στο κύτταρο





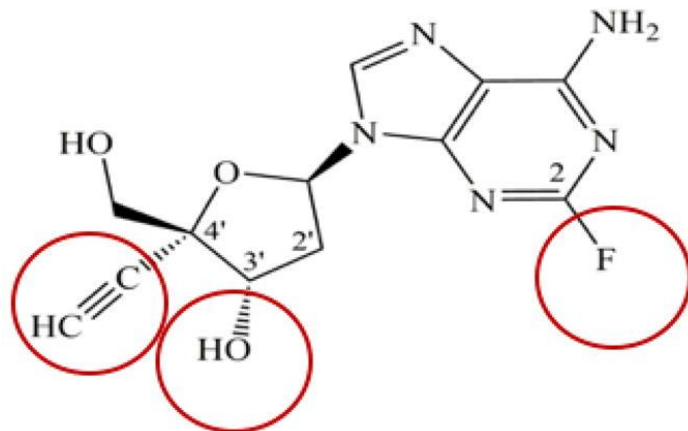
Τα νουκλεοζιτικά παράγωγα που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του AIDS είναι συνήθως 2'3'-διδεοξυ-νουκλεοζίτες (**DDNs**). Ως νουκλεοζίτες πρέπει να αναγνωρίζονται από τα κυτταρικά ένζυμα για να ενεργοποιηθούν, ενώ ως νουκλεοτιδία πρέπει να μην αναγνωρίζονται, ώστε να μην είναι τοξικά. Ανάλογα μονοφωσφορικών νουκλεοτιδίων χρησιμοποιούνται επίσης.

DDNs παράγωγα διδεοξυριβόζης

- Εισαγωγή αλογόνου στη 2'-θέση: αύξηση μεταβολικής σταθερότητας
- Αζίδιο, αλογόνο, νιτρίλιο, ή άλλη ηλεκτρονιοελκτική ομάδα στην 3' – θέση
- 2',3' διπλός δεσμός
- Εισαγωγή ετεροατόμου στην 3'-θέση
- Καρβοκυκλικά ανάλογα σακχαρικού τμήματος
- Αλλαγή του σακχάρου: L-ριβόζη αντί της D- ριβόζης, ή (-) αντί για (+)
εναντιομερές => αύξηση θεραπευτικού εύρους

Προβλήματα: μεταβολική αστάθεια, ανεπιθύμητες ενέργειες, φ/κ συμπεριφορά

Ένα ειδικό νουκλεοζιτικό παράγωγο: 4'-ethynyl-2-fluoro-2' – deoxyadenosine islatravir

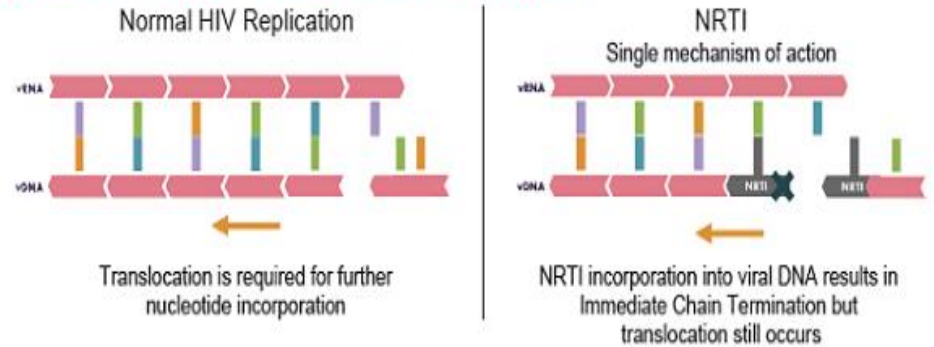


Η παρουσία του 2-F μειώνει την κυτταροτοξικότητα και αυξάνει πολύ την μεταβολική σταθερότητα, αναστέλλοντας την απαμινάση της αδενοσίνης. Το ένζυμο, που καταλύει την «υδρόλυση» της 6-NH₂ αλληλεπιδρά με τα N1 και N3, ενώ η πρωτονίωση του N1 αποτελεί το πρώτο βήμα για την προσθήκη –OH στην 6-θέση. Παρουσία του ηλεκτραρνητικού F δεν ευνοείται η πρωτονίωση του N1 και η μεταβολική απενεργοποίηση του φαρμάκου.

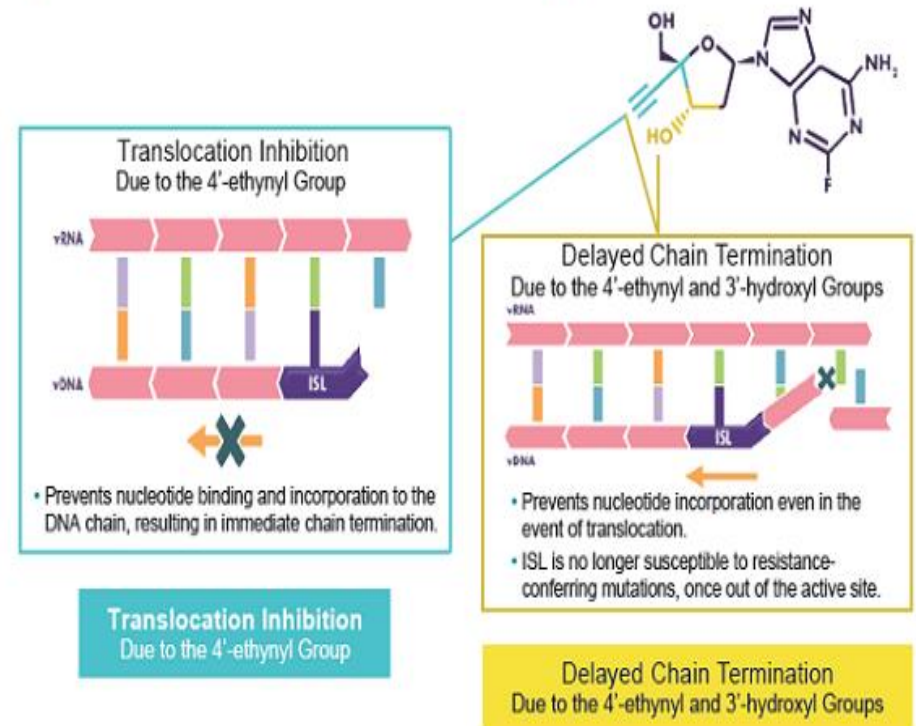
Η 4'-αιθυνομομάδα αλληλεπιδρά με ειδικό τρόπο με την αντίστροφη μεταγραφάση. Επιπλέον, αναστέλλει τη γλυκόλυση του νουκλεοζίτη, αυξάνοντας σημαντικά τον $t_{1/2}$ in vivo.

Το **islatravir** δρα ως **αναστολέας μετάθεσης** της αντίστροφης μεταγραφάσης (inhibitor of reverse transcriptase translocation). Ενώ το 3'-OH επιτρέπει την αρχική του ενσωμάτωση στον νέο κλώνο, η 4'-αιθυνολομάδα αλληλεπιδρώντας ισχυρά με αμινοξέα του ενεργού κέντρου εμποδίζει τη μετακίνηση του ενζύμου προς την περαιτέρω επιμήκυνση του νέου κλώνου.

Normal HIV Replication and NRTI MOA

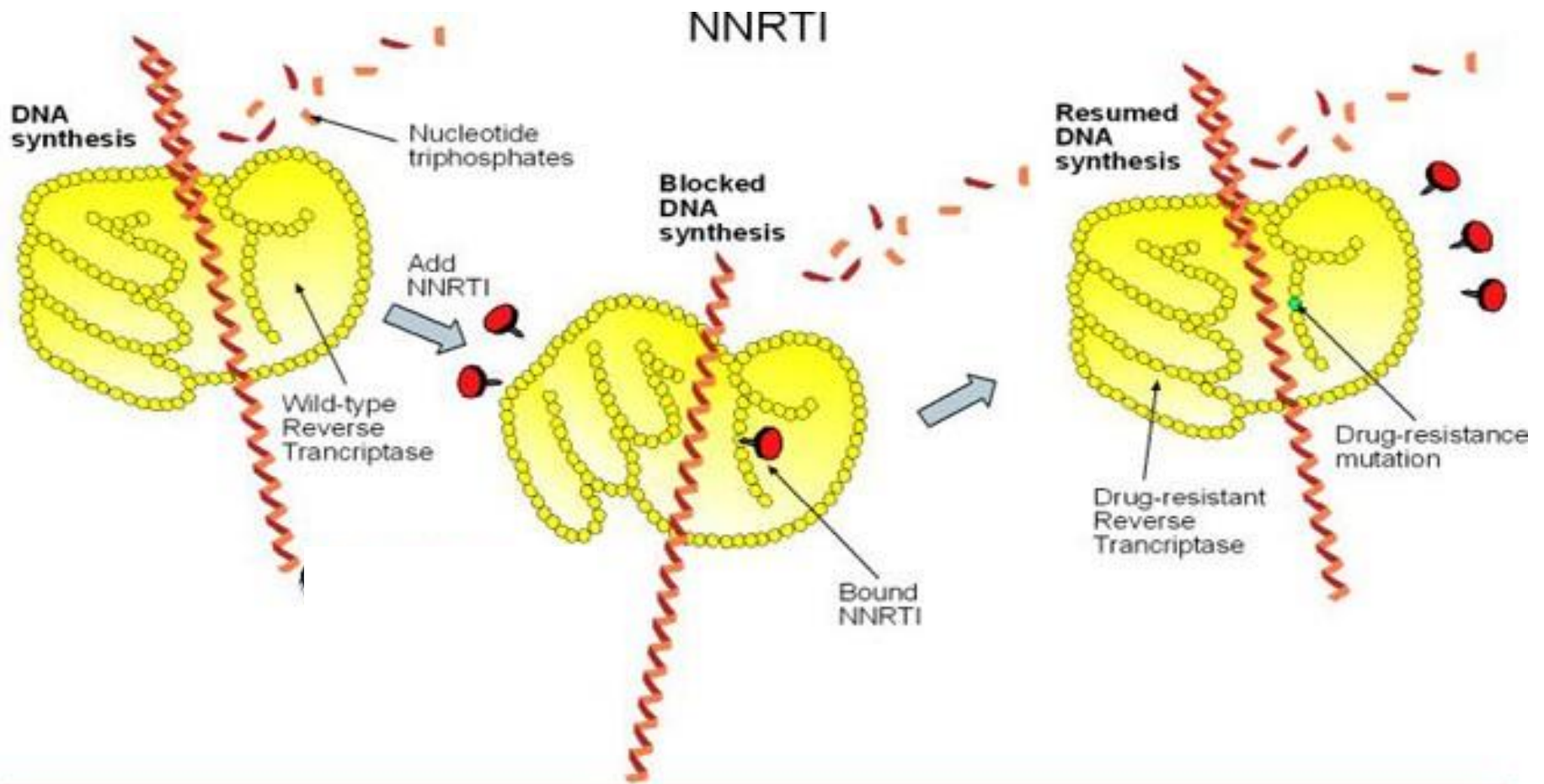


ISL, a First-in-Class NRTTI With Multiple MOAs



Το φάρμακο έχει δείξει εντυπωσιακά αποτελέσματα στις κλινικές δοκιμές:

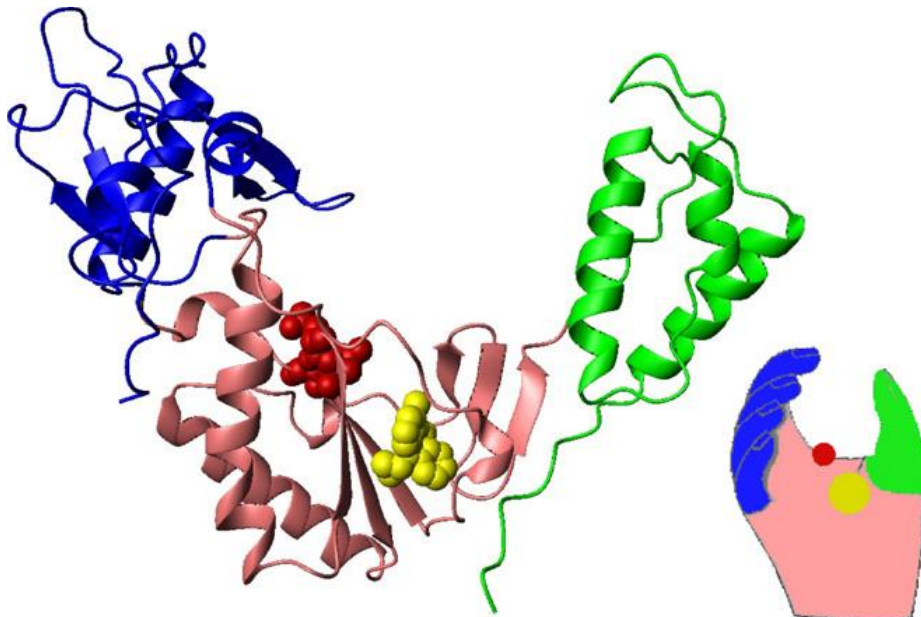
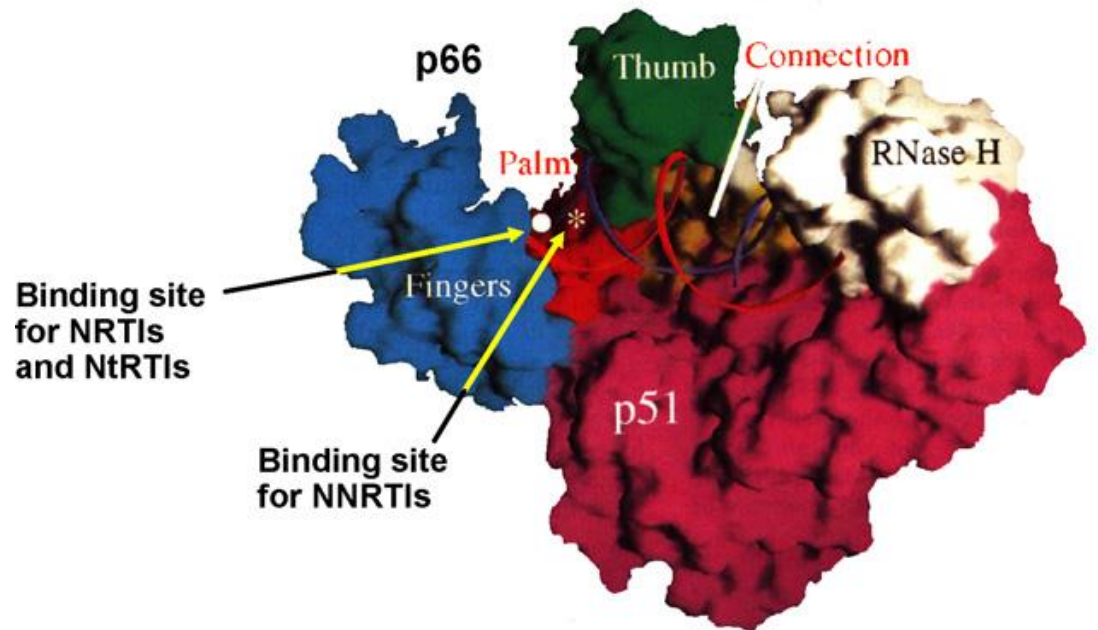
- Εξαιρετική αποτελεσματικότητα και εκλεκτικότητα (απουσία κυτταροτοξικότητας).
- Παρατεταμένη δράση (υπό ανάπτυξη και ως long-acting implant).
- Απουσία μεταλλάξεων.



