



**A RESISTÊNCIA AOS FÁRMACOS ANTI-RETROVIRAIS: O CASO DA
TRANSCRIPTASE REVERSA DO HIV-1**

*RESISTANCE TO ANTIRETROVIRAL DRUGS: THE CASE OF THE REVERSE
TRANSCRIPTASE OF HIV-1*

Monique Araujo de Brito

Depto de Farmácia, Área de Química Farmacêutica/Medicinal. Coordenadora do grupo de modelagem molecular e estudos ADMETox in silico da FF-UFF.

E-mail para correspondência: moniquebrito@vm.uff.br

Recebido em 19/04/2011, Aceito em 25/05/2011

RESUMO: Em algumas disciplinas do currículo do farmacêutico, do médico, do biólogo, do enfermeiro, entre outros, frequentemente o professor se depara com a explicação sobre como as mutações enzimáticas levam à resistência aos medicamentos. Este é um assunto de considerada relevância, pois a resistência vem se tornando um problema cada vez mais difícil. Um dos exemplos mais relevantes é o da enzima transcriptase reversa (TR) do HIV-1. A TR é uma enzima alvo de fármacos importantes no combate ao HIV-1 e a cada mês surge na literatura científica exemplos de resistência aos medicamentos. Nesse sentido, como proposta de explicação na sala de aula, foi escolhido um fármaco inibidor não-nucleosídeo da TR para se mostrar como as mutações afetam a ação do fármaco. Foi realizada a pesquisa no banco de dados de proteínas (*Protein Data Bank*, PDB) da nevirapina complexada com diferentes mutantes da transcriptase reversa. Os mutantes foram escolhidos com base em relatos de resistência da literatura. A aula incorporando as estruturas químicas dos aminoácidos torna-se atraente para os alunos, que sedimentam melhor o conhecimento adquirido. Isso contribui para uma melhor relação ensino-aprendizagem.

Palavras-chave: Química Farmacêutica, Ensino, Resistência a Medicamentos, HIV-1.

Abstract: In some discipline in the curriculum of the pharmacists, physicians, biologists, nurses, among others, often the teacher is faced with the explanation of how the mutations lead to resistance to commercial drugs. This is considered a matter of importance, because the resistance is becoming an increasingly difficult problem. One of the most significant example of this is the case of reverse transcriptase of HIV-1. This enzyme is an important drug target in HIV-1 and appears every month in the scientific literature examples of resistance to the commercial drugs. Thus, as proposed explanation in the classroom, was chosen a non-nucleoside drug to show how the mutations affect the drug-receptor complexation. We have search the Protein Data Bank (PDB) looking for nevirapine complexed with different mutants of the reverse transcriptase. Mutants were chosen based on reports of resistance in the literature. The class which incorporate the chemical structures of amino acids becomes attractive to students who sediment better the acquired knowledge. This contributes to a better teaching-learning relationship.

Keywords: Medicinal Chemistry, Education, Drug Resistance, HIV-1.

INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) e a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)

O vírus da imunodeficiência humana (*Human Immunodeficiency Virus*, HIV), um lentivírus pertencente à família Retroviridae (NCBI, 2011), é um parasita do sistema imunológico humano, causando uma doença infecciosa conhecida como síndrome da imunodeficiência adquirida (*Acquired Immuno Deficiency Syndrome*, AIDS) (GALLO et al, 1984; BARRE-SINOUSSE et al, 1983).

Dois tipos de HIV foram identificados, o HIV-1 e o HIV-2 (HIGHTOWER & KALLAS, 2003). O

HIV-1 é predominante, mais disseminado pelo mundo e apresenta maior taxa de mutação. O HIV-2 apresenta índices de patogenicidade e de transmissibilidade inferiores aos do HIV-1, como conseqüência, os indivíduos infectados apenas com o HIV-2 possuem, em geral, sobrevida mais longa (BIRD et al, 2002). O HIV-2 está mais restrito à África Ocidental, a países como Senegal, Guiné, Gâmbia e Cabo Verde (HIGHTOWER & KALLAS, 2003).

A AIDS é uma doença que afeta o sistema imunológico humano, onde o organismo torna-se incapacitado de se defender. A doença é caracterizada por perda de peso acentuada, astenia (fraqueza) e suscetibilidade a infecções (AIDS Education Global Information System, 2011; DE

CLERCQ, 2002). Os alvos de infecção do HIV nos humanos são células que contêm uma glicoproteína de membrana denominada CD4, como macrófagos e células dendríticas e, principalmente, linfócitos T, que são células do sistema imunológico diretamente envolvidas na defesa do organismo contra microorganismos invasores (RAFFANTI & HAAS, 2006).

Epidemiologia

Em todo o mundo, a infecção pelo HIV já matou mais de 30 milhões de pessoas desde quando foi oficialmente reconhecida, em 1981, mostrando-se uma das epidemias mais destrutivas da história (UNAIDS, 2010). O número total de pessoas que vivem com o vírus alcançou um nível

elevado, estimado em cerca de 33 milhões até 2010 (UNAIDS, 2010). Considerando apenas o ano de 2010, e a despeito do acesso ao tratamento anti-retroviral (ARV) em muitas regiões do mundo, a epidemia da AIDS atingiu 2,7 milhões de pessoas, das quais 430 mil são crianças (UNAIDS, 2010).

A Transcriptase Reversa

A TR é uma enzima essencial para o HIV, pois ela catalisa a transcrição reversa da fita simples de RNA viral para DNA. Estruturalmente, a TR é heterodimérica e consiste de duas subunidades proteicas de 66 kDa (p66) e 51 kDa (p51) (FIGURA 1) (BRITO, 2008a; CASTRO et al, 2006; BALZARINI, 2004).

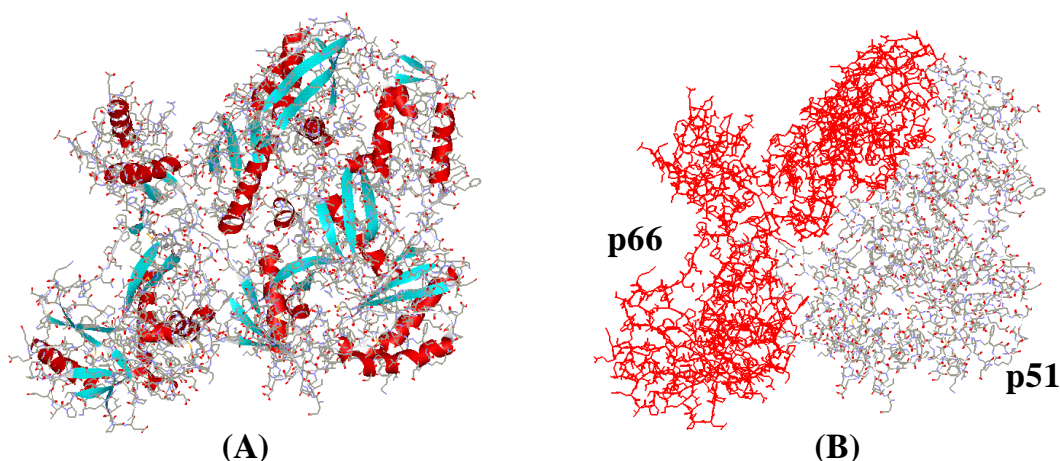


Figura 1. Estrutura 3D da transcriptase reversa do HIV-1. (A) Representação da estrutura secundária em modelo de fita (hélices-alfa em vermelho e folhas-beta em azul claro).

