

Artigo

O Efavirenz: Relação Estrutura-Atividade e Métodos de Síntese

Costa, C. C. P.; Boechat, N.; da Silva, F. C.; Rosario, S. L.; Bezerra, T. C.; Bastos, M. M.*

Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (4), 1347-1370. Data de publicação na Web: 15 de março de 2015

<http://www.uff.br/rvq>

The Efavirenz: Structure-Activity Relationship and Synthesis Methods

Abstract: Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) is a disease caused by HIV and it affects all continents. Since 1987 an antiretroviral therapy has been used and it increases survival rates and improves patient's quality of life. Efavirenz (EFV) is a widely used drug to treat HIV-AIDS. It belongs to the class of non-nucleoside inhibitors of reverse transcriptase (NNRTI) and blocks the action of the enzyme and the virus multiplication. Although it presents excellent results in reducing viral load, in recent years, resistance cases associated with adverse effects encouraged many research groups to investigate the structure-activity relationship of this drug's novel analogues. Therefore, the current study aims to compare the EFV activity with those of its analogs using medicinal chemistry concepts as well as to show the main synthetic routes in their production.

Keywords: AIDS; efavirenz; structure-activity relationship; HIV; NNRTIs.

Resumo

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é uma doença causada pelo HIV, que atinge todos os continentes. Em 1987, deu-se início a terapia antirretroviral, que aumentou a sobrevida e melhorou a qualidade de vida dos pacientes. O efavirenz (EFV) é um fármaco amplamente utilizado no tratamento dos portadores do HIV-AIDS. Pertencente à classe dos inibidores da transcriptase reversa não-nucleosídicos (ITRNN), ele atua diretamente bloqueando a ação da enzima e a multiplicação do vírus. Apesar do EFV apresentar excelentes resultados na redução de carga viral, nos últimos anos, os casos de resistência e os seus efeitos adversos levaram vários grupos de pesquisa a investigar a relação estrutura-atividade de novos análogos deste fármaco. Portanto, este trabalho teve como objetivo comparar a atividade do EFV com os seus análogos, utilizando conceitos da química medicinal, bem como mostrar as principais rotas sintéticas para a sua obtenção.

Palavras-chave: AIDS; efavirenz; relação estrutura-atividade; HIV; ITRNNs.

* Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos - Fiocruz, Departamento de Síntese de Fármacos Manguinhos, 21041-250, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

✉ mmacedo@far.fiocruz.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20150074](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150074)

O Efavirenz: Relação Estrutura-Atividade e Métodos de Síntese

Carolina C. P. Costa,^{a,b} Núbia Boechat,^a Fernando C. da Silva,^b Sandra L. Rosario,^a Talitha C. Bezerra,^c Mônica M. Bastos^{a,*}

^a Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos - Fiocruz, Departamento de Síntese de Fármacos Manguinhos, CEP 21041-250, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

^b Universidade Federal Fluminense, Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Campus do Valonguinho, CEP 24020-150, Niterói-RJ, Brasil.

^c PROBIN - Abeu - Centro Universitário UNIABEU, Rua Itaiara 301, CEP 26113-400 Belford Roxo-RJ, Brasil.

^d Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos - Fiocruz, Departamento de Síntese de Fármacos Manguinhos, CEP 21041-250, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

* mmacedo@far.fiocruz.br

Recebido em 30 de outubro de 2014. Aceito para publicação em 15 de março de 2015

1. Introdução

2. O Efavirenz

2.1. Relação estrutura-atividade

2.2. Métodos de síntese do EFV

3. Conclusão

1. Introdução

Em 1981, a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA, do inglês "AIDS") foi identificada como uma doença que se inicia através da contaminação do indivíduo pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). O HIV atinge as células causando uma imunossupressão grave, com consequente aumento da incidência de infecções oportunistas.^{1,2}

Em 2013, cerca de 1,5 milhões de pessoas morreram em decorrência da AIDS. Atualmente, em todo o mundo, vivem 35 milhões de pessoas soropositivas e as novas

infecções foram estimadas em 2,1 milhões, o que representa uma redução de 33%, desde 2001. Entre crianças observou-se uma redução de 52%. As mortes relacionadas com o HIV também caíram 30% desde o pico em 2005, devido ao maior acesso ao tratamento antirretroviral (TAR, do inglês "ART").³ Contudo, o número de jovens contaminados triplicou desde 2000. Atualmente, estima-se que 2,1 milhões de jovens vivam com o HIV e as principais causas deste aumento são a falta de informação e o pior acesso ao tratamento quando comparado aos adultos.⁴