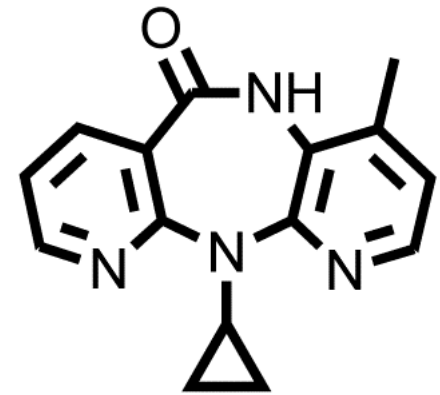
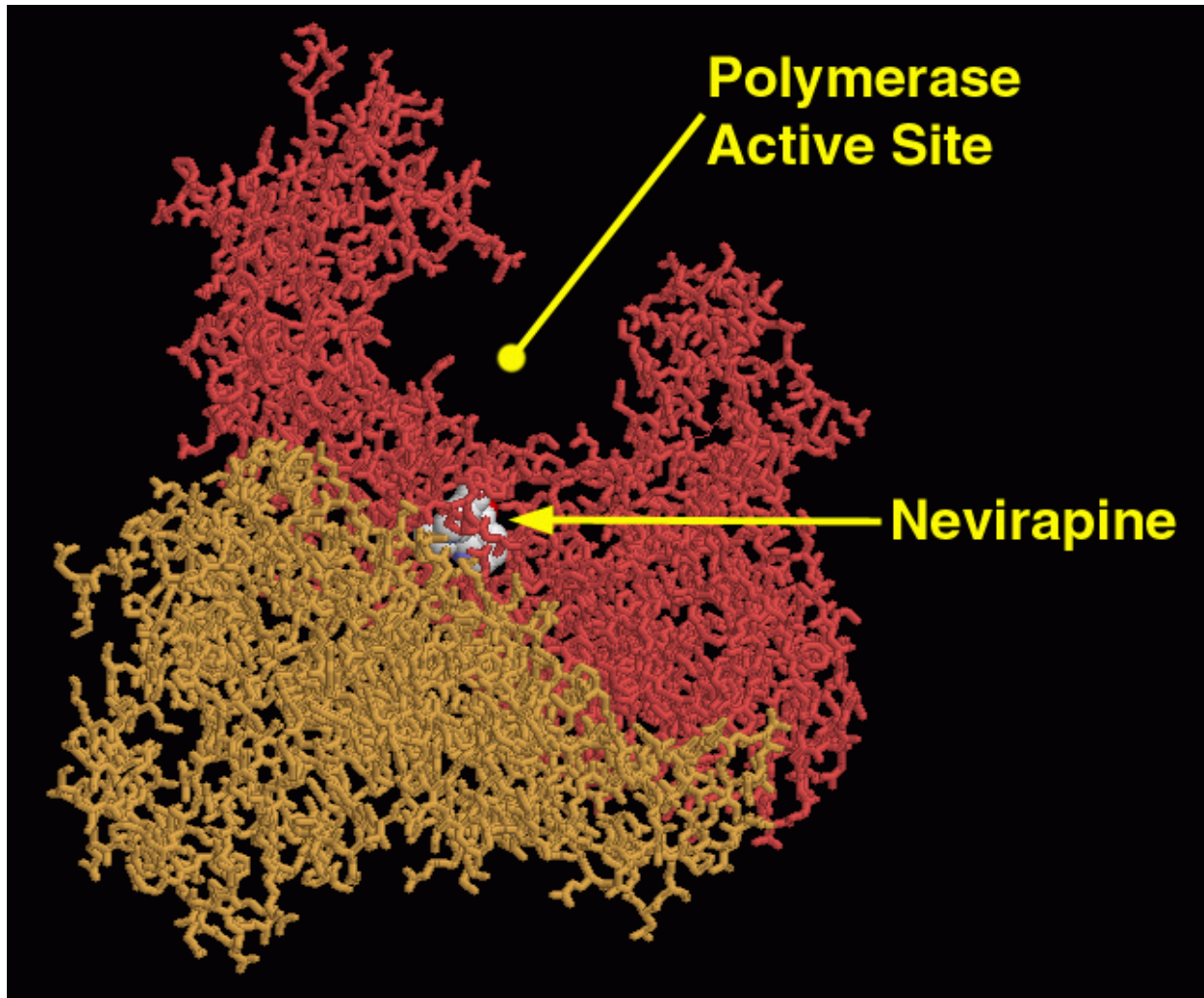
Οι **μη νουκλεοζιτικοί αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης (NNRTIs)** είναι **αλλοστερικοί**. Ανήκουν σε περισσότερες από 30 διαφορετικές χημικές κατηγορίες, και αποτελούν ευρήματα εκτεταμένων screening tests. Χαρακτηρίζονται από:

- υψηλή εξειδίκευση
- ισχυρή δράση
- μεγάλο θεραπευτικό εύρος

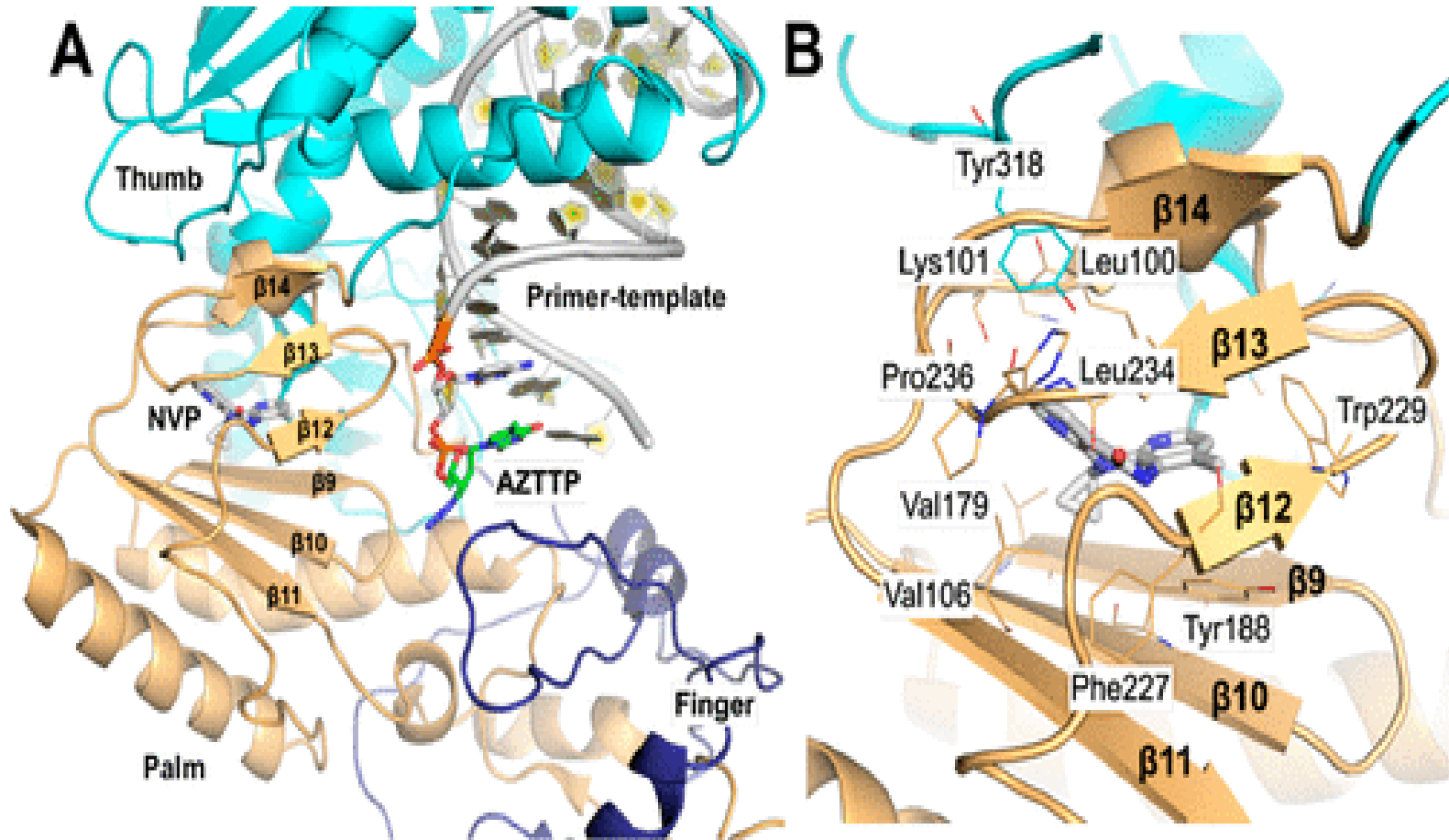
Το ένζυμο είναι ετεροδιμερές, αποτελούμενο από τις p66 και p51 υπομονάδες. Η p66 λειτουργεί ως πολυμεράση, ενώ το άκρο της p51 λειτουργεί ως RNAάση Η. Δεν λειτουργεί με ακρίβεια, γεγονός που **ευνοεί τις ιικές μεταλλάξεις**.



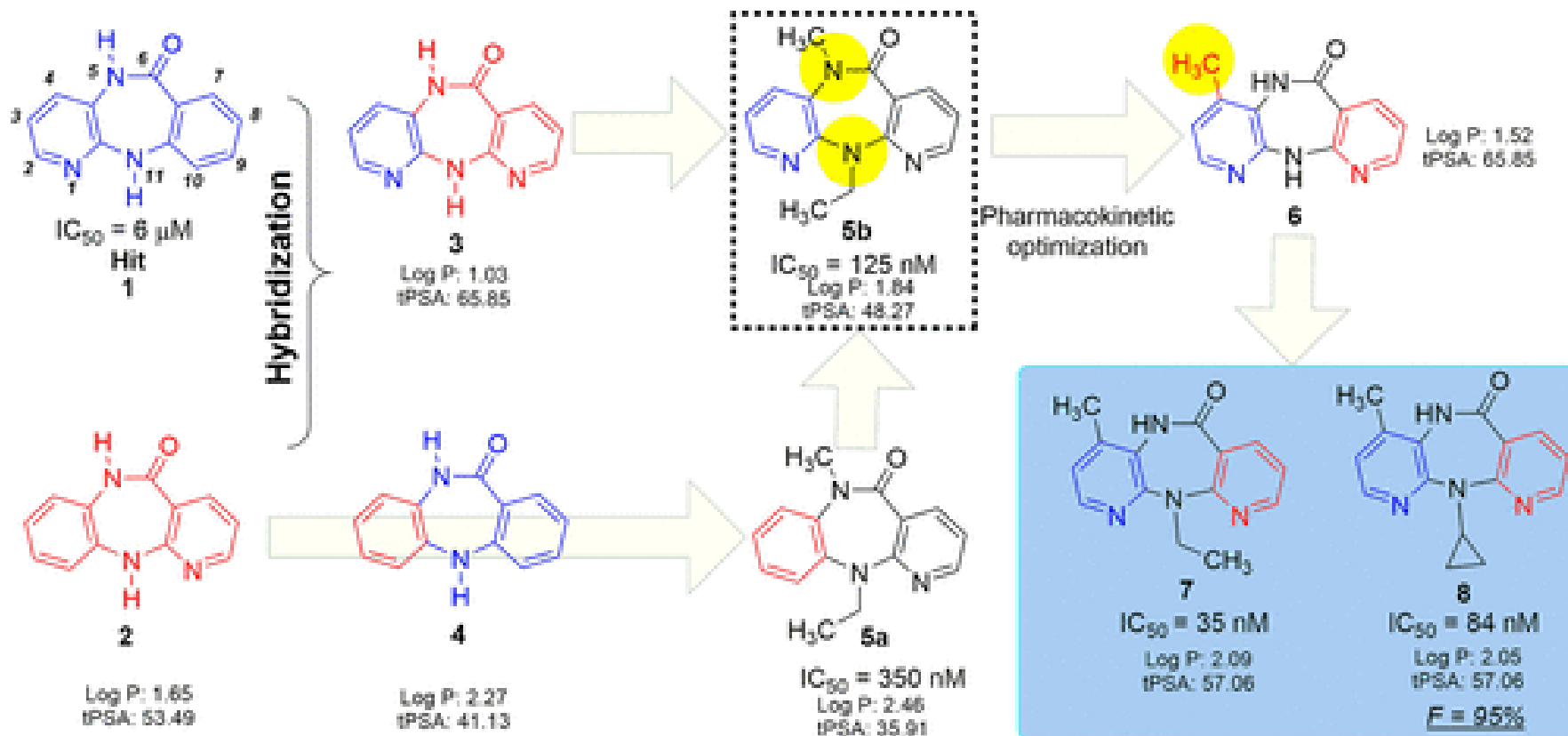
Τα NNRTIs δεσμεύονται σε μια ευπροσάρμοστη υδρόφοβη κοιλότητα (non-nucleoside inhibitor-binding pocket, NNIBP), που εντοπίζεται κοντά (σε απόσταση $\sim 10\text{\AA}$), αλλά βρίσκεται σαφώς εκτός του ενεργού κέντρου της αντίστροφης μεταγραφάσης.



Παράδειγμα: Η δέσμευση του το nevirapine στην υδρόφοβη κοιλότητα NNIBP, εκτός του ενεργού κέντρου του ενζύμου, μεταβάλλει τη γεωμετρία του ενεργού κέντρου και αναστέλλει τη σύνθεση του ιικού DNA.

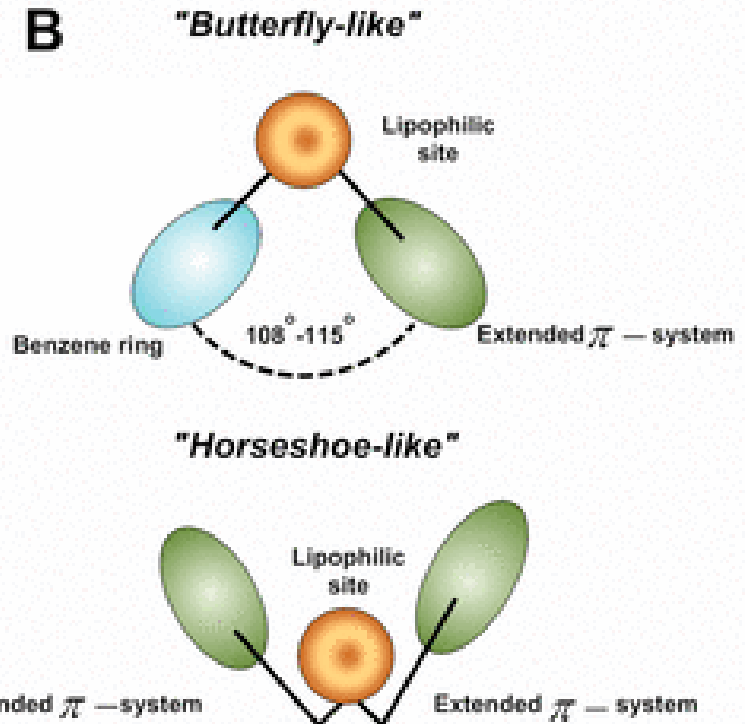
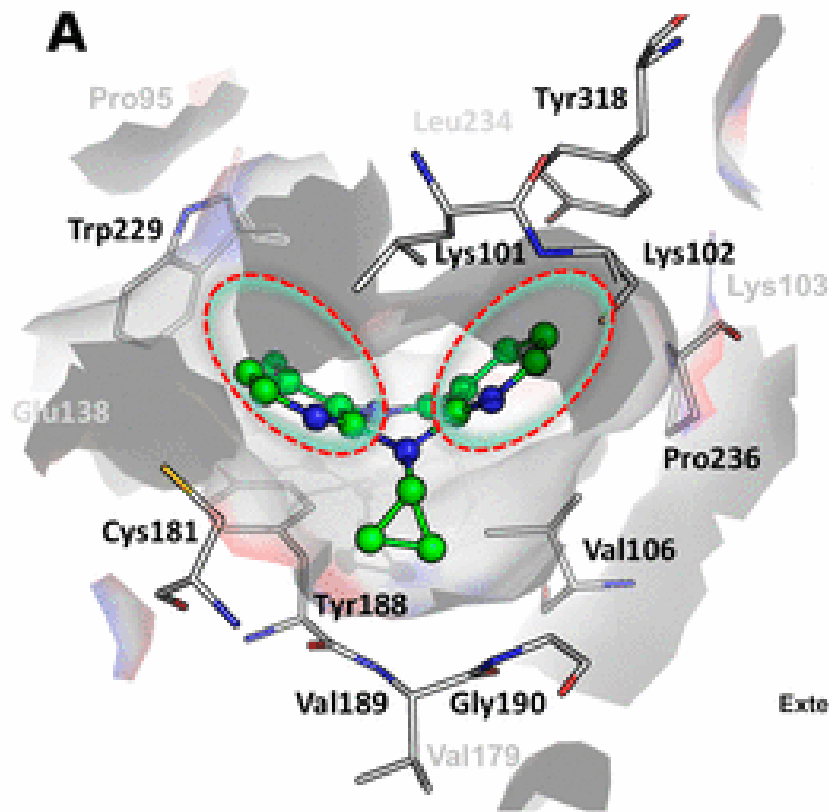


- (A) Τα **nevirapine** (NVP με γκρίζο χρώμα) and **AZT triphosphate** (AZTTP με πράσινο χρώμα) δεσμεύονται σε διαφορετικές θέσεις της HIV-1 RT.
- (B) Μεγέθυνση της θέσης δέσμευσης των NNRTIS στην NNIBP, όπου διακρίνονται οι αλληλεπιδράσεις του φαρμάκου με υπόλοιπα αμινοξέων



Διαδικασία ανάπτυξης nevirapine

Διερεύνηση της θέσης του πυριδινικού αζώτου, σε σχέση και με την ευκολία σύνθεσης. SAR, *N*-αλκυλίωση → (**5b**). Μεταβολική σταθεροποίηση (με κίτρινο οι θέσεις μεταβολισμού) με μετακίνηση του μεθυλίου στο αρωματικό σύστημα (παράλληλα αυξάνεται η δραστηκότητα). Βελτιστοποίηση της *N*-υποκατάστασης για δραστηκότητα + φαρμακοκινητική συμπεριφορά (φ/κ).



Butterfly και horseshoe model of binding: η εύκαμπτη κοιλότητα NNIBP μπορεί να υποδεχθεί μεγάλη ποικιλία προσδεμάτων. Η σχετική ακαμψία του nevirapine συμβάλλει στη σχετικά εύκολη ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών.

Η μελέτη της κρυσταλλογραφικής δομής πολλών NNRTIs συνδεόμενων στην NNIBP επιβεβαιώνει τη λήψη διαμόρφωσης "πεταλούδας" (υοειδές σχήμα) και επιτρέπει την αναλυτική μελέτη των επιμέρους αλληλεπιδράσεων.

Τα επιθυμητά χαρακτηριστικά ενός νέου αναστολέα του HIVκατηγορίας NNRTI μπορούν να συνοψισθούν ως εξής:

(1) **Ισχυρή αντική δράση** έναντι wild-type και μεταλλαγμένων ιικών στελεχών

(2) **Υψηλή βιοδιαθεσιμότητα** για χορήγηση από το στόμα (χορήγηση 1/ημέρα). Είναι λιπόφιλα και χωρίς ομάδες που ιονίζονται ισχυρά στο φυσιολογικό pH.