(B) Representação das subunidades p66 (em vermelho) e p51.

Fármacos Inibidores da Transcriptase Reversa do HIV-1

Os inibidores da TR do HIV-1 podem ser classificados em dois grupos principais, de acordo com o

sítio de ligação na enzima. Os inibidores da classe dos nucleosídeos, INTRs, são assim denominados por possuírem analogia estrutural com os substratos naturais do sítio polimerase, dNTPs (2'-desóxinucleotídeo-5'-trifosfatos), competindo com estes nucleotídeos na ligação ao sítio catalítico (BRITO, 2008b). Os inibidores da classe dos não-nucleosídeos, INNTRs, apresentam estruturas químicas

diversificadas (DE CORTE, 2005; REN & STAMMERS, 2005), possuem cinética de inibição do tipo não competitiva em relação ao substrato natural e ligam-se a um sítio alostérico na TR (YADAV & SINGH, 2005). A Figura 2 ilustra a estrutura 3D da TR do HIV-1, destacando a tríade catalítica do domínio polimerase (sítio de ligação dos INTRs) e alguns resíduos do sítio alostérico (sítio de ligação dos INNTRs).

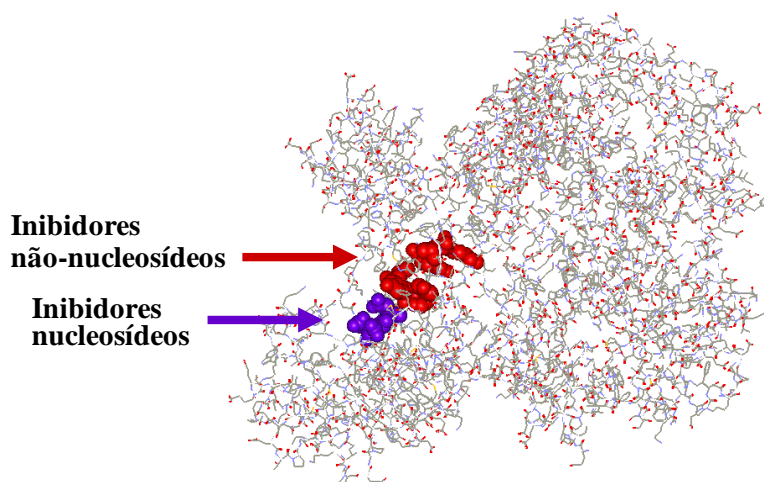


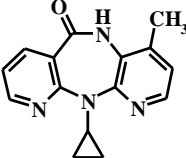
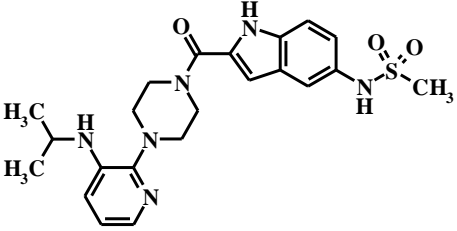
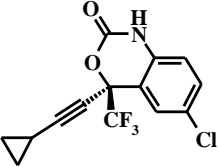
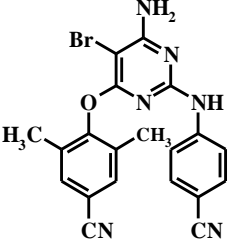
Figura 2. Estrutura da TR do HIV-1 destacando os sítios dos INTRs e INNTRs. Em azul os resíduos catalíticos (Asp110, Asp185 e Asp186) e em vermelho alguns resíduos do sítio alostérico (Lys101, Lys103, Val106, Tyr181 e Tyr188).

Inibidores Não-Nucleosídeos Utilizados na Clínica

Atualmente, há no mercado quatro fármacos da classe dos INNRTs: nevirapina, delavirdina, efavirenz e etravirina (BRITO et al, 2008b). A etravirina é o fármaco mais recente aprovado pelo FDA, em janeiro de 2008 (FDA, 2008; HAUBRICH et al, 2008). A Tabela 1 lista os INNTRs comerciais pelo nome

genérico, estrutura química, nome comercial, indústria farmacêutica envolvida e ano de lançamento.

Tabela 1. Nomes genéricos e comerciais, estruturas químicas, indústrias farmacêuticas envolvidas e anos de lançamento dos quatro fármacos da classe dos INNTRs em uso clínico (Adaptada de FLEXNER, 2007).

Nome Genérico (Comercial [®])	Estrutura Química	Indústria Farmacêutica	Ano de Lançamento
Nevirapina (Viramune)		Boehringer Ingelheim	1996
Delavirdina (Rescriptor)		Pharmacia & Upjohn	1997
Efavirenz (Sustiva)		Bristol-Myers Squibb	1998
Etravirina (Intence)		Tibotec	2008

Principais Tipos de Interações dos INNTRs

Estudos experimentais com enzimas resistentes (REN et al, 2006; PETERSEN et al, 2005; HOPKINS et al, 2004; RAGNO et al, 2004; RAO et al, 2004; MAI et al, 2001) e de modelagem molecular (BRITO, 2008b; RAGNO et al, 2005; SHEN et al, 2003; UDIER-BLAGOVIC et al, 2003; MAI et al, 2001) permitem inferir que a

estabilização da ligação dos INNTRs ao sítio alostérico da TR do HIV-1 é alcançada por quatro tipos principais de interações:

(i) Interações do tipo empilhamento pi (*pi-stacking*) com os anéis aromáticos das cadeias laterais dos resíduos Tyr181, Tyr188, Phe227, Trp229 e Tyr318;

(ii) Interações eletrostáticas com os grupos ionizados das cadeias laterais dos resíduos Lys101, Lys103 e Glu138;

(iii) Interações de van der Waals com os grupos apolares das cadeias laterais dos resíduos Leu100, Val106, Val179, Tyr181, Gly190, Trp229, Leu234 e Tyr318;

(iv) Interações por ligação hidrogênio com os grupos amida da cadeia principal dos resíduos Lys101 e Lys103.