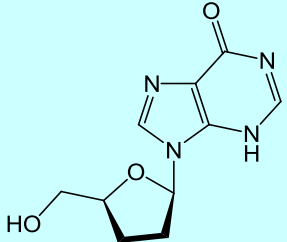
O ciclo do HIV inicia-se na corrente sanguínea, onde ele atinge alguns tipos de células, especialmente os linfócitos T. As

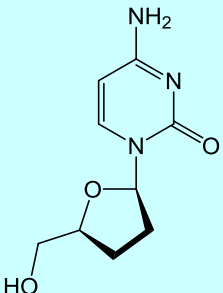
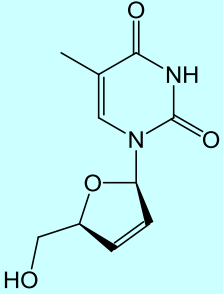
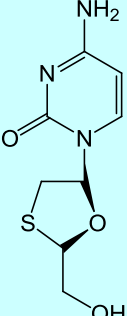
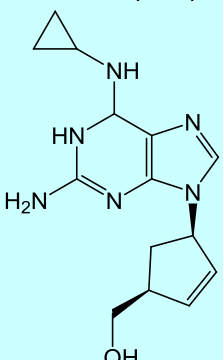
proteínas de envelope prendem-se a dois receptores na superfície destas células. A interação entre eles promove a fusão da membrana do vírus com a célula hospedeira. O material genético do vírus deixa a membrana viral e as proteínas de envelope. Dentro da célula, a proteína central libera ácido ribonucleico (ARN, do inglês "RNA") viral e enzimas virais (transcriptase reversa, integrase e proteases) para o citoplasma. Em seguida, ocorre a transcrição do RNA em ácido desoxirribonucleico (ADN, do inglês "DNA"), com uma posterior ligação entre o código genético do HIV com o DNA da célula hospedeira. Após entrar no núcleo da célula hospedeira, ocorre a integração entre o DNA viral e o DNA humano. A etapa posterior consiste na síntese do mensageiro viral de RNA, que abandona o núcleo e entra no citoplasma, com o objetivo de produzir proteínas virais. Estas irão unir-se ao RNA viral na membrana da célula para se desenvolver. Os vírus imaturos são liberados da célula e entram na corrente sanguínea,

podendo infectar outras células.⁵

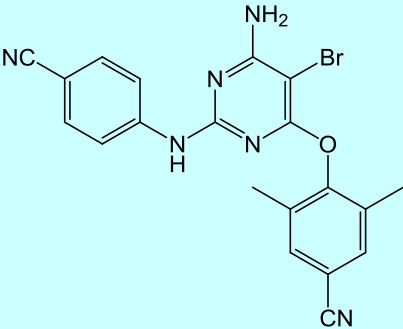
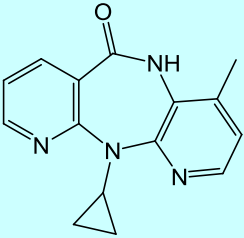
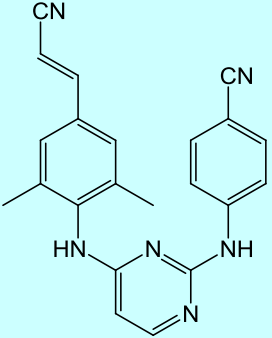
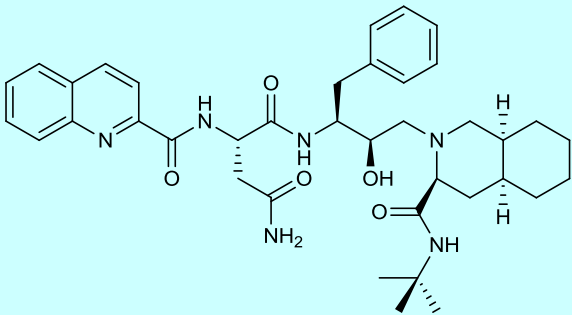
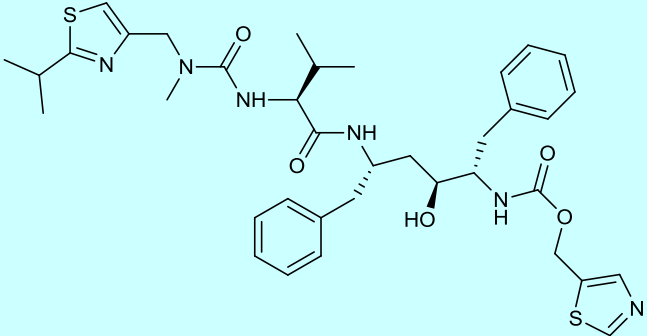
O TAR teve início em 1987 com a aprovação da zidovudina (AZT) pela vigilância sanitária americana (FDA – "Food and Drug Administration"). Desde então, outros fármacos foram liberados para uso e classificados de acordo com o tipo de enzima que eles podem inibir durante a replicação do vírus.⁶ Os clássicos são os inibidores da transcriptase reversa (ITR) nucleosídeo-nucleotídeo (ITRNs), inibidores da transcriptase reversa não-nucleosídeos (ITRNNs) e inibidores de protease (IP) (Tabela 1). Como ainda não se encontrou a cura para a AIDS e, na tentativa de se obter fármacos mais potentes, com melhores perfis farmacocinéticos e menores efeitos colaterais, ocorreu a descoberta de novos inibidores, capazes de bloquear diferentes estágios da replicação viral. Alguns exemplos são os inibidores de fusão (IsF), inibidores de integrase (II) e inibidores de entrada⁶ (Tabela 1).