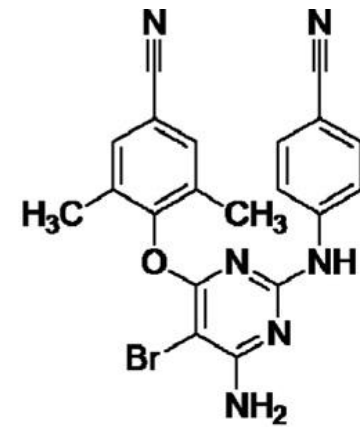
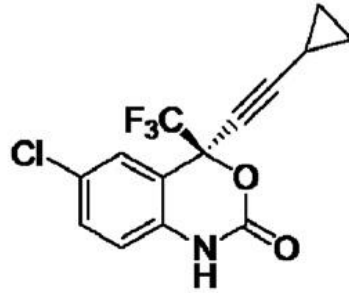
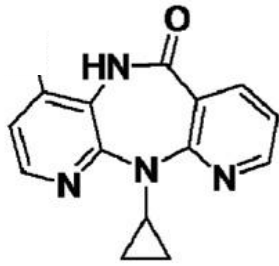
(3) **Ελαχιστοποίηση ανεπιθύμητων ενεργειών** (ποσοστό/ σοβαρότητα). Μελέτη μεταβολισμού απαραίτητη.

(4) **Ευκολία σύνθεσης και μορφοποίησης** του σκευάσματος (μείωση του αναγκαίου κόστους).

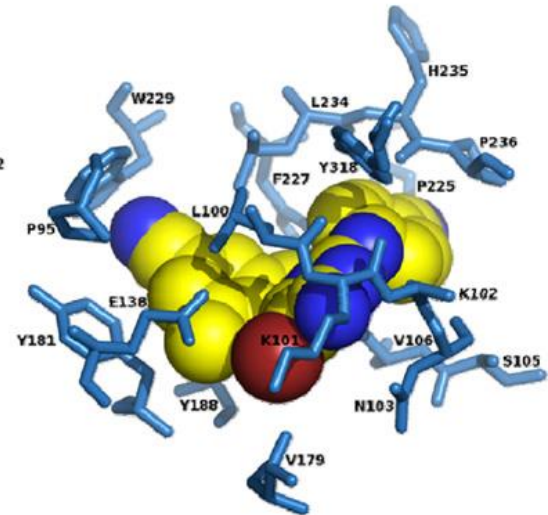
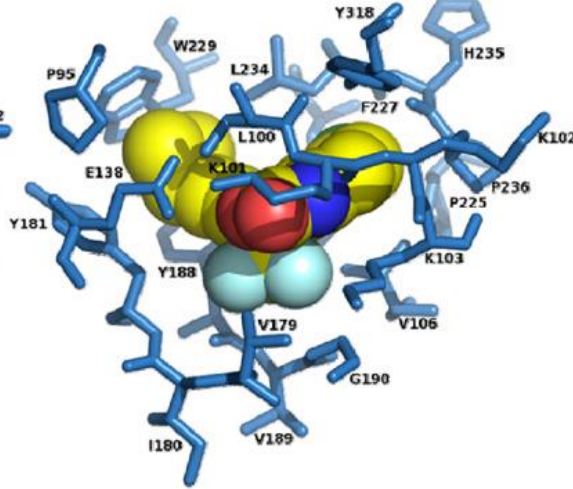
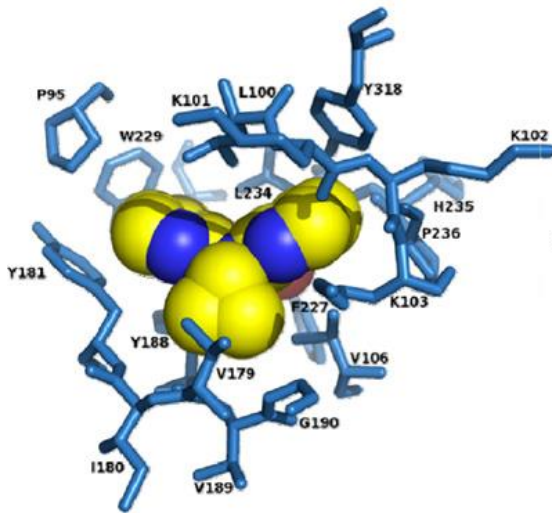
ΠΡΟΒΛΗΜΑ: ανάπτυξη αντοχής => **τα NNRTIs χρησιμοποιούνται μόνο σε συνδυαστικά χημειοθεραπευτικά σχήματα.**

Ο πολλαπλασιασμός του HIV δημιουργεί τη βάση για την εμφάνιση μεταλλάξεων και παρουσιάζει αναλογίες με ένα παιχνίδι σκακιού. Η στρατηγική οφείλει να λάβει υπόψη όλες τις πιθανές κινήσεις και τις εκάστοτε συνέπειες. Το ιατρικό/φαρμακευτικό ιστορικό είναι σημαντικό, λαμβανομένου υπόψη ότι χρειάζονται συνολικά ~5 διαδοχικές μεταλλάξεις για να καταστεί ο ιός ανθεκτικός σε μια ορισμένη κατηγορία φαρμάκων.

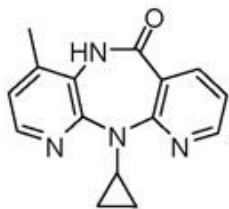
A



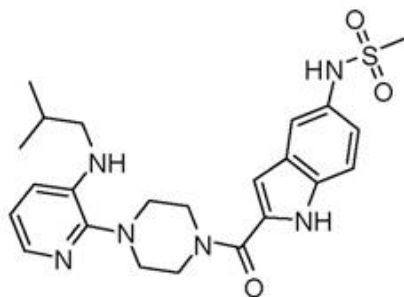
B



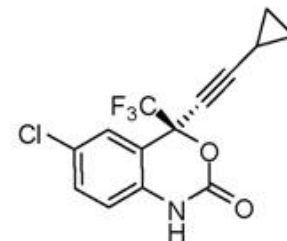
Σχεδιασμός αναστολέων 2^{ης} γενιάς: μεταβολικά σταθερότεροι, διατηρούν τη δραστηριότητα έναντι των συνηθέστερων μεταλλαγμένων στελεχών → χαρακτηριστική **αύξηση της ευκινησίας** για ισχυρότερο binding και αντιμετώπιση των μεταλλάξεων της NNIPB.



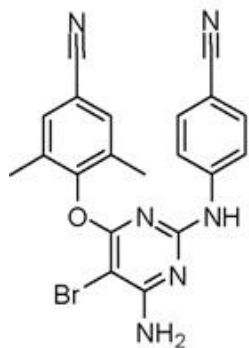
Nevirapine (BI-RG-587;
Viramune®)



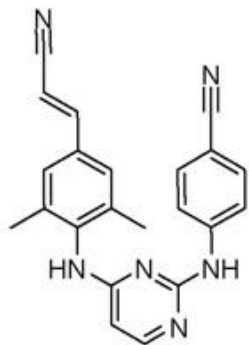
Delavirdine (U-90152; Rescriptor®)



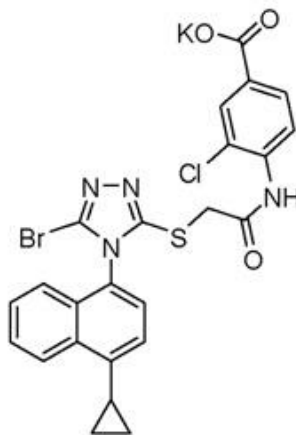
Efavirenz (DMP266;
Stocrin™; Sustiva™)



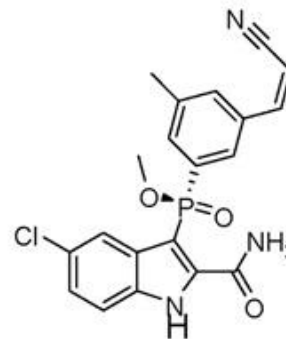
Etravirine (TMC125;
Intelence™)



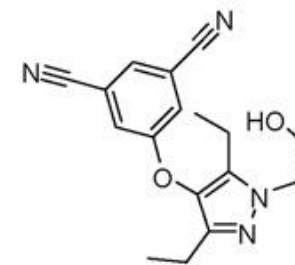
Rilpivirine (TMC278)



RDEA806



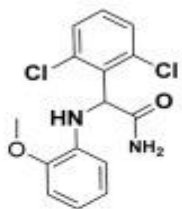
IDX899



Lersivirine (UK-453061)

Πρώτη και δεύτερη γενιά των NNRTIs

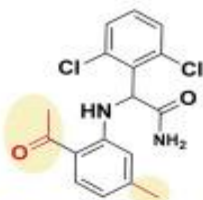
α -anilinophenylacetamide
(α -APA) derivative



1 (R15345)

IC₅₀ = 610 nmol/L (WT LAI)

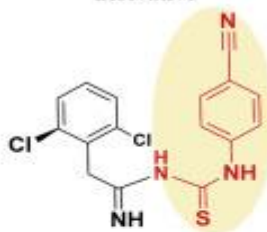
α -anilinophenylacetamide
(α -APA) derivative



4 (R89439, loviride, loveride)

IC₅₀ = 13 nmol/L (WT LAI)
CC₅₀ = 710 μ mol/L (WT LAI)
(Discontinued)

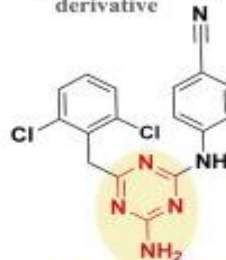
Imidoyl thiourea (ITU)
derivative



2

IC₅₀ values (nmol/L)
3 (WT LAI), 513 (L100I),
19 (K101E), 589 (K103N),
382 (V106A), 511 (Y181C),
318 (Y188L), 2 (G190A)

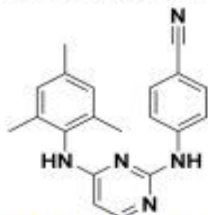
Diaryltriazine (DATA)
derivative



3 (R106168)

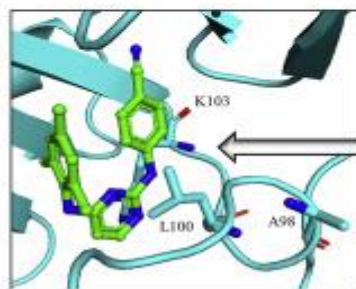
IC₅₀ values (nmol/L)
6.3 (WT LAI), 398 (L100I),
40 (K103N), 200 (Y181C),
316 (Y188L)

Diarylpyrimidine (DAPY) derivative



Dapivirine (TMC120, R147681)

IC₅₀ values (nmol/L)
1 (WT LAI), 18 (L100I),
4.3(K103N), 7.5 (Y181C), 48 (Y188L),
>10 (L100I+K103N), 44 (K103N+Y181C)



HIV-1 reverse transcriptase

3D structure

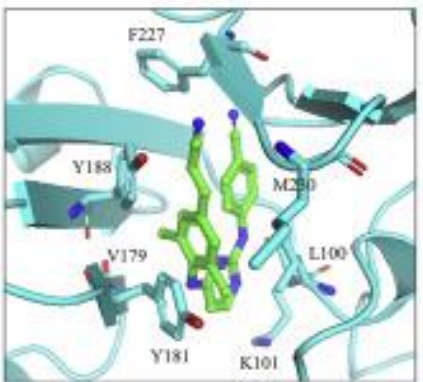
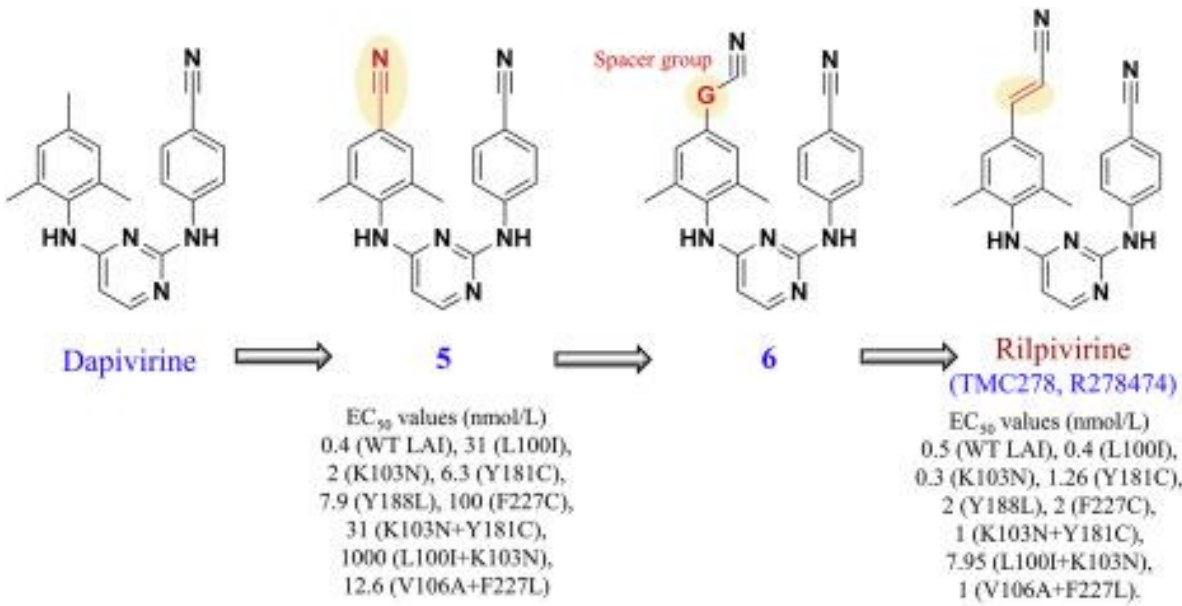
Drug binding



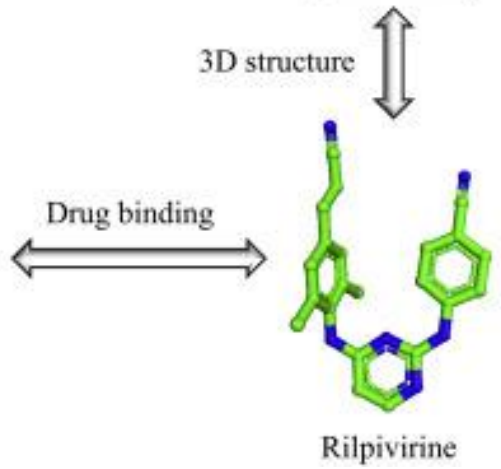
Dapivirine

Παράδειγμα: διαρυλοπυριμιδίνες

- **α -anilinephenylacetamides (1, α -APA)** απλής δομής δραστικά παράγωγα - μη αποδεκτή φ/κ
- **Imidoylthioureas (2, ITU):** αύξηση της απόστασης των 2 αρωματικών συστημάτων, επιτρέπει τη διευθέτηση των αρυλίων σε υοειδές σχήμα. Χημικά και μεταβολικά ασταθή. Κατά τη σύνθεση των αντίστοιχων ιμινο *N*-κυανογουανιδινο-αναλόγων σχηματίστηκε με ενδομοριακή κύκλωση το λιγότερο δραστικό τριαζινοπαράγωγο **3**, R106168 \rightarrow SAR.
- **Diarylpyrimidines:** Σταθερά και δραστικά παράγωγα. Το **Dapivirine** πήρε έγκριση κυκλοφορίας. Υψηλή λιποφιλία (logP4.8/pH8).
- Παρενέργειες από καρδιαγγειακό.



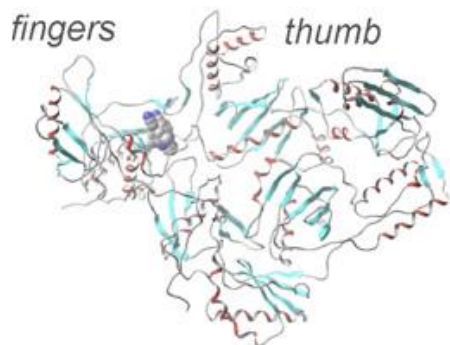
HIV-1 reverse transcriptase



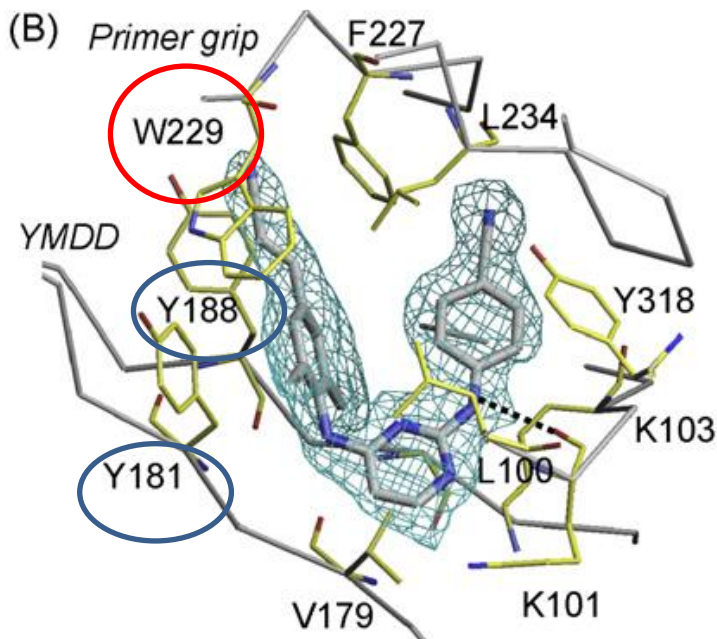
Το επόμενο φάρμακο, **Rilpivirine** είναι το E-isomer του 4-κυανοβινυλο-dapivirine. Η εισαγωγή του επιμήκους spacer στον πιο υποκατεστημένο δακτύλιο προτάθηκε από μελέτες molecular modeling προκειμένου να υπάρξει **αλληλεπίδραση με αμινοξέα που συντηρούνται στα μεταλλαγμένα στελέχη**. Στο νιτρίλιο κατέληξαν με μελέτες SAR.