Resistência do HIV-1 aos INNTRs

O HIV tem uma alta taxa de replicação, que pode alcançar até 1010 partículas virais por dia num indivíduo não tratado (PERELSON et al, 1996). Adicionalmente, no processo de transcrição reversa do vírus, observa-se um número alto de mutações genéticas, estimadas na ordem de 10^4 a 10^5 vezes por dia (COFFIN, 1995). A elevada taxa de mutação aliada à conseqüente variabilidade genética tem como principal conseqüência a seleção e a predominância de cepas resistentes aos fármacos anti-HIV empregados no combate à AIDS.

O surgimento de variantes virais resistentes a fármacos em pacientes infectados com o HIV é a principal causa da falha no tratamento (DE CLERCQ, 2004; DE CLERCQ, 2003). O

desenvolvimento de resistência é um fator importante quando se considera a administração de um fármaco por um período prolongado (DE CLERCQ, 2004). Nesse caso, o inibidor passa a atuar como um elemento de pressão seletiva para a sobrevivência do vírus, e o processo de mutação torna-se acelerado em função do uso inadequado dos fármacos anti-HIV (DE CLERCQ, 2004).

As mutações alteram a afinidade dos inibidores pela RT, resultando, geralmente, em diminuição das interações entre inibidor e enzima (BRITO, 2008a; HIMMEL et al, 2005; HOPKINS et al, 2004).

Principais Mutações Descritas para os INNTRs

O desenvolvimento de resistência é um problema significativo da classe dos INNTRs (DE CLERCQ, 2004). Mutações simples tais como Leu100Ile, Lys101Glu, Lys103Asn, Val106Ala, Val108Ile, Tyr181Cys, Tyr188Leu, Gly190Ala, Pro225His e Phe227Leu (JORGENSEN et al, 2006; REN et al, 2006; HIMMEL et al, 2005; CORBETT et al, 1999) e mutações duplas como Lys103Asn/Tyr181Cys (GAGNON et al, 2007), Lys103Asn/Val108Ile, Lys103Asn/Pro225His e Lys103Asn/Leu100Ile (CORBETT et al, 1999) têm sido descritas na literatura em função do uso prolongado de INNTRs.

Neste trabalho procurou-se mostrar através de figuras tridimensionais (3D) feitas em programas gratuitos de visualização de estruturas de proteínas e exemplos ilustrativos, como as mutações simples causam uma diminuição da afinidade entre o fármaco e seu receptor, levando à resistência aos medicamentos. Como proposta de exemplificação, foi escolhido o primeiro fármaco inibidor não-nucleosídeo da TR, nevirapina, complexado com a enzima selvagem (*wild-type*) e cinco mutantes.

Materiais e Métodos

As estruturas 3D da enzima transcriptase reversa complexada com o fármaco nevirapina foram obtidas no site do PDB e visualizadas com o auxílio dos programas gratuitos Molegro Molecular Viewer (<http://www.molegro.com>) e Web lab viewer Lite (http://www.marcsaric.de/index.php/WebLab_Viewer_Lite). Com eles foram confeccionadas figuras ilustrativas em 3D da nevirapina complexada com as TRs mutantes e gerados os mapas de potencial eletrostático (MPE), visando identificar diferenças na distribuição superficial de carga na enzima. Foram estudadas as principais interações que a nevirapina faz com a TR.

Os complexos escolhidos foram da nevirapina com as seguintes

enzimas: enzima selvagem (PDB=3HVT), mutação L100I (PDB=1S1U), mutação K101E (PDB=2HND), mutação K103N (PDB=1FKP), mutação Y181C (PDB=1JLB) e mutação Y188C (PDB=1JLF). A escolha desses complexos baseou-se na relevância da mutação e na resolução do cristal.

As estruturas 2D dos fármacos e dos aminoácidos foram desenhadas com o programa MDL Isis™/Draw v.2.5 (MDL Information Systems, Inc.).

Resultados e Discussão

Em algumas disciplinas do currículo do farmacêutico, do médico, do biólogo, do biomédico, entre outros, frequentemente o professor se depara com a explicação sobre como as mutações enzimáticas levam à resistência aos medicamentos. Este é um assunto de considerada relevância, pois a resistência vem se tornando um problema cada vez mais difícil. Um dos exemplos mais relevantes nesse sentido é o da enzima TR do HIV-1. A TR é uma enzima alvo de fármacos importantes no combate ao HIV-1 e a cada período curto surge na literatura científica exemplos de resistência aos medicamentos.

Até o presente momento não há nenhum estudo publicado em português com o objetivo de mostrar estruturalmente essa resistência no

que diz respeito ao complexo fármaco-receptor, explicitando as diferenças entre os aminoácidos, o que auxilia muito o professor em sala de aula.

Os complexos encontrados no PDB com as palavras de busca "nevirapine" foram 49. Dentre estes foram encontradas enzimas com

mutações simples (i.e., K101E), duplas (i.e., M184V/T215Y) e uma enzima selvagem, ou seja, sem mutação. Destes, foram selecionados seis complexos para análise, um com a enzima selvagem e cinco mutações comuns relatadas na literatura (Tabela 2).

Tabela 2. Códigos do PDB, descrição e resolução dos seis complexos nevirapina-TR selecionados.

Código PDB	Complexo Nevirapina-TR	Resolução (Å)
3HVT	Selvagem (<i>wild-type</i>)	2,90
1S1U	Leu100Ile	3,00
2HND	Lys101Glu	2,50
1FKP	Lys103Asn	2,90
1JLB	Tyr181Cys	3,00
1JLF	Tyr188Cys	2,60

Os INNTRs ligam-se a um sítio alostérico composto principalmente por resíduos hidrofóbicos, como Pro95, Leu100, Val106, Val179, Tyr181, Tyr188, Phe227, Trp229, Leu234, His235, Pro236 e Tyr318. Este sítio está localizado na subunidade p66 da TR do HIV-1, a aproximadamente 10 Å de distância do sítio catalítico polimerase (Figura 2) (YADAV & SINGH, 2005; BALZARINI, 2004).

A primeira estrutura cristalográfica da TR a ser disponibilizada no PDB corresponde ao complexo com um INNTR, a nevirapina (PDB 1HVT) (KOHLSTAEDT et al, 1992). Desde então, inúmeras estruturas cristalográficas da TR livre ou em complexo com diferentes classes de inibidores tem sido depositadas no site.

A nevirapina faz interações com vários resíduos de aminoácidos presentes no sítio alostérico da TR,

que é sabidamente hidrofóbico. Na análise da estrutura cristal da enzima selvagem com este fármaco fazendo um corte de 12 Å, pode-se observar as interações com os aminoácidos que estão envolvidos em frequentes mutações, como Leu100, Lys101, Lys103, Tyr181 e Tyr188 (Figura 3).