Tabela 1. Fármacos aprovados pelo FDA para o tratamento da AIDS

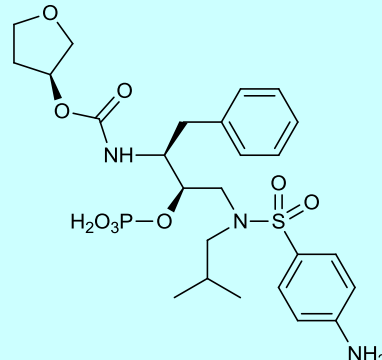
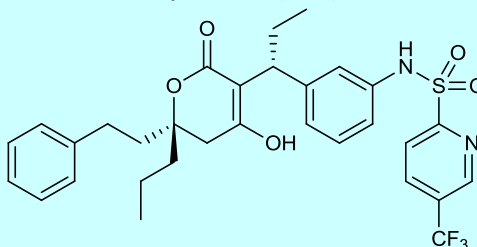
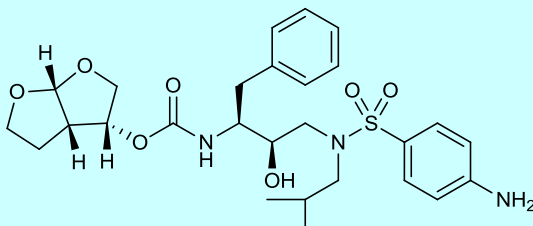
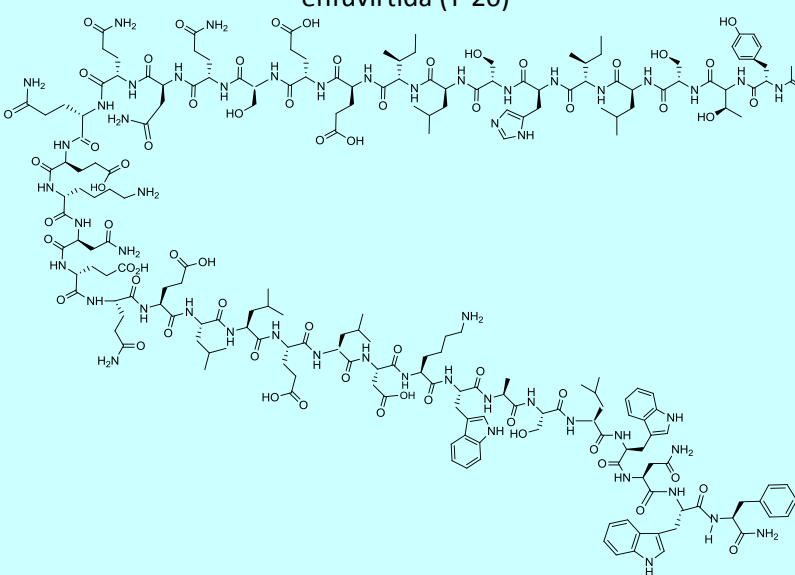
Data de aprovação pelo FDA	Nome genérico e estrutura química	Empresa
Inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídeo-Nucleotídeo (ITRNs)		
1987	zidovudina (AZT) 	GlaxoSmithKline
1991	didanosina (ddl) 	Bristol-Myers Squibb

1992	<p>zalcitabina (ddC)</p>  <chem>NC1=CN(C(=O)N1C2OC(CO)C2)C=C</chem>	Hoffmann-La Roche Pharmaceuticals
1994	<p>estavudina (d4T)</p>  <chem>CC1=C(C(=O)NC1=O)N2C(CO)COC2</chem>	Bristol-Myers Squibb
1995	<p>lamivudina (3TC)</p>  <chem>NC1=NC(=O)N(C1C2SC(CO)OC2)C=C</chem>	GlaxoSmithKline
1998	<p>abacavir (ABC)</p>  <chem>NC1=NC