Ευκολία σύνθεσης και λήψης του δραστικού E-ισομερούς.

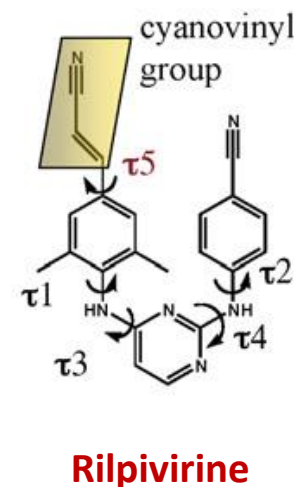
(A)



(B)



(C)

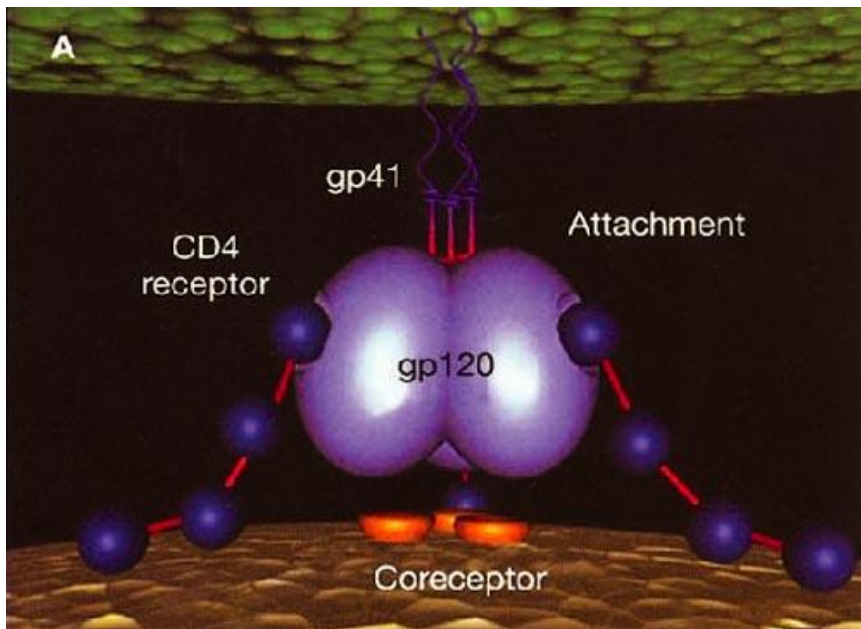
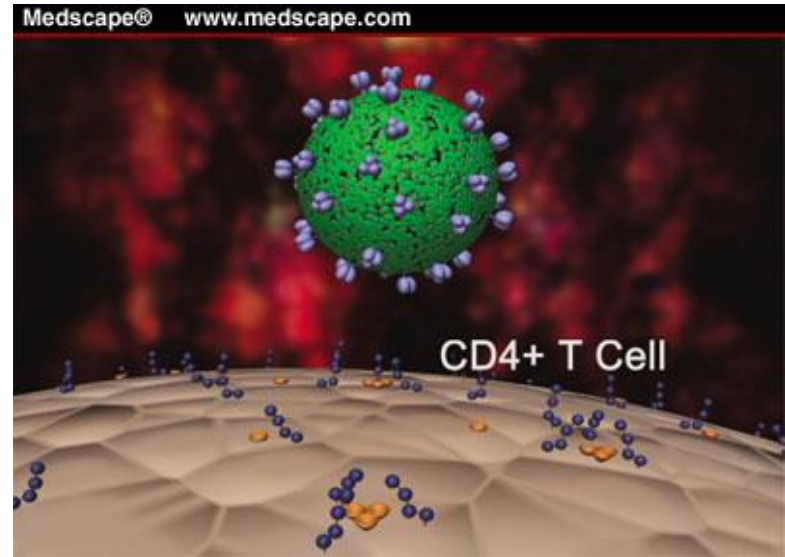


Αναστολείς 2^{ης} γενιάς: η **Rilpivirine** είναι μεταβολικά σταθερή και εξαιρετικά δραστική, με IC_{50} **1nM** σε wt και πολλά μεταλλαγμένα στελέχη. Ο **κυανοβινυλικός υποκαταστάτης διεισδύει σε κοιλότητα και αλληλεπιδρά με τη διατηρημένη τρυπτοφάνη 229 (W229)**. Η ευκινησία του μορίου είναι σημαντική για τη διατήρηση της αλληλεπίδρασης ακόμη και σε στελέχη που αντικαθιστούν άλλα αμινοξέα (Tyr 181 και 188).

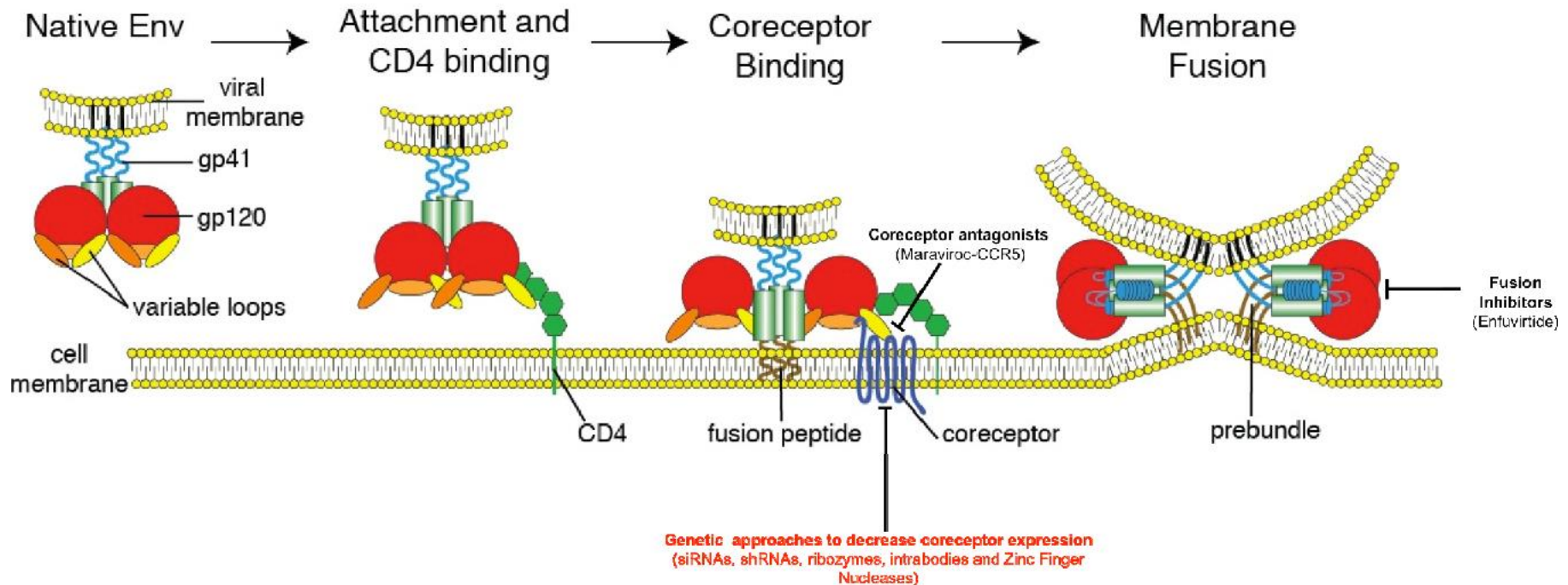
Πρόσφατα επιστρατεύτηκαν και νέες τεχνικές *artificial intelligence* (AI) στα αντίστοιχα *drug discovery* projects κυρίως φαρμακευτικών εταιριών.

Αναστολείς της κυτταρικής διείσδυσης του HIV-1: Entry inhibitors (EI) – Αναστολείς της gp41: enfuvirtide

Η επαφή του ιού με την επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης ευνοεί την προσκόλληση της gp120 στον υποδοχέα CD4 των Τ-λεμφοκυττάρων

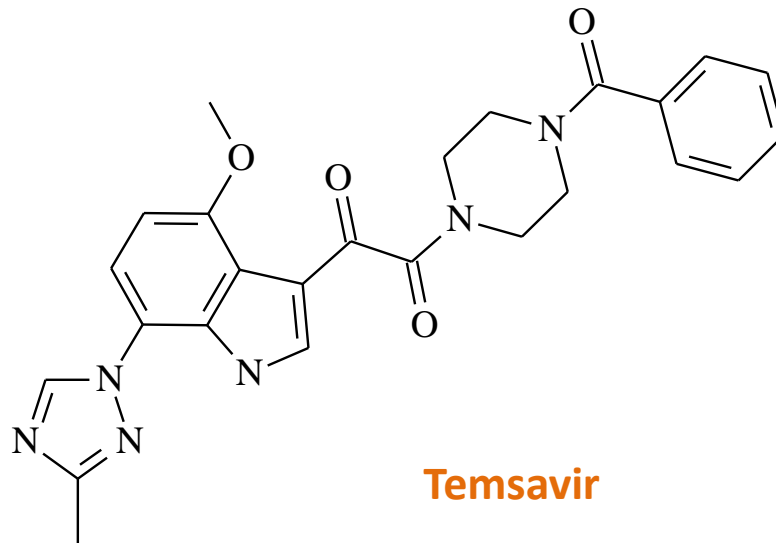
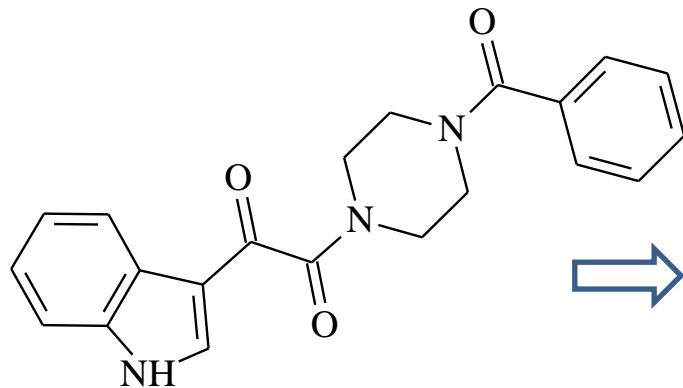


Η τριμερής gp120 υφίσταται μια σημαντική δομική αλλαγή, που επιτρέπει την αλληλεπίδραση της με τον υποδοχέα κυτοκινών CCR5 (co-receptor). Ισχυροποιείται η σύνδεση του ιού και αρχίζει η σύντηξη της gp41 με την κυτταρική μεμβράνη.



Antiviral Research Vol 85, Tilton J.C. and Doms R.W, "Entry inhibitors in the treatment of HIV-1 infection," 91-100, Copyright 2009

Η είσοδος του ιού περιλαμβάνει πολλά στάδια, αλλά είναι μια ειδική για τον ιό διαδικασία = εφικτός φαρμακευτικός στόχος, αναστολής ενός ή περισσότερων διαδοχικών βημάτων.

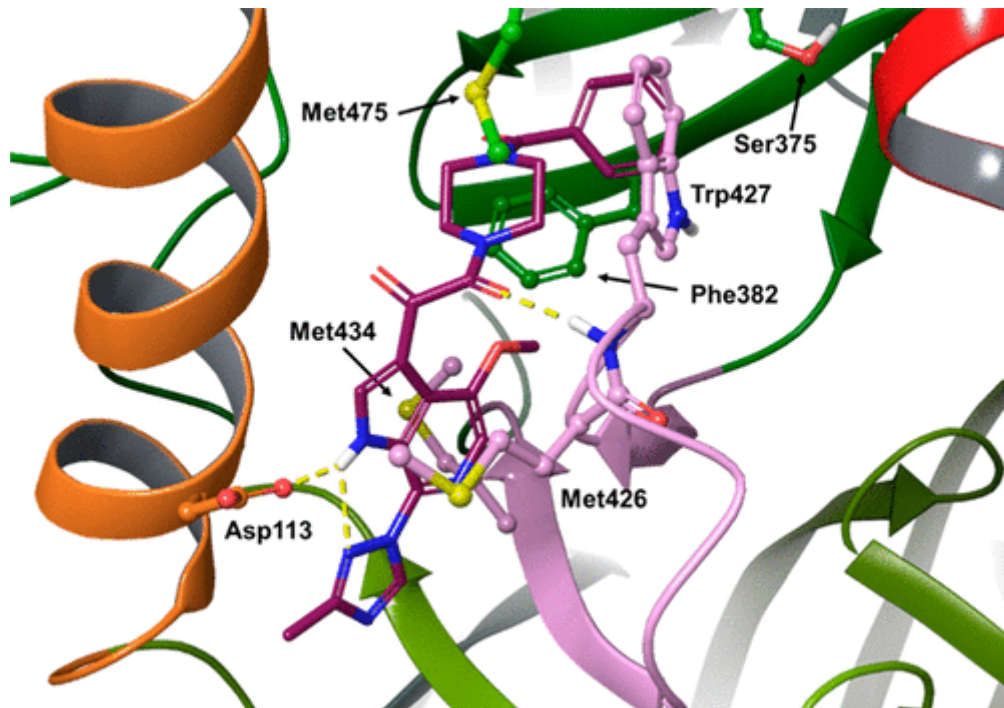


Temsavir

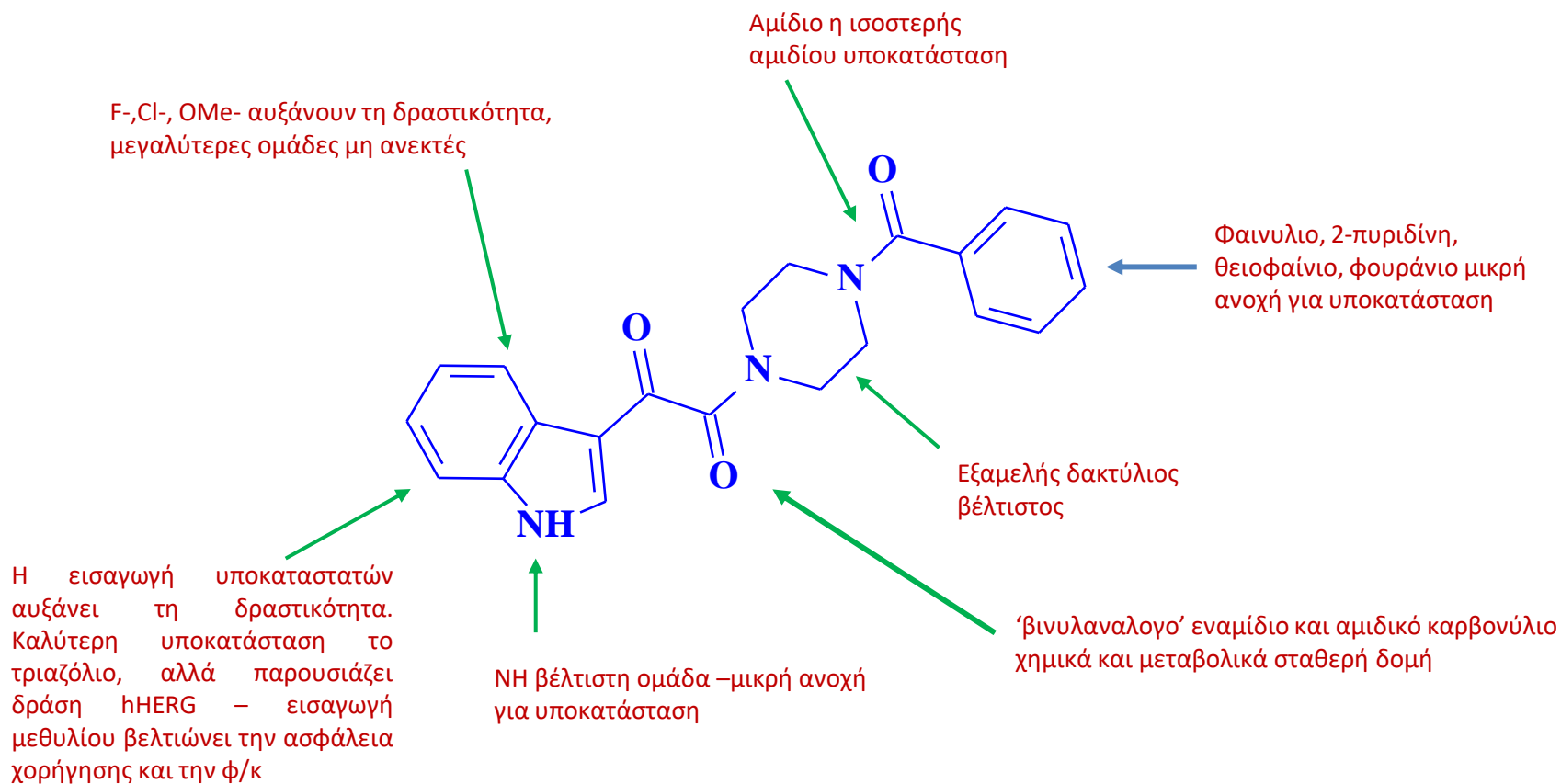
**Αναστολείς της κυτταρικής
διείσδυσης του HIV-1
Αναστολείς της gp120**

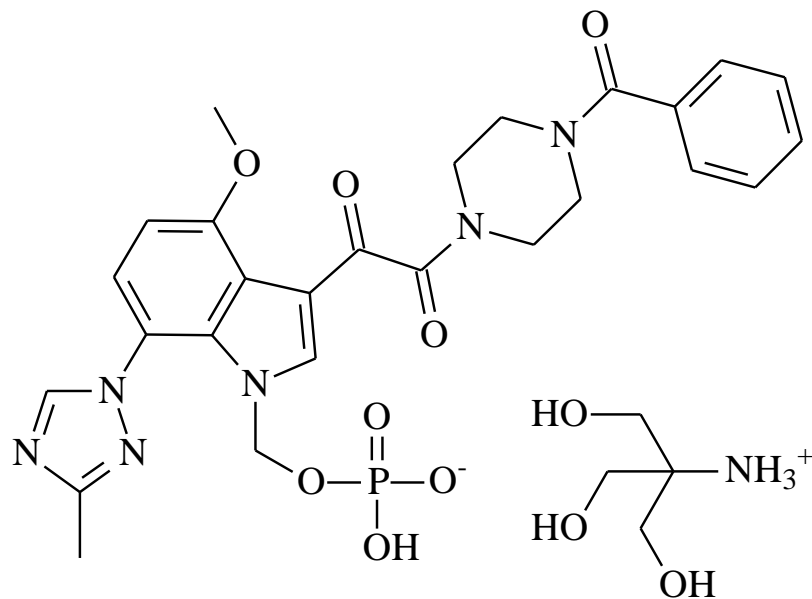
Το **Temsavir** σταθεροποιεί την κλειστή διαμόρφωση της ιικής gp120 (πρωτεΐνη υψηλής πλαστικότητας) που δεν αναγνωρίζεται από τον υποδοχέα CCR5.