(i) interações do tipo empilhamento *pi-pi* (hidrofóbicas) entre um dos anéis piridina do sistema dipirido-diazepinona da nevirapina e os anéis fenilas das cadeias laterais dos resíduos Tyr181 e Tyr188 da enzima TR (setas verdes);

(ii) interações de van der Waals entre a cadeia lateral de Leu100 e o anel central apolar da nevirapina (seta azul);

(iii) interação eletrostática atrativa cátion-pi entre o grupo amino carregado da cadeia lateral de Lys101 e um dos anéis piridina da nevirapina (seta vermelha);

(iv) interação eletrostática iônica atrativa entre o nitrogênio do grupo amino carregado de Lys103 e o átomo de oxigênio do anel diazepinona da nevirapina (seta alaranjada).

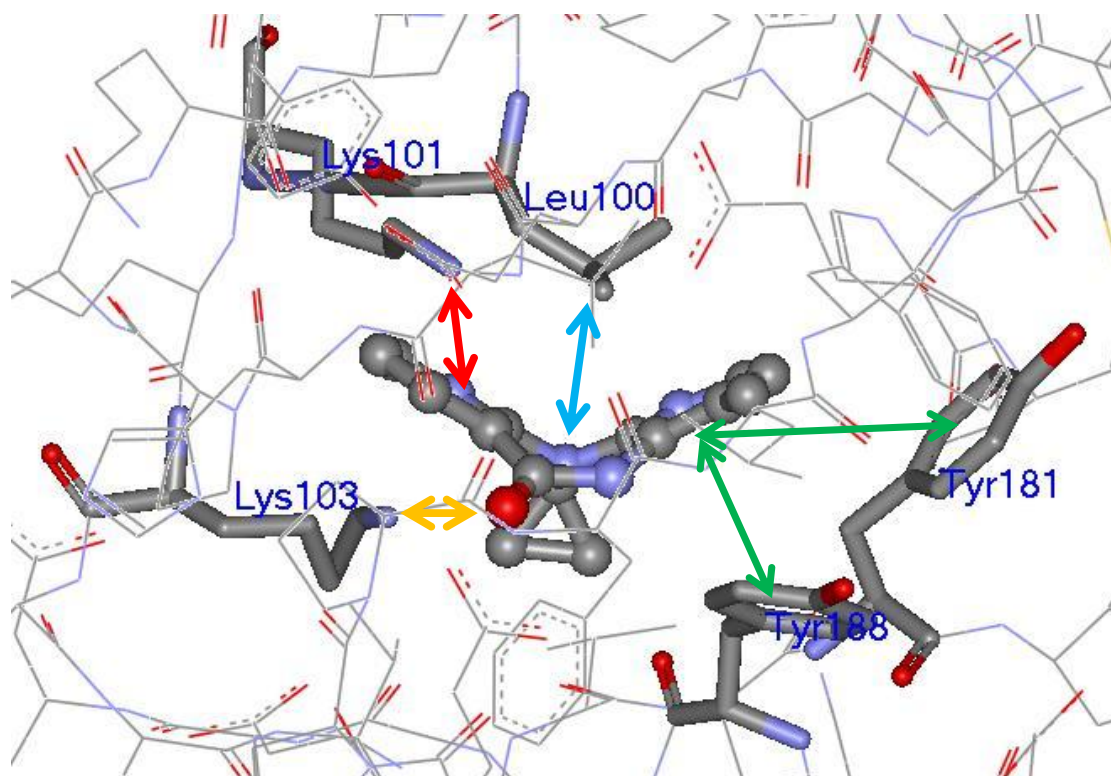


Figura 3. Nevirapina fazendo interações com cinco aminoácidos no sítio alostérico da TR.

Mas o que acontece com a afinidade química da nevirapina

dentro do sítio de ligação da TR quando ocorrem as mutações?

Para entender melhor essa questão, analisaremos a nevirapina complexada com algumas enzimas mutantes.

Complexo PDB:1S1U - mutação Leu100Ile

A mutação Leu100Ile é uma mutação conservada; ela é chamada dessa forma porque não altera as propriedades físico-químicas do resíduo original. Tanto a leucina quanto a isoleucina são aminoácidos com cadeias laterais apolares (Figura 4, em rosa).

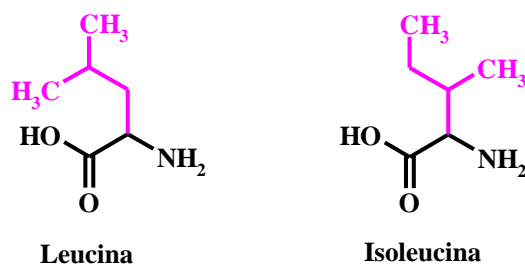


Figura 4. Estruturas químicas dos aminoácidos Leu e Ile.

Ao analisarmos a estrutura 3D mutante não observamos diferença na interação Ile100 em relação à Leu100 (Figura 3, seta azul), pois Ile100 também faz uma interação de van der Waals com os anéis hidrofóbicos da nevirapina (Figura 5), o que não seria desfavorável para o fármaco. Porém,

é relatado na literatura que a mutação causa distorções no sítio de ligação alostérico da TR, o que afeta as interações do fármaco com outros aminoácidos (REN et al, 2007; SMITH et al, 2000), levando como consequência à resistência.

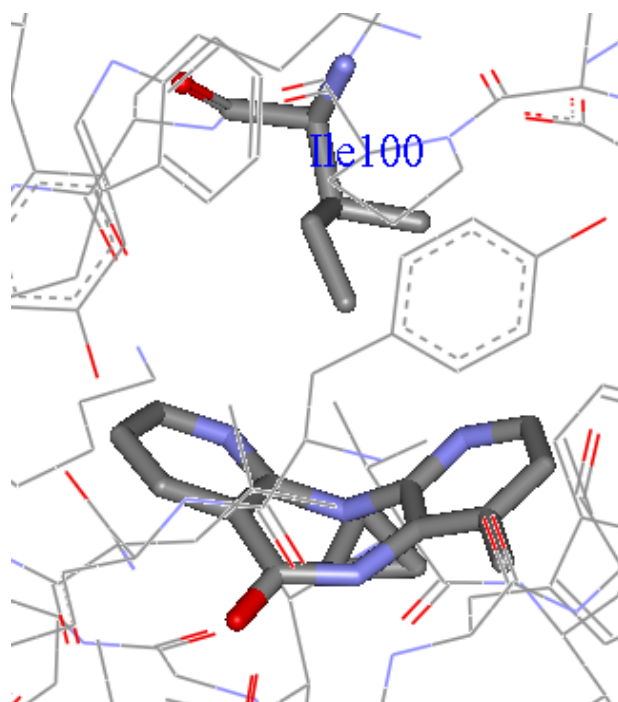


Figura 5. Nevirapina fazendo interação com Ile100 no sítio alostérico da TR.

Complexo PDB: 2HND, mutação Lys101Glu

A mutação Lys101Glu é uma mutação não conservada, pois há a mudança de um aminoácido com características básicas (lisina), portanto com carga formal positiva, para um aminoácido ácido (ácido glutâmico), com carga formal oposta, negativa (Figura 6). Essa mudança pode afetar significativamente as interações intermoleculares fármaco-receptor. Na Figura 3 vimos que a cadeia lateral positivamente

carregada de Lys101 faz uma interação eletrostática atrativa com um dos anéis piridina da nevirapina. Quando ocorre a mutação, passa a haver uma interação eletrostática repulsiva entre o átomo de oxigênio do grupo carboxila da cadeia principal de Glu101 e um dos anéis piridina da nevirapina, com carga parcial negativa devido às nuvens de elétrons pi (Figura 7). Esta interação desfavorável foi reportada por outros autores (REN et al, 2007; REN et al, 2006).

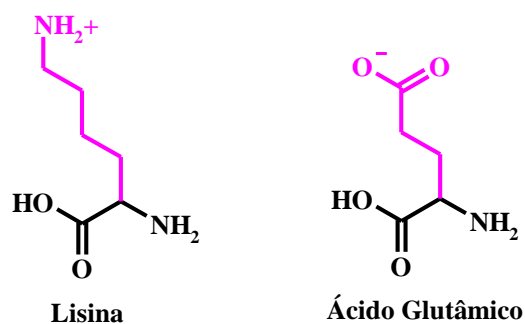


Figura 6. Estruturas químicas dos aminoácidos Lys e Glu.

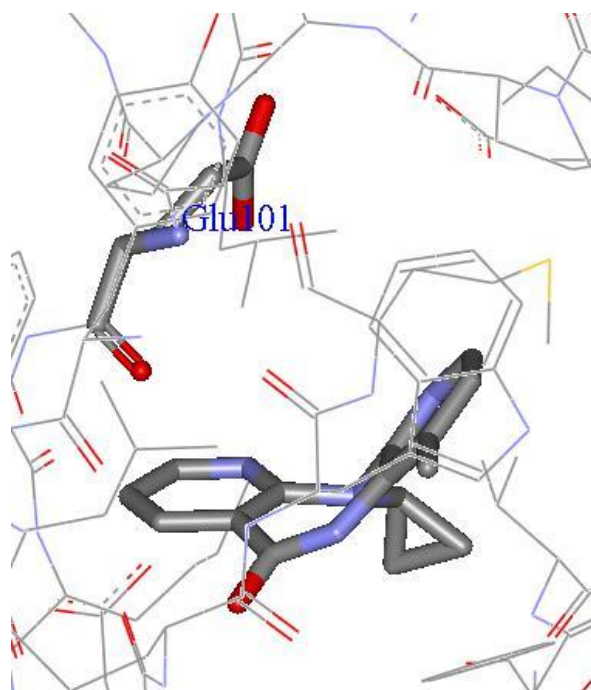


Figura 7. Nevirapina em interação eletrostática desfavorável com Glu101 no sítio alostérico da TR.

Complexo PDB:1FKP, mutação Lys103Asn

Na mutação Lys103Asn ocorre a substituição do aminoácido lisina, positivamente carregado, pelo aminoácido com característica neutra asparagina (Figura 8). Quando o fármaco faz interação eletrostática atrativa com a lisina, como é o caso da nevirapina, a troca por um resíduo

neutro desfavorece a interação, diminuindo a afinidade fármaco-receptor. Neste caso, a substituição aproximou o oxigênio da carbonila do grupo amida da cadeia lateral de asparagina para próximo do anel piridina da nevirapina (Figura 9), o que cai na mesma repulsão do caso anterior. Além disso, não há mais a atração eletrostática favorecida com o

oxigênio da carbonila do grupo lactama do anel diazepinona (REN et

al, 2000).

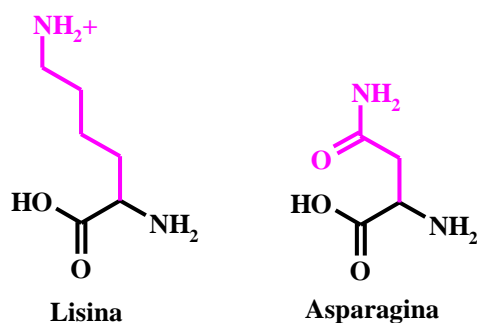


Figura 8. Estruturas químicas dos aminoácidos Lys e Asn.

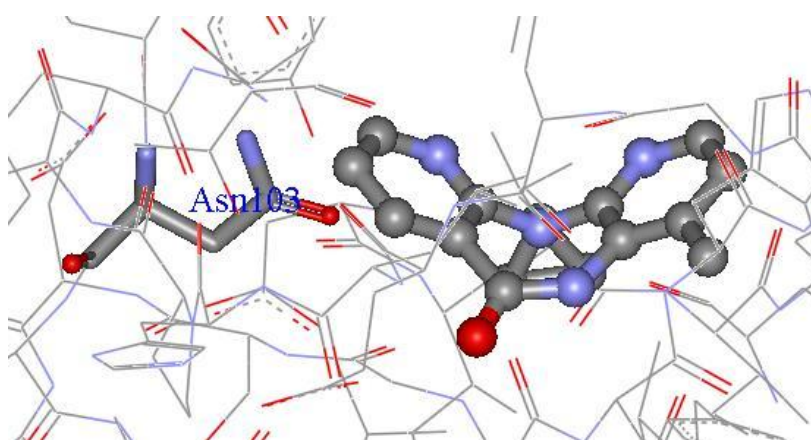


Figura 9. Nevirapina em interação eletrostática desfavorável com Asn103 no sítio alostérico da TR.

Complexos PDB:1JLB, mutação Tyr181Cys e PDB:1JLF, mutação Tyr188Cys

As mutações Tyr181Cys e Tyr188Cys são mutações não-conservadas, pois em ambas ocorre a troca de um aminoácido com cadeia lateral apolar (tirosina), capaz de fazer importantes interações

hidrofóbicas através do anel fenol (Figura 3), por um aminoácido com características neutras e que não faz interações hidrofóbicas (cisteína) (Figura 10). Assim, as interações favoráveis são perdidas e o fármaco não consegue interagir eficientemente com a enzima (Figura 11), perdendo sua atividade. Esta mutação foi reportada por REN et al, 2007.