Στην κρυσταλλογραφία φαίνονται υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και δH, ενώ το βενζαμίδιο καταλαμβάνει τη θέση μιας τρυπτοφάνης κατά την ανοιχτή διαμόρφωση. Σε υψηλές συγκεντρώσεις το φάρμακο συμπλέκεται πλήρως και στις 3 υπομονάδες (σύμπλοκο 3:3)



Η ανάπτυξη του φαρμάκου έγινε στη βάση σχέσεων δομής δράσης παραγώγων γλυοξαμιδίου για τη βελτιστοποίηση αντιικικής δράσης και φ/κ συμπεριφοράς





Το προφάρμακο **Fostemsavir** (μορφή ελεγχόμενης αποδέσμευσης) εγκρίθηκε πρόσφατα (FDA 2020, EMEA 2021)

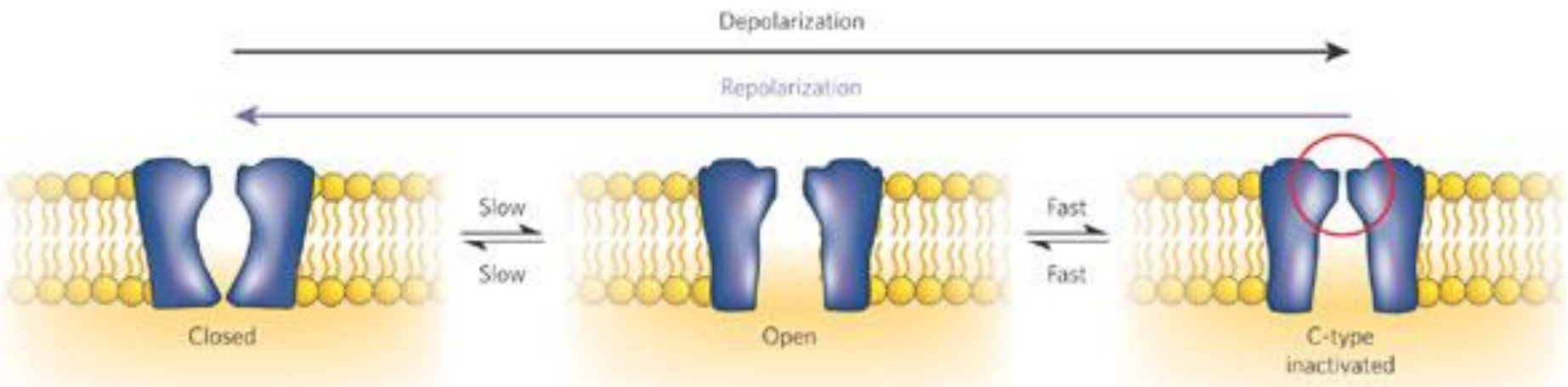
Είναι υδατοδιαλυτό, σταθερό σε όξινο και ουδέτερο pH, ενώ αποδίδει ικανοποιητικά το φάρμακο in vivo (OB >80%)

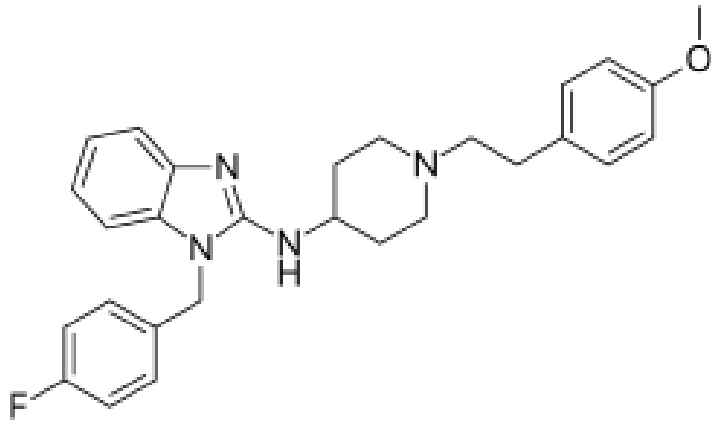
Αναστολείς της διείσδυσης του HIV-1 – τροποποιητές CCR5 Maraviroc

Το Maraviroc δρα ως αλλοστερικός τροποποιητής του υποδοχέα κυτοκινών CCR5 (coreceptor για την είσοδο του ιού στα CD4, που σχετίζεται με τον τροπισμό του ιού).

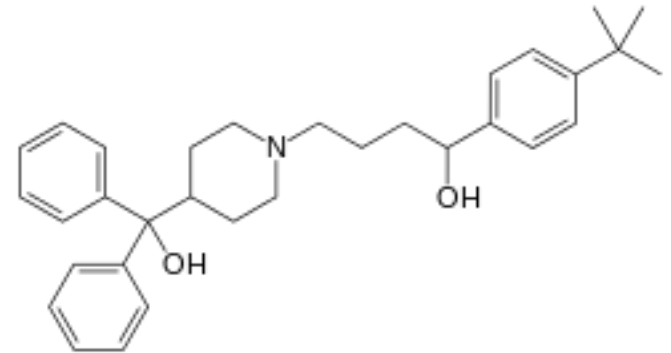
Σταθεροποιεί μια διαμόρφωση του CCR5 που δεν αναγνωρίζεται από την ιική gp120

Κατά τη διαδικασία ανάπτυξης αυτού του φαρμάκου αντιμετωπίστηκε το πρόβλημα διαφοροποίησης της αντι-ιϊκής δράσης, έναντι της off-target αναστολής της α -υπομονάδας του τασεοεξαρτώμενου νευρωνικού και καρδιακού διαύλου καλίου **hERG** (προϊόν του γονιδίου **human Ether-a go-go Related Gene**) – γνωστό anti-target στην ανάπτυξη φαρμάκων => κίνδυνος πρόκλησης σοβαρών κοιλιακών αρρυθμιών, ως και αιφνιδίου θανάτου. Η αναστολή του hERG έχει προκαλέσει την απόσυρση φαρμάκων - παράγωγων πιπεριδίνης (terfenadine, astemizole) – η θετικά φορτισμένη πιπεριδίνη αλληλεπιδρά με Phe και Tyr.

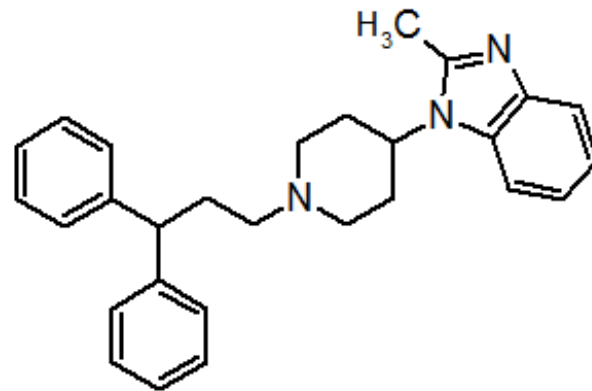




Astemizole

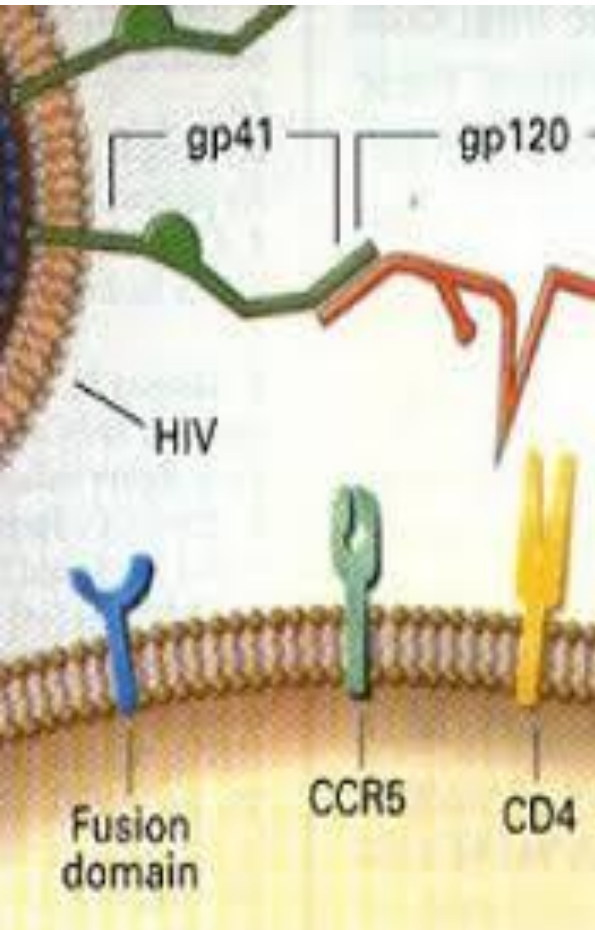


Terfenadine

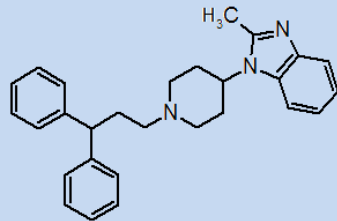


Maraviroc hit

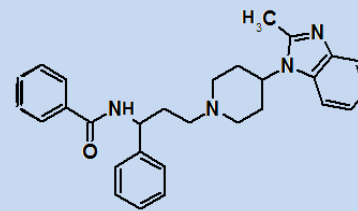
Η διαδικασία ανάπτυξης του Maraviroc



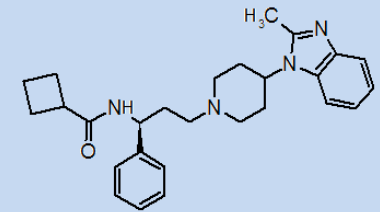
Hit: ασθενής σύνδεση, έλλειψη αντιϊκής δράσης – ταχύς μεταβολισμός



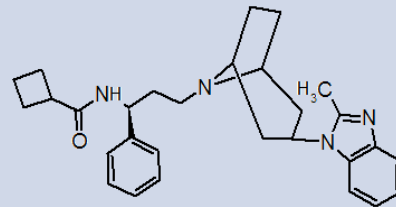
Εισαγωγή αμιδίου: μείωση λιποφιλίας, ασθενής αντιϊκή δράση, σχετική μεταβολική σταθερότητα (CYP2D6).



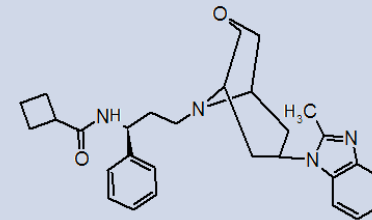
Επιλογή του δραστικότερου εναντιομερούς



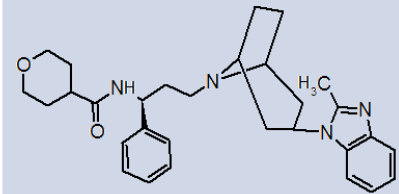
Η αζαδικυκλική αμίνη αυξάνει τη μεταβολική σταθερότητα (CYP2D6) - **99% αναστολή hERG**



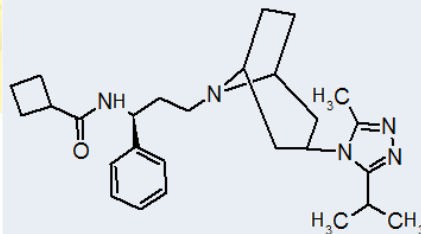
Μείωση αναστολής hERG, όμως **μειώνεται και η αντιϊκή δράση**



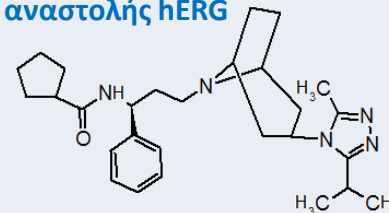
Μείωση αναστολής hERG + διατήρηση αντιϊκής δράσης **μικρή βιοδιαθεσιμότητα**



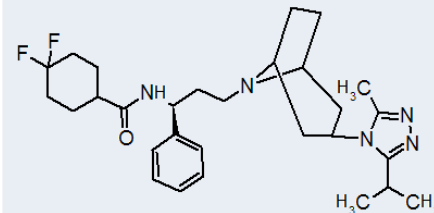
Μείωση λιποφιλίας, **αύξηση αναστολής hERG**



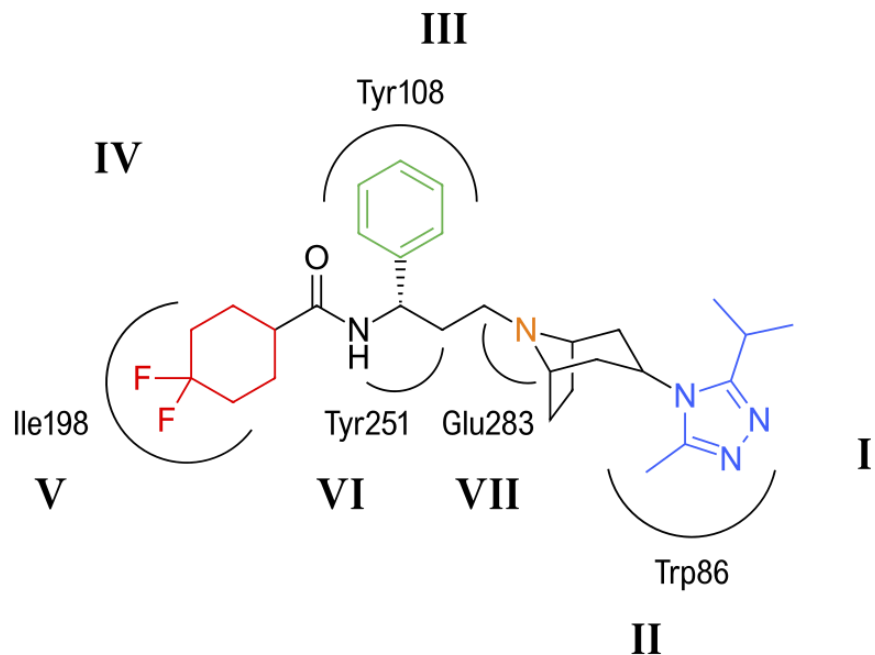
Ογκωδέστερος υποκαταστατης αμιδίου: αύξηση αντιϊκής δράσης, ελαχιστοποίηση αναστολής hERG