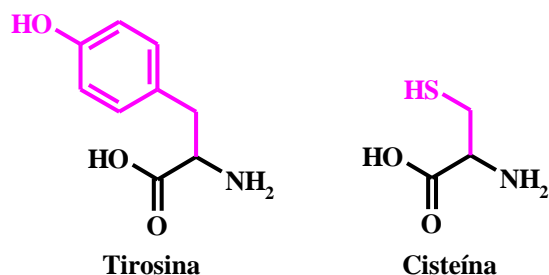


Figura 10. Estruturas químicas dos aminoácidos Tyr e Cys.

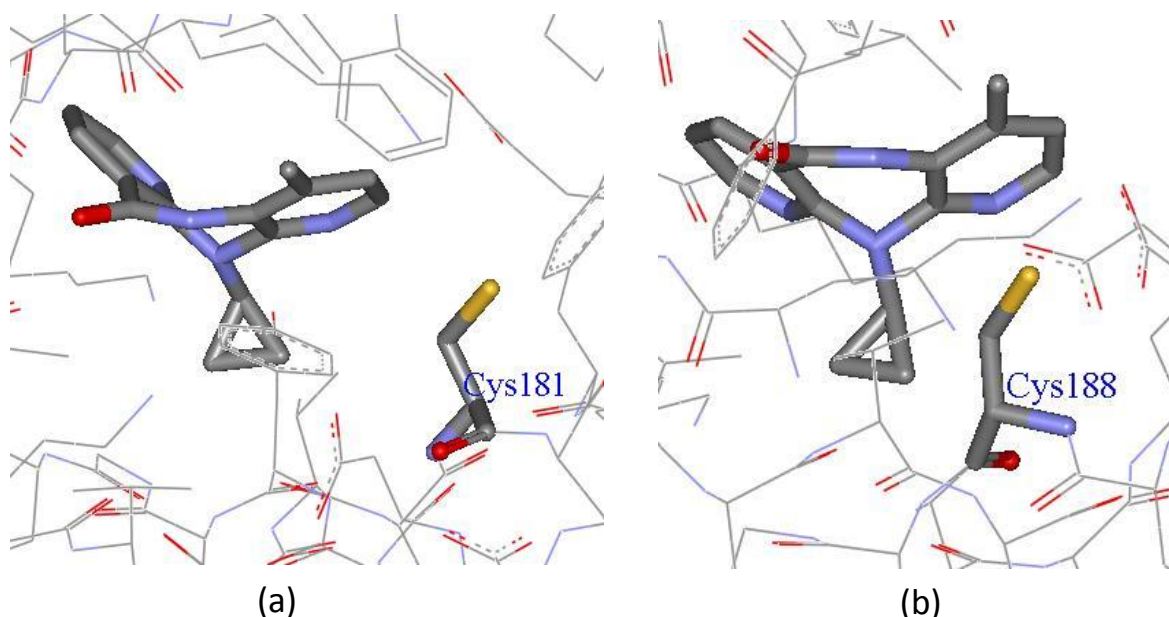


Figura 11. Nevirapina em interações fracas com a TR. (a) Interação com Cys181 (b) interação com Cys188.

Todas essas mutações contribuem para diminuir a afinidade entre o fármaco e o receptor, levando à resistência daquele medicamento. Por isso a importância do uso adequado dos anti-retrovirais e de antibióticos que possuam mecanismos de resistência similares.

Mapas de potencial eletrostático das enzimas selvagem e mutantes

Os mapas de potencial eletrostático são figuras que usam cores para representar os valores de potencial dos átomos de uma determinada molécula. A cor vermelha indica uma região rica em elétrons, ou seja, com alta densidade eletrônica; a cor azul indica uma

região com baixa densidade eletrônica e a cor branca indica uma região neutra (SANTOS et al, 2010).

A observação dos mapas de potencial eletrostático para a enzima selvagem e as mutantes (Figura 12) nos permite inferir que mesmo as

mutações simples provocam modificações na distribuição de carga superficial das enzimas, o que de fato pode contribuir para a resistência aos fármacos, pois estes ao interagirem com a enzima encontram um ambiente químico diferente ou modificado por causa das mutações.

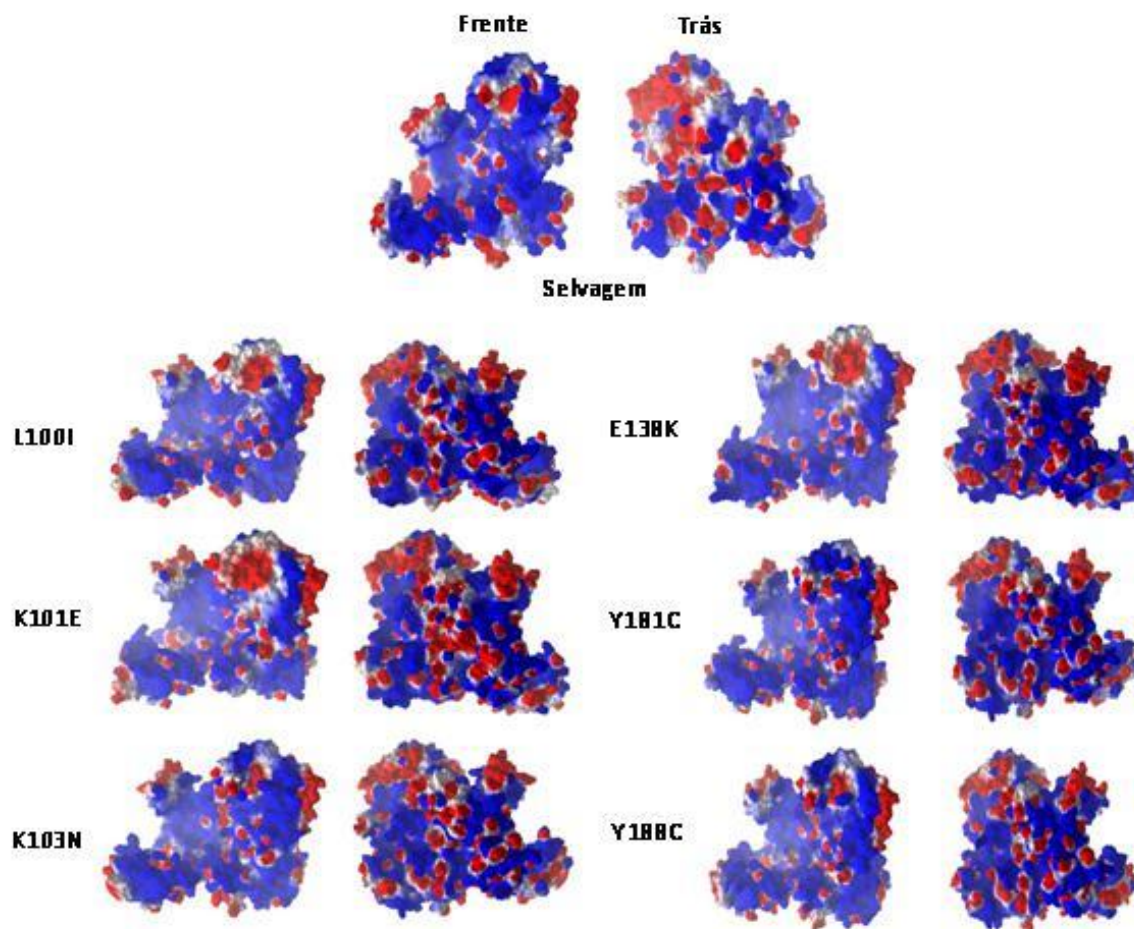


Figura 12. Mapas de potencial eletrostático das TRs do HIV-1 selvagem e das mutantes (Leu100Ile, Lys101Glu, Lys103Asn, Glu138Lys, Tyr181Cys e Tyr188Cys).

Conclusões

Neste trabalho mostrou-se através de exemplos ilustrativos e figuras 3D feitas em programas gratuitos de visualização de estruturas

de proteínas, como as mutações simples causam uma diminuição da afinidade entre o fármaco nevirapina e seu receptor, a enzima TR do HIV-1, levando à resistência aos medicamentos. De todos os fármacos

da classe dos INNTR, a etravirina, fármaco mais novo, é o único que ainda consegue ter atividade para alguns vírus mutantes.

Todas essas mutações, que ocorrem em resíduos muito próximos ao inibidor, contribuem para diminuir a afinidade entre o fármaco e a enzima, levando à resistência a determinado medicamento. Por isso a

importância do uso adequado dos anti-retrovirais e de antibióticos que possuam mecanismos de resistência similares.

A aula incorporando as estruturas químicas dos aminoácidos torna-se atraente para os alunos, que sedimentam melhor o conhecimento adquirido. Isso contribui para uma melhor relação ensino-aprendizagem.

Referências Bibliográficas

AIDS Education Global Information System 2011. [online]. Disponível na URL: www.aegis.com/. [Acessado em 15 de abril de 2011].

BALZARINI J. Current status of the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors of human immunodeficiency virus type 1. *Curr. Top. Med. Chem.* 2004, 4: 921-944.

BARRE-SINOUSSE F, CHERMANN JC, REY F, NUGEYRE MT, CHAMARET S, GRUEST J, DAUGUET C, AXLER-BLIN C, VEZINET-BRUN F, ROUZIOUX C, ROZENBAUM W, MONTAGNIER L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for AIDS. *Science.* 1983, 220: 868-71.

BIRD LE, PHILIP PC, GUILLAUME BE, STEWART-JONES JR, STUART DI. Cloning, expression, purification, and crystallisation of HIV-2 reverse transcriptase. *Protein Expres. Purif.* 2002, 27: 12-18.

BRITO MA. QSAR-3D de Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa do HIV-1: Estudos Independente e Dependente da Enzima. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, UFRJ, Rio de Janeiro. 2008 a, 230 p.

BRITO MA, CIRINO JJV, RODRIGUES CR, ALENCASTRO RB, CASTRO H C, ALBUQUERQUE MG. 3D-QSAR CoMFA of a Series of DABO Derivatives as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors. *Journal of Chemical Information and Modeling.* 2008 b, 39: 456 - 462.

CASTRO HC, LOUREIRO NIV, PUJOL-LUZ M, SOUZA AMT, ALBUQUERQUE MG, SANTOS DO, CABRAL LM, FRUGULHETTI IC, RODRIGUES CR. HIV-1 reverse

transcriptase: a therapeutical target in the spotlight. *Curr. Med. Chem.* 2006, 13: 313- 324.

COFFIN JM. HIV Population Dynamics In Vivo: Implications for Genetic Variation, Pathogenesis, and Therapy. *Science* 1995, 267: 483-489.

CORBETT JW, KO SS, RODGERS JD, JEFFREY S, BACHELER LT, KLABE RM, DIAMOND S, LAI C-M, RABEL SR, SAYE JA, ADAMS SP, TRAINOR GL, ANDERSON PS, ERICKSON-VIITANEN SK. Expanded-Spectrum Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors Inhibit Clinically Relevant Mutant Variants of Human Immunodeficiency Virus Type 1. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999, 43: 2893-2897.

DE CLERCQ E. Strategies in the design of antiviral drugs. *Nature Rev. Drug Discov.* 2002, 1: 13-25.

DE CLERCQ E. New developments in anti-HIV-1 chemotherapy. *Biochim. & Biophys. Acta* 2003, 1587: 258-275.

DE CLERCQ E. HIV-chemotherapy and prophylaxis: new drugs, leads and approaches. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2004, 36: 1800-1822.

DE CORTE BL. From 4,5,6,7-Tetrahydro-5-methylimidazo[4,5,1jk](1,4)benzodiazepin-2(1H)-one (TIBO) to Etravirine (TMC125): Fifteen Years of Research on Non-Nucleoside Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase. *J. Med. Chem.* 2005, 48: 1689-1696.

FDA, 2008 [online]. Disponível na URL: <http://www.fda.gov/oashi/aids/virals.html>. [Acessado em 14 de abril de 2011].

FLEXNER C. HIV drug development: the next 25 years. *Nat. Rev. Drug Disc.* 2007, 6: 959-966.

GALLO RC, SALAHUDDIN SZ, POPOVIC M, SHEARER GM, KAPLAN M, HAYNES BF, PALKER TJ, REDFIELD R, OLESKE J, SAFAI B. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science.* 1984, 224: 500-503.

HAUBRICH R, GUBERNICK S, YASOTHAN U, KIRKPATRICK P. Etravirine. *Nature Reviews Drug Discovery.* 2008, 7: 287-289.

HIGHTOWER M, KALLAS EG. Diagnosis, antiretroviral therapy, and emergence of resistance to antiretroviral agents in HIV-2 infection: a review. *Braz. J. Infect. Dis.* 2003, 7: 7-15.

HIMMEL DM, DAS K, CLARK AD, HUGHES SH, BENJAHAD A, OUMOUCHE S, GUILLEMONT G, COUPA S, PONCELET A, CSOKA I, MEYER C, ANDRIES K, NGUYEN CH, GRIERSON DS, ARNOLD E. Crystal Structures for HIV-1 Reverse Transcriptase in Complexes with Three Pyridinone Derivatives: A New Class of Non-Nucleoside Inhibitors Effective against a Broad Range of Drug-Resistant Strains. *J. Med. Chem.* 2005, 48: 7582 -7591.