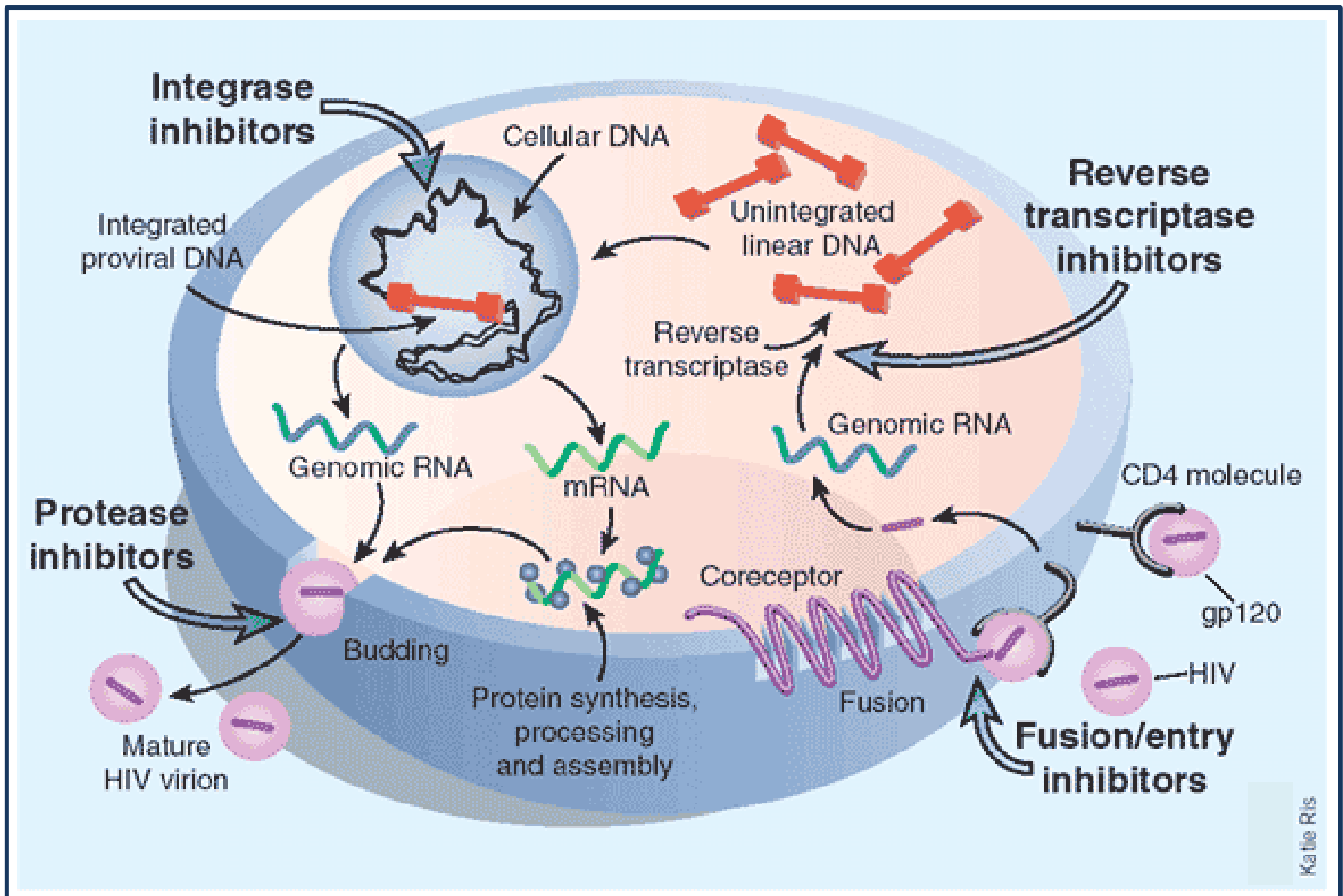
Η εισαγωγή των 4-gem-φθοριών εκμηδενίζει την αναστολή του hERG



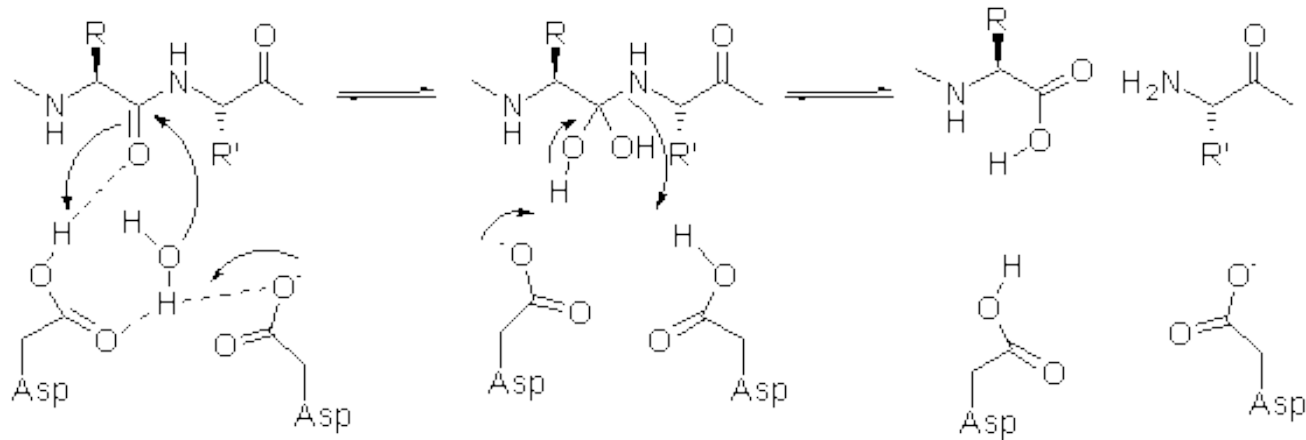
Το Maraviroc θεωρείται κατάλληλο για να συμμετάσχει σε συνδυαστικά χημειοθεραπευτικά σχήματα, με αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης και της HIV-πρωτεάσης.



Χορηγείται μόνο μετά από τη διαπίστωση του τροπισμού των στελεχών, καθώς δεν είναι αποτελεσματικό εάν ο ιός χρησιμοποιεί τον συνυποδοχέα CXCR4.

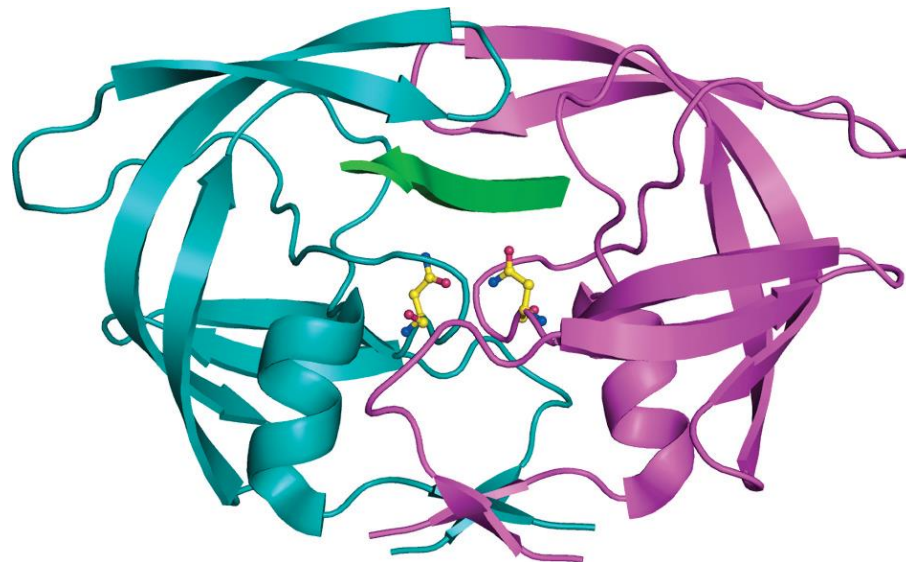


Η διαδοχική χημειοθεραπευτική επέμβαση αντιμετωπίζει ικανοποιητικά την υψηλή ικανότητα μετάλλαξης του HIV



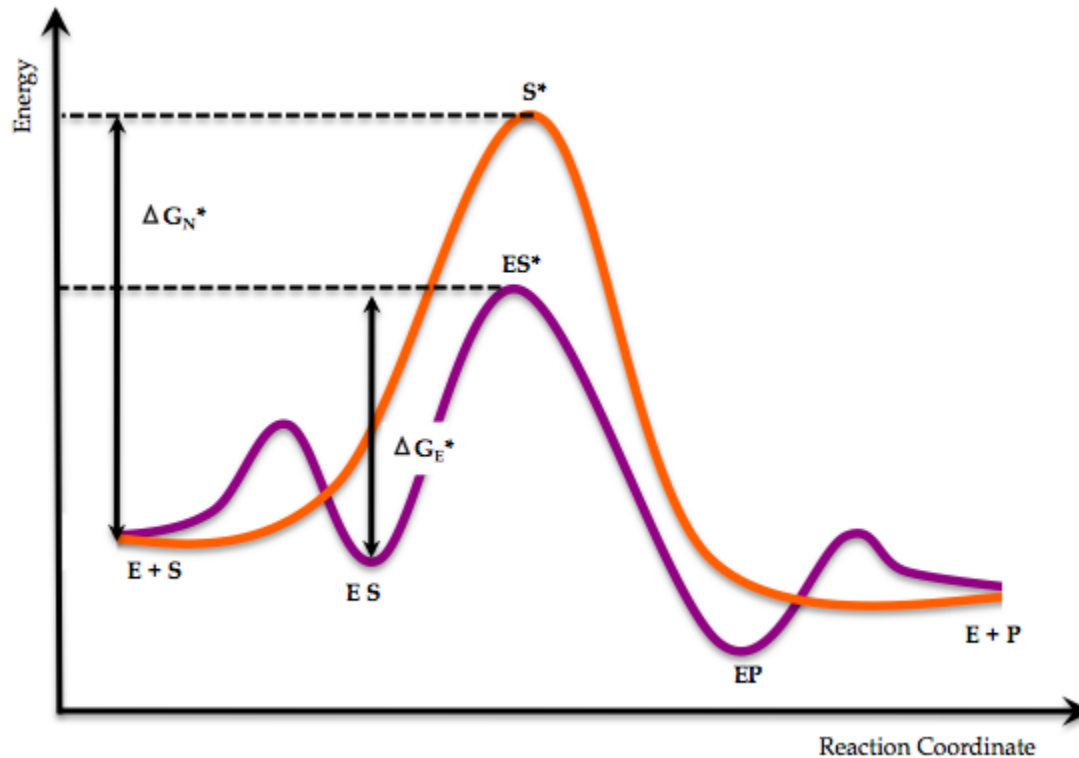
Στόχος: Η HIV πρωτεάση είναι μια **ομοδιμερής ασπαρτική πρωτεάση**, με 2 συντηρημένα Asp στο ενεργό κέντρο. Υδρολύει τελικά ως προς προλίνη.

Πεπτιδικοί, πεπτιδομιμητικοί και μη πεπτιδομιμητικοί αναστολείς.

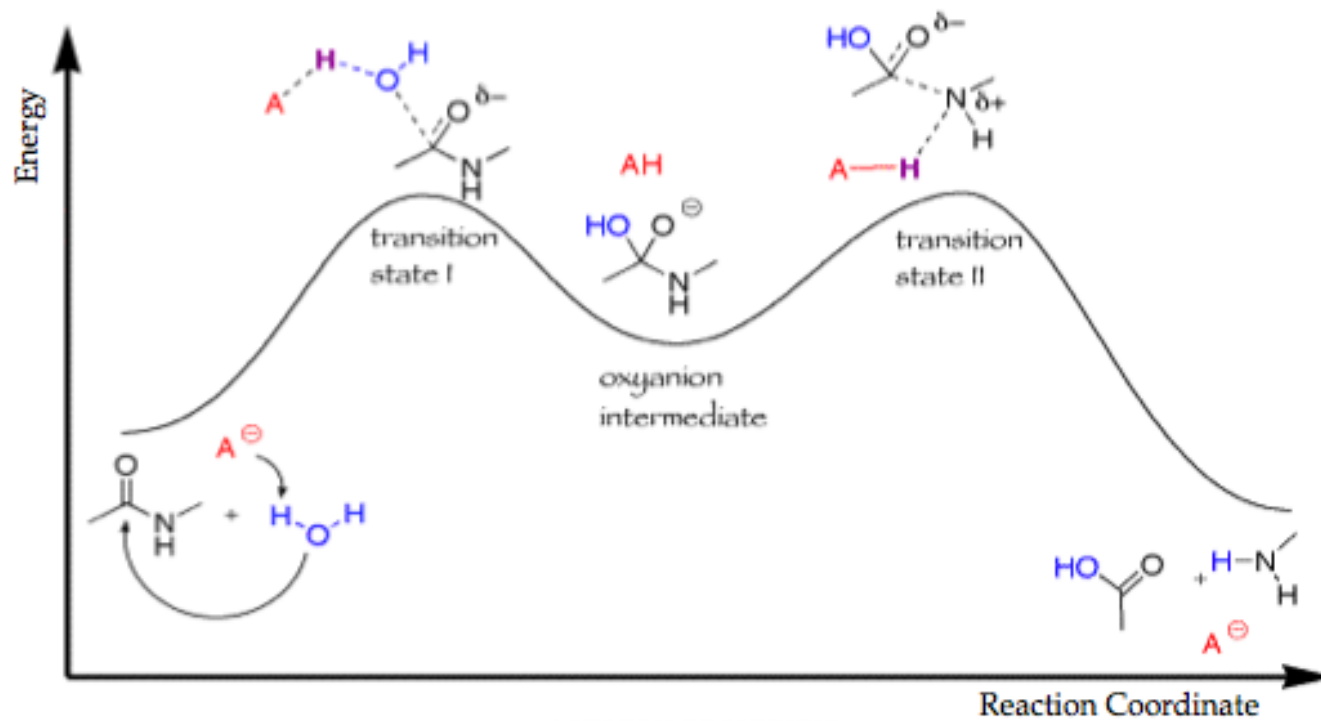


Το γενετικό υλικό του HIV περιέχει γονίδια όπως τα gag και gag-pol, που μεταφράζονται σε πρόδρομες πολυπρωτεΐνες στα ανώριμα ιικά σωματίδια.

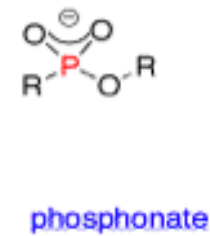
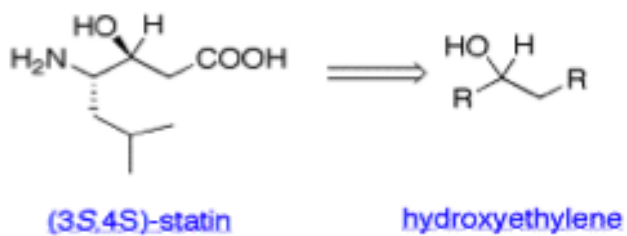
Οι πρωτεΐνες αυτές διασπώνται σε συγκεκριμένες θέσεις από μια ασπαρτική πρωτεάση (κωδικοποιείται από το pol) προς μικρότερες, λειτουργικές και δομικές πρωτεΐνες του ώριμου ιικού σωματίου. Με τον τρόπο αυτό παράγονται οι δομικές πρωτεΐνες p7, p9, p17 και p24, αλλά και λειτουργικά ένζυμα, όπως η αντίστροφη μεταγραφάση.



Transition state mimics – περισσότερο εφικτά σήμερα με την πρόοδο υπολογιστικής χημείας, συνθετικής χημείας, ενζυμολογίας, κρυσταλλογραφίας και απεικονιστικών τεχνικών.



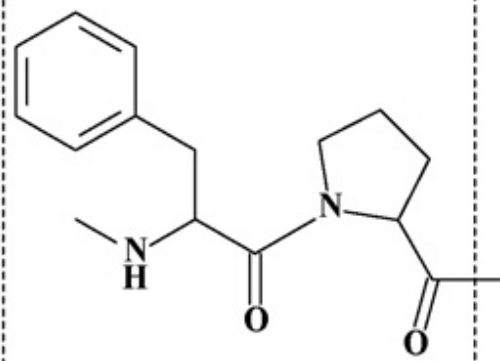
(A = assisting general acid/base in the enzyme active site)



Μελέτη της κινητικής του ενζύμου



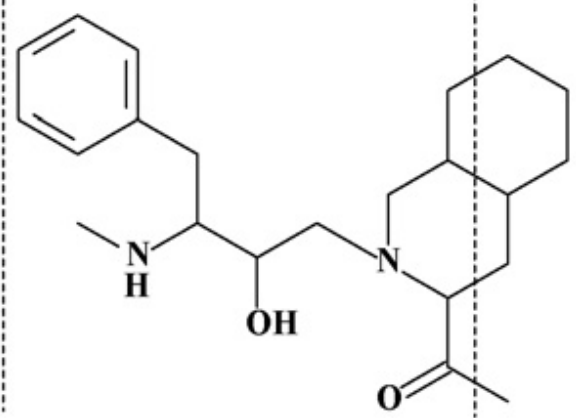
Substrate



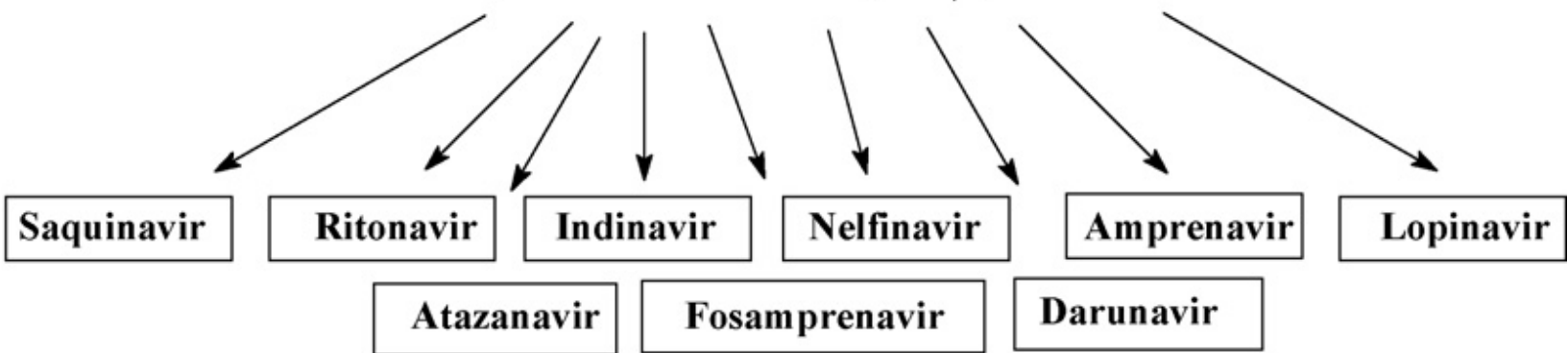
peptidic bond

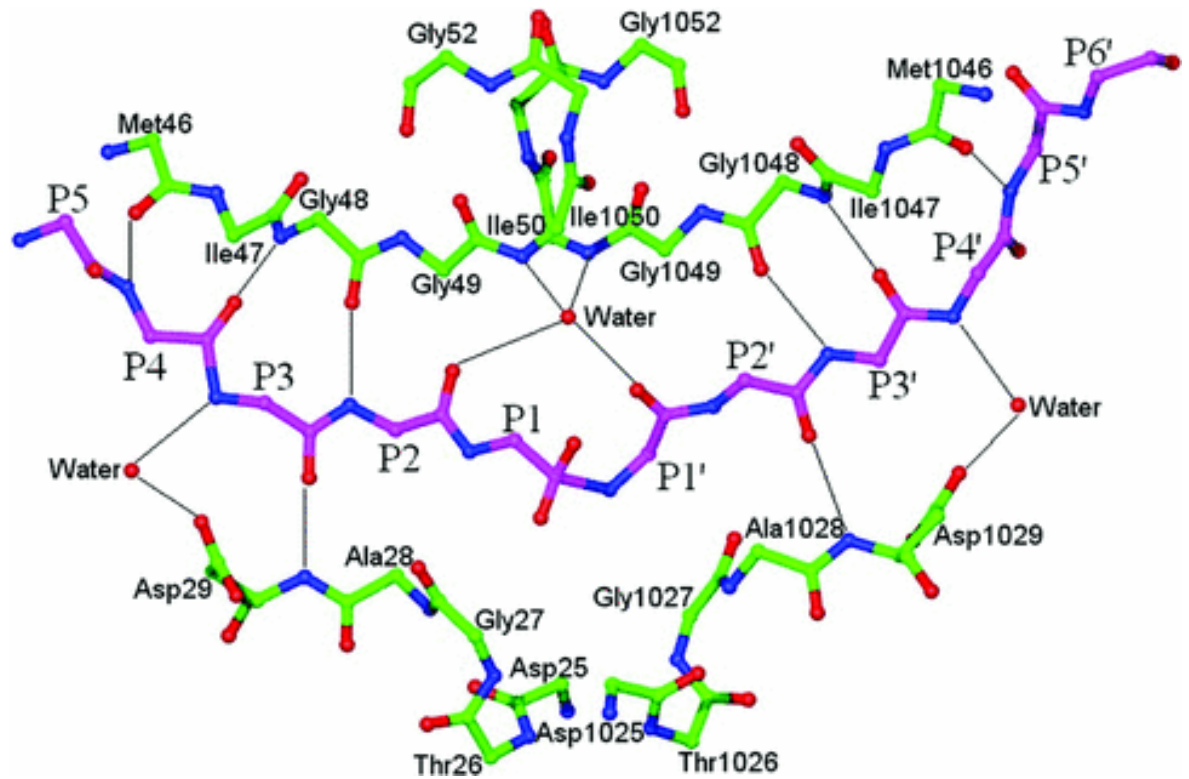
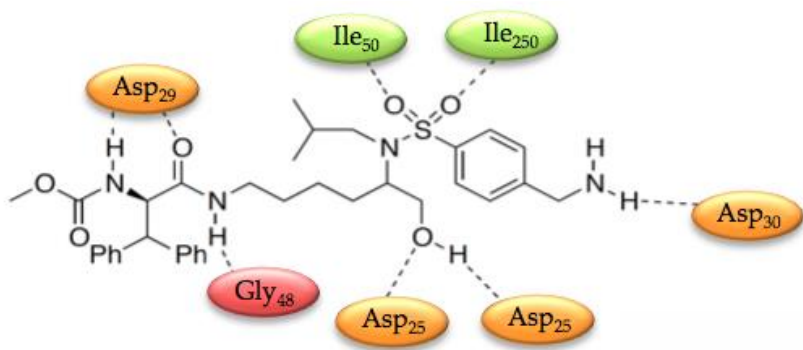
Ο πεπτιδικός δεσμός $-NH-CO-$ αντικαθίσταται από υδροξυαιθυλενομάδα $(-CH_2-CH(OH)-)$, την οποία δεν μπορεί να διασπάσει το ένζυμο HIV protease.

Inhibitor

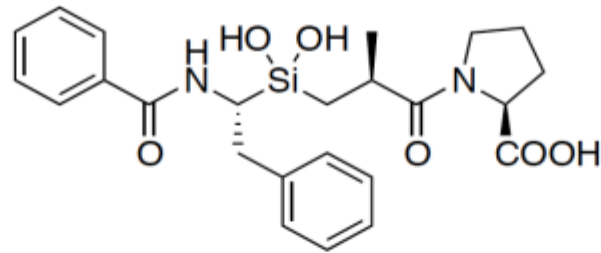


hydroxyethylene bond

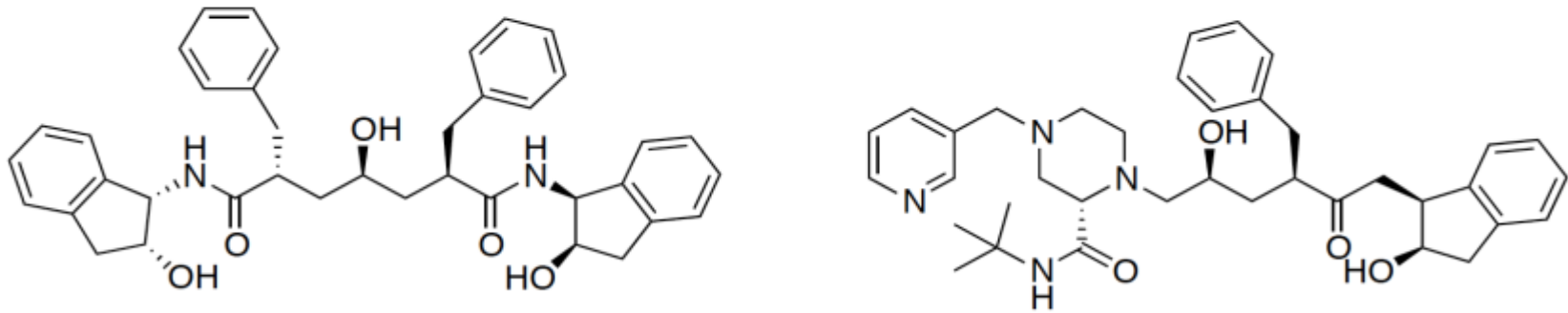




Μελέτη της γεωμετρίας του ενεργού κέντρου – *min* περιοχή αναγνώρισης: 7 αμινοξέα εκατέρωθεν του P1-P'1. Διακρίνεται το **tetracoordinated structural water** που δεσμεύεται με τις δύο Ileu και το stretching του πεπτιδικού δεσμού εκτός επιπέδου.

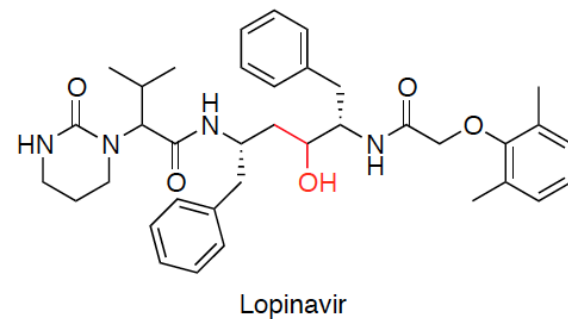
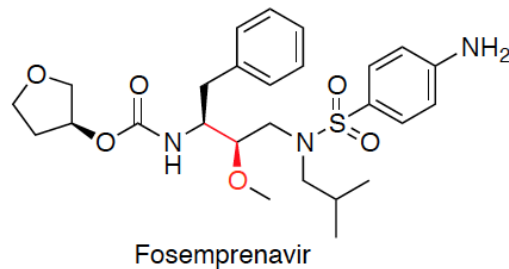
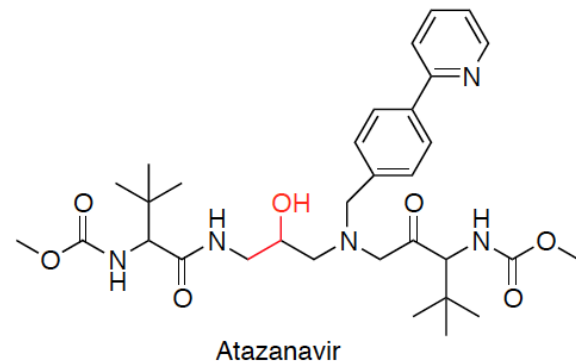
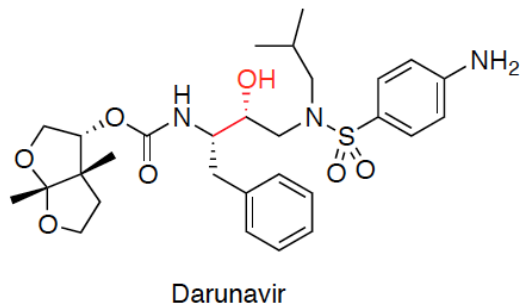
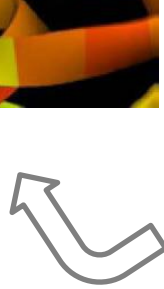
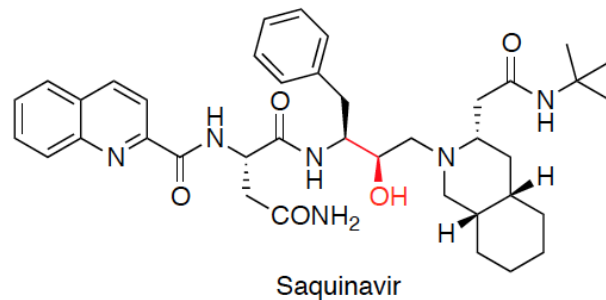
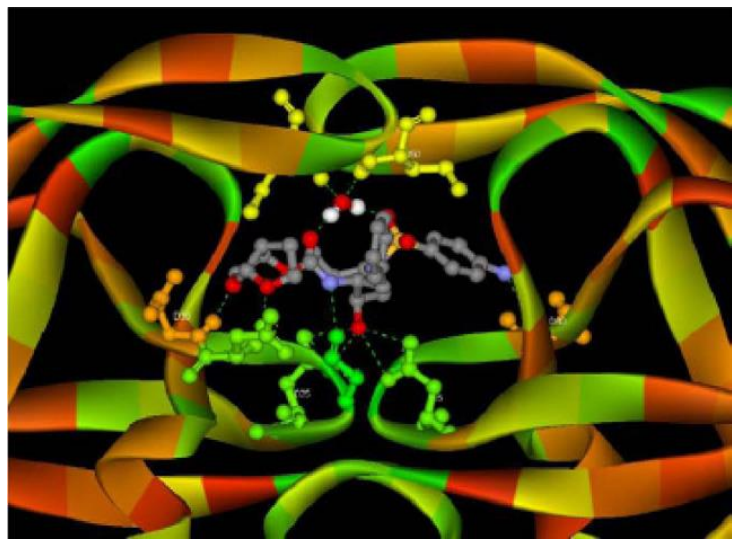


inhibitor of angiotensin converting enzyme
(Mutahi et al., 2002)

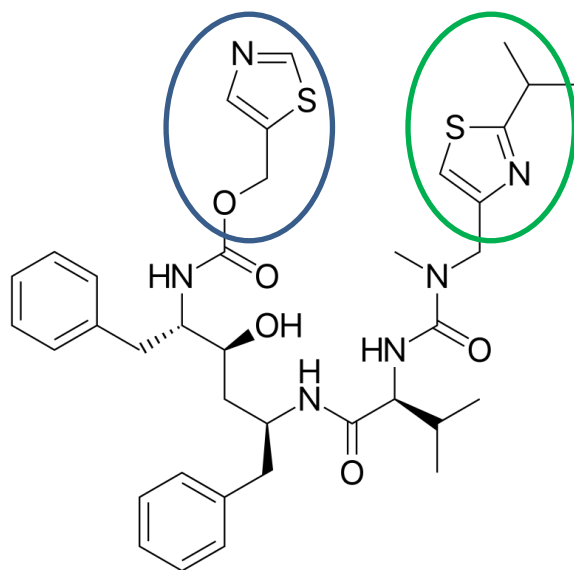


HIV protease inhibitors
(Chen et al., 2001)

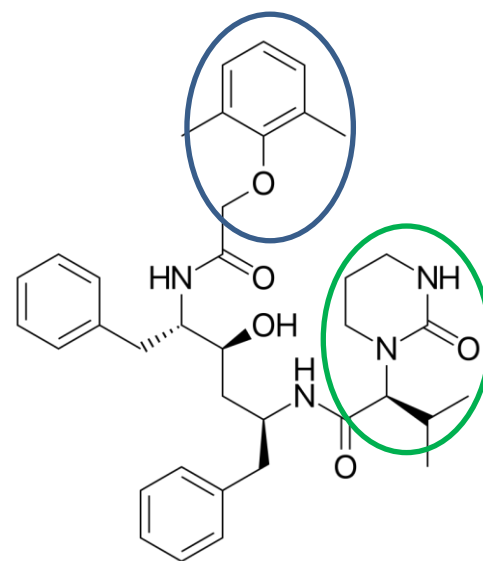
Αξιοποίηση προηγούμενης εμπειρίας, από τον σχεδιασμό αναστολέων ρενίνης/αγγειοτασίνης. Εύρεση αναστολέων του ιϊκού ενζύμου που δεν αναστέλλουν τα ανθρώπινα ένζυμα (δεν διασπούν δεσμό N-τελικό ως προς Pro). Ισοστερές μη διασπώμενο ενδιάμεσο. Αζα-ισοστερή. Σπάνια είναι αποδεκτά τα απολύτως συμμετρικά μόρια - Ασύμμετρα κέντρα.



Όλα τα μόρια διαθέτουν ένα κεντρικό **transition state mimic** τμήμα, (υδροξυαιθυλαμίνη στο Saquinavir). Στο ίδιο μόριο, η επιλογή της τετραϋδροισοκινολίνης συνεισφέρει στην υδατοδιαλυτότητα/μείωση βαθμών ελευθερίας (σχετική ακαμψία). Οι αναστολείς της HIV πρωτεάσης αποτελούν το 40% των διαθέσιμων αντι-HIV φαρμάκων.



ritonavir



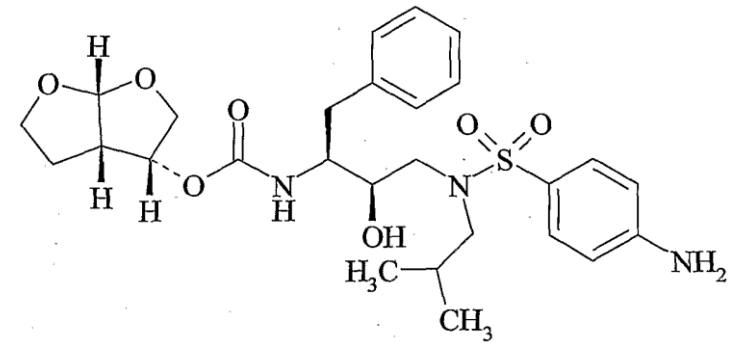
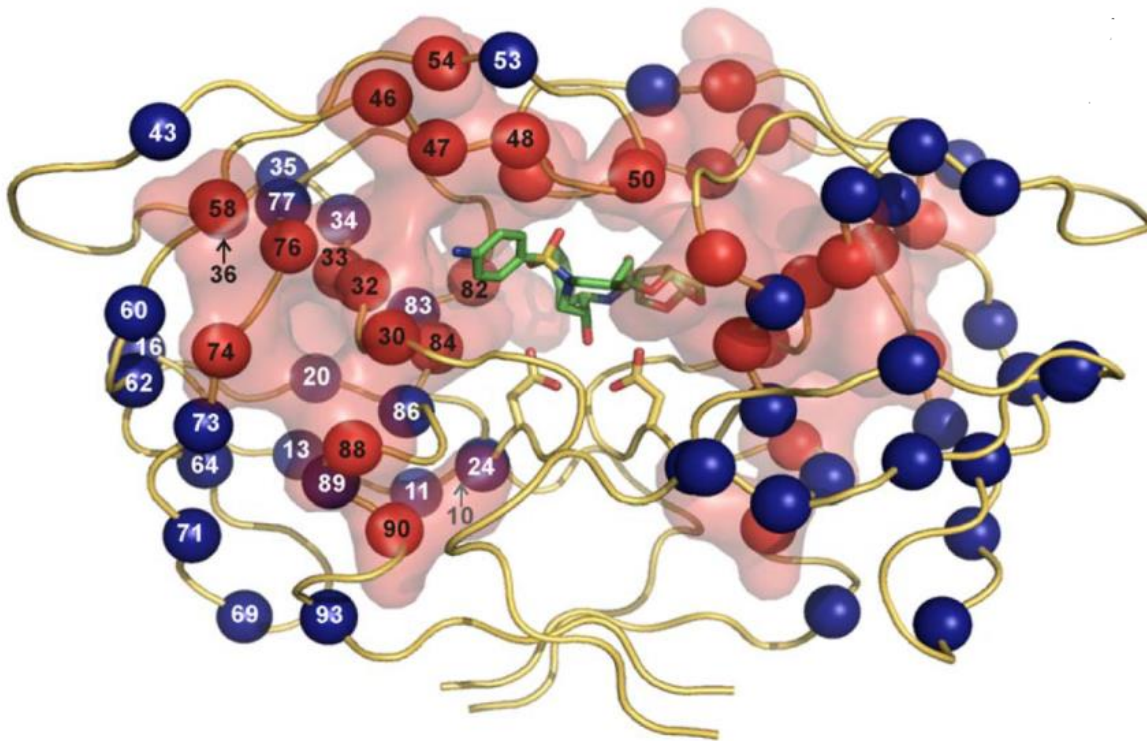
lopinavir

Ανάπτυξη αντοχής – μεταβολική σταθεροποίηση

Ο συνδυασμός Lopinavir + Ritonavir.

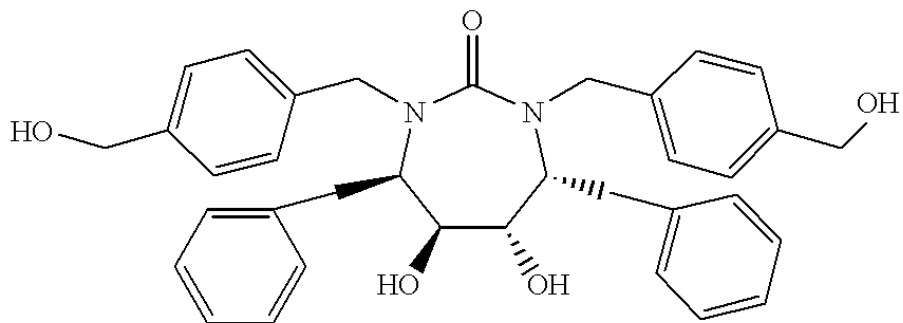
To ritonavir παρουσιάζει μικρή βιοδιαθεσιμότητα και έχει απωλέσει μέρος της δραστηρότητας του στα μεταλλαγμένα στελέχη, όμως είναι ισχυρός αναστολέας του CYP3A4.

To lopinavir δομικό ανάλογο του ritonavir που διατηρεί τη δραστηρότητα του έναντι ανθεκτικών στελεχών, απενεργοποιείται τάχιστα μεταβολικά, απουσία του Ritonavir.

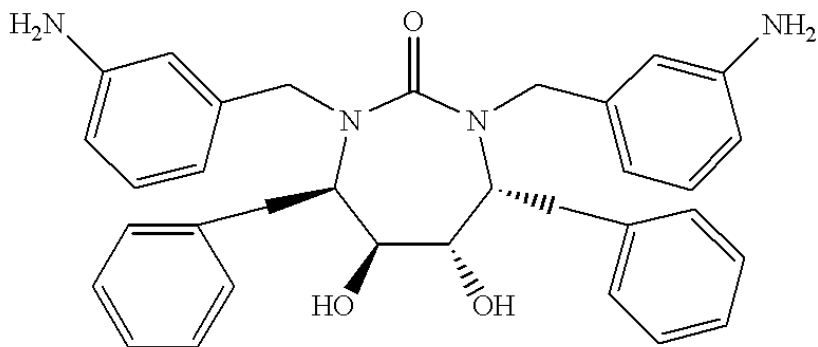


Μελέτη του τρόπου σύνδεσης του ισχυρότερου αναστολέα (Darunavir) στο ενεργό κέντρο της πρωτεάσης.

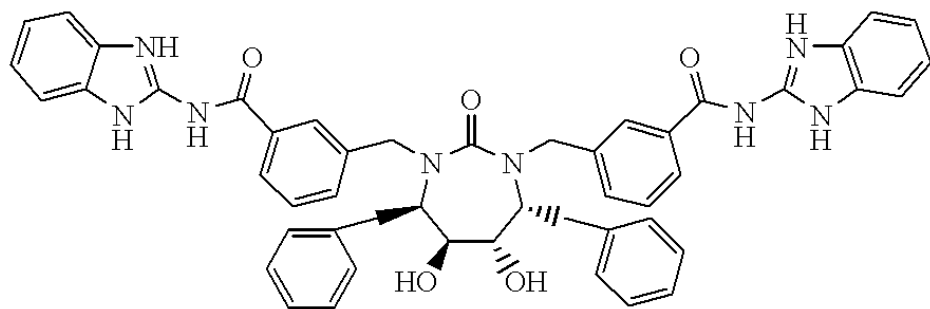
Σχεδιασμός αναστολέων επόμενων γενεών: Με μπλε σφαίρες φαίνονται οι μεταλλάξεις που σχετίζονται με την χορήγηση των κλινικά διαθέσιμων αναστολέων.



DMP-323 1.14



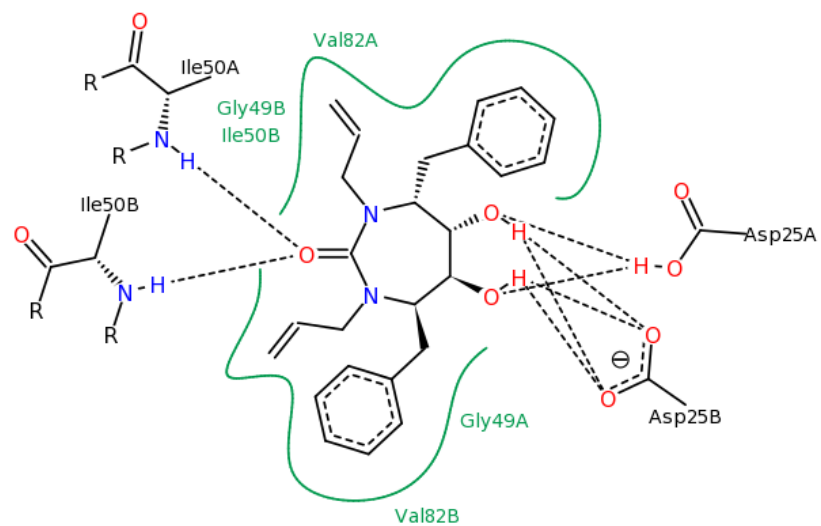
DMP-450 1.15

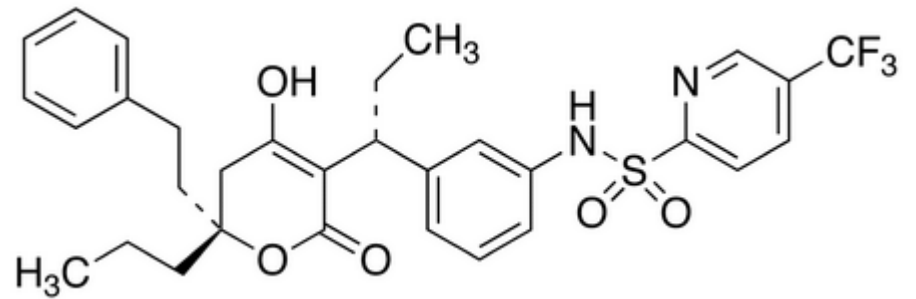
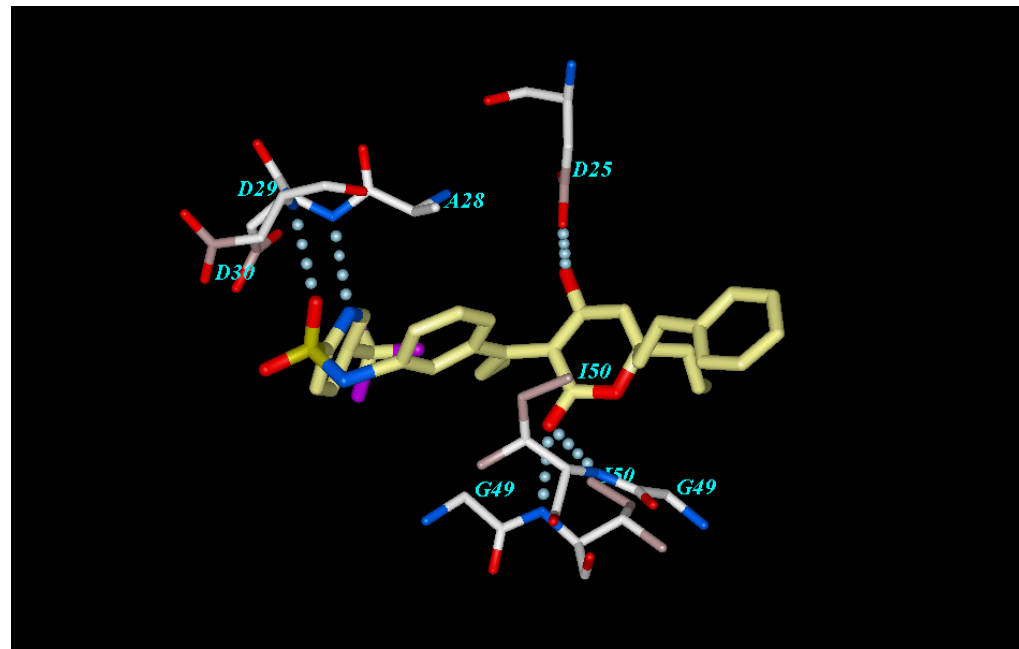
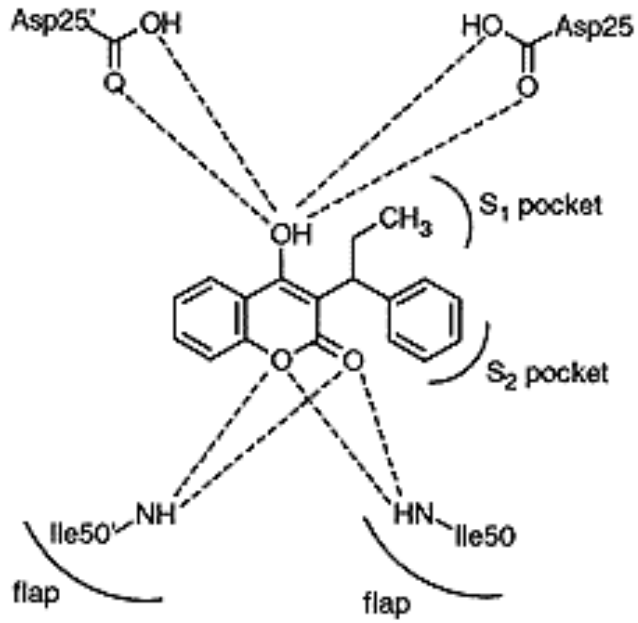


SD146 1.16

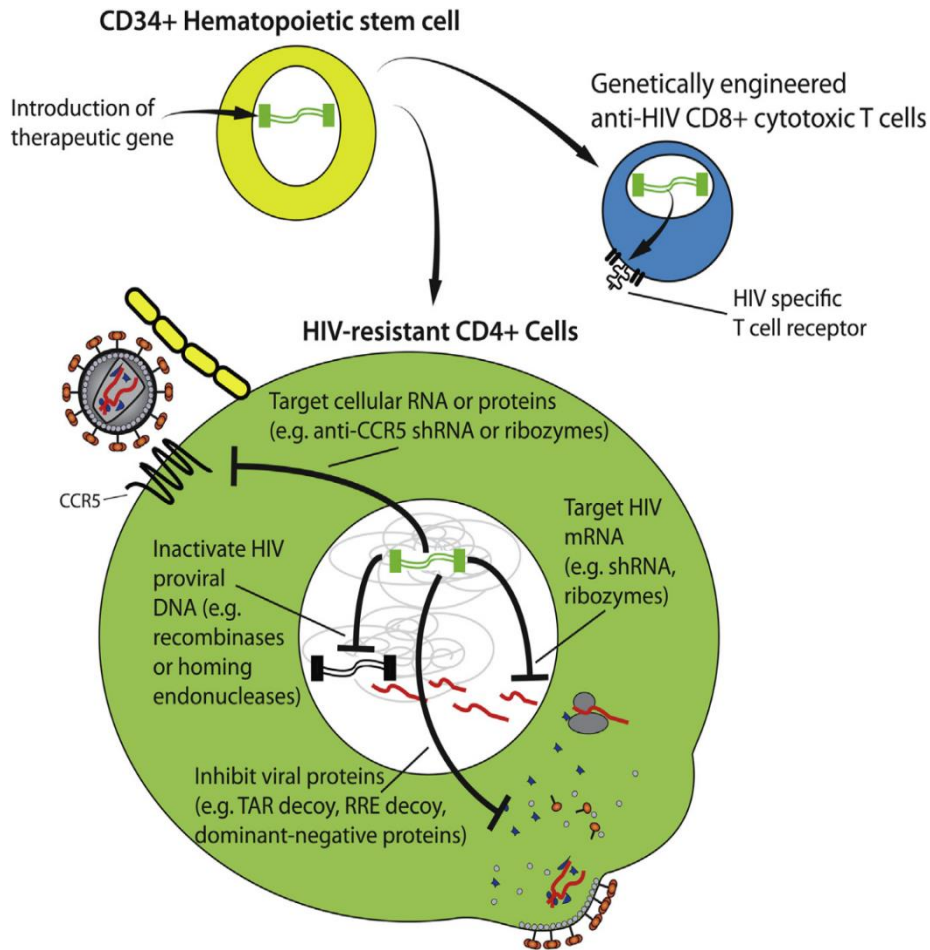
Μη πεπτιδομιμητικοί αναστολείς: κυκλικές ουρίες

Το καρβονύλιο μιμείται το structural water molecule





Μη πεπτιδομιμητικοί αναστολείς: παράγωγα κουμαρίνης - tipranavir



Άλλες προσπάθειες:

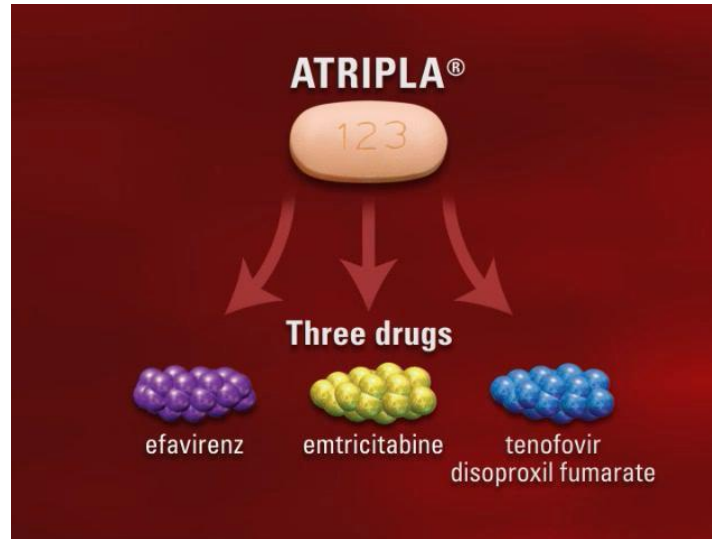
HIV integrase inhibitors (II) – αναστολείς της ενσωμάτωσης του ιικού στο ανθρώπινο DNA.

HIV/AIDS eradication

Είναι εφικτή? ίσως με γονιδιακή θεραπεία σε συνδυασμό με φαρμακο-θεραπεία.

Ο 'Berlin Patient' αποτέλεσε αντικείμενο μελέτης, ως το πρώτο παράδειγμα HIV-positive ασθενούς που θεραπεύθηκε από τον ιό. Έχουν αναφερθεί τουλάχιστον 3 άτομα μέχρι σήμερα.

(Λάμβανε ART για τη μείωση του ιικού φορτίου, αλλά υποβλήθηκε σε θεραπεία με stem cells επειδή προσβλήθηκε από οξεία μυελογενή λευχαιμία).



Συνδυαστική χημειοθεραπεία: κυκλοφορούν πολλά διαφορετικά σκευάσματα: όλα στοχεύουν στην αναστολή του ιικού πολλαπλασιασμού.

Ένα τυπικό σχήμα περιλαμβάνει 3 φάρμακα, που ανήκουν σε τουλάχιστον 2 διαφορετικές κατηγορίες. Συνήθως είναι 2 NRTIs και 1 NNRTI, PI, ή II. Δεν θεραπεύει οριστικά, αλλά αναστέλλει την μετάδοση του ιού και προσφέρει στον ασθενή μεγαλύτερο προσδόκιμο ζωής.

Στις ανεπτυγμένες χώρες η ασθένεια αντιμετωπίζεται ως χρόνια μόλυνση και η χορήγηση των συνδυαστικών φαρμάκων μείωσε κατά 60% - 80% την εισαγωγή στα νοσοκομεία και τους θανάτους.

Επόμενος στόχος: HIV cure

The existing drug treatments are one of our most important tools in fighting the HIV epidemic and have been amazingly effective at suppressing viral replication and spread.

But these treatments aren't curative, so individuals living with HIV have to follow a strict treatment regimen that requires continual access to good affordable health care; that's simply not the world we live in.

Hiatt, J., et al. (2022) A functional map of HIV-host interactions in primary human T cells. Nature Communications