HOPKINS AL, REN J, MILTON J, HAZEN RJ, CHAN JH, STUART DI, STAMMERS DK. Design of NNRTIs with improved drug resistance properties. *J. Med. Chem.* 2004, 47: 5912-5922.

JORGENSEN WL, RUIZ-CARO J, TIRADO-RIVES J, BASAVAPATHRUNI A, ANDERSON KS, HAMILTON AD. Computer-aided design of non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, 16: 663-667.

KOHLSTAEDT LA, WANG J, FRIEDMAN JM, RICE PA, STEITZ TA. Crystal structure at 3.5 angstrom resolution of HIV-1 reverse transcriptase complexed with an inhibitor. *Science* 1992, 256: 1783-1790.

MAI A, ARTICO M, RAGNO R, SBARDELLA G, MASSA S, MAGA CG, LA COLLA P. 5-Alkyl-2-alkylamino-6-(2,6-difluorophenylalkyl)-3,4-dihydropyrimidin-4(3H)-ones, a new series of potent, broad-spectrum non nucleoside reverse transcriptase inhibitors belonging to the DABO family. *Bioorg. & Med. Chem.* 2001, 13: 2065-2077.

MDL Isis™/Draw v.2.5 (MDL Information Systems, Inc.).

Molegro ApS, Aarhus, Denmark. Disponível na URL: <http://www.molegro.com>.

NCBI (National Center for Biotechnology Information) 2011. [online]. Disponível na URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/retroviruses/> [Acessado em 14 de abril de 2011].

PERELSON AS, NEUMANN AU, MARKOWITZ M, LEONARD JM, HO DD. HIV-1 Dynamics In Vivo: Virion Clearance Rate, Infected Cell Life-Span, and Viral Generation Time. *Science* 1996, 271: 1582-1586.

PETERSEN L, JORGENSEN PT, NIELSEN C, HANSEN TH, NIELSEN J, PEDERSEN EB. Synthesis and Evaluation of Double-Prodrugs against HIV. Conjugation of D4T with

6-Benzyl-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (MKC-442, Emivirine) Type Reverse Transcriptase Inhibitors via the SATE Prodrug Approach. *J. Med. Chem.* 2005, 48: 1211-1220.

RAFFANTI S, HAAS DW. Agentes Anti-Retrovirais. In: Goodman & Gilman, As Bases Farmacológicas da Terapêutica; 2006. 11^a ed. 1671 pp.

RAGNO R, FRASCA S, MANETTI F, BRIZZI A, MASSA S. HIV-Reverse Transcriptase Inhibition: Inclusion of Ligand-Induced Fit by Cross-Docking Studies. *J. Med. Chem.* 2005, 48: 200-212.

RAGNO R, MAI A, SBARDELLA G, ARTICO M, MASSA S, MUSIU C, MURA M, MARTURANA F, CADEDDU A, LA COLLA P. Computer-aided design, synthesis, and anti-HIV-1 activity in vitro of 2-alkylamino-6-[1-(2,6-difluorofenil)alkyl]-3,4-dihydro-5-alkylpyrimidin-4(3H)-ones as a novel potent non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, also active against the Y181C variant. *J. Med. Chem.* 2004, 47: 928-934.

RAO A, BALZARINI J, CARBONE A, CHIMIRRI A, DE CLERCQ E, MONFORTE AM, MONFORTE P, PANNECOUQUE C, ZAPPALÀ M. 2-(2,6-Dihalophenyl)-3-(pyrimidin-2-yl)-1,3-thiazolidin-4-ones as non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Antiviral Res.* 2004, 63: 79-84.

REN J, NICHOLS CE, CHAMBERLAIN PP, WEAVER KL, SHORT SA, CHAN JH, KLEIM JP, STAMMERS DK. Relationship of potency and resilience to drug resistant mutations for GW420867X revealed by crystal structures of inhibitor complexes for wild-type, Leu100Ile, Lys101Glu, and Tyr188Cys mutant HIV-1 reverse transcriptases. *J. Med. Chem.* 2007, 50: 2301-2309.

REN J, NICHOLS CE, STAMP A, CHAMBERLAIN PP, FERRIS R, WEAVER KL, SHORT SA, STAMMERS DK. Structural insights into mechanisms of nonnucleoside drug resistance for HIV-1 reverse transcriptases mutated at codons 101 or 138. *FEBS Journal* 2006, 273: 3850-3860.

REN J, STAMMERS DK. HIV reverse transcriptase structures: designing new inhibitors and understanding mechanisms of drug resistance. *Trends in Pharmacol. Sci.* 2005, 26: 4-7.

REN J, MILTON J, WEAVER KL, SHORT SA, STUART DI, STAMMERS DK. Structural basis for the resilience of efavirenz (DMP-266) to drug resistance mutations in HIV-1 reverse transcriptase. *Structure.* 2000, 8(10): 1089-1094.

SANTOS MS, GOMES AO, BERNARDINO AMR, SOUZA MC, KHAN MA, BRITO MA, CASTRO HC, ABREU PA, RODRIGUES CR, LÉO RMM, LEON LL, CANTO-CAVALHEIRO M M. Synthesis and antileishmanial activity of new 1-aryl-1H-pyrazole-4-carboximidamides derivatives. J. Braz. Chem. Soc. 2010, 22: 352-358.

SHEN L, SHEN J, LUO X, CHENG F, XU Y, CHEN K, ARNOLD E, DING J, JIANG H. Steered Molecular Dynamics Simulation on the Binding of NNRTI to HIV-1 RT. Biophys. J. 2003, 84: 3547-3563.

SMITH MBK, LAMB ML, TIRADO-RIVES J, JORGENSEN WL, MICHEJDA CJ, RUBY SK, SMITH RH. Monte Carlo calculations on HIV-1 reverse transcriptase complexed with the non-nucleoside inhibitor 8-Cl TIBO: contribution of the L100I and Y181C variants to protein stability and biological activity. Protein Engineering. 2000, 13: 413-421.

UDIÉR-BLAGOVIĆ M, TIRADO-RIVES J, JORGENSEN WL. Validation of a Model for the Complex of HIV-1 Reverse Transcriptase with Nonnucleoside Inhibitor TMC125. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125: 6016-6017.

UNAIDS (Report on the Global AIDS Epidemic). 2010. [online]. Disponível na URL: <http://www.unaids.org/globalreport/default.htm> [Acessado em 04 de junho de 2011].

Web lab viewer Lite Disponível na URL: http://www.marcsaric.de/index.php/WebLab_Viewer_Lite.

YADAV A, SINGH SK. Common binding mode for structurally and chemically diverse NNRTIs. J. Mol. Struct: THEOCHEM 2005, 723: 205-209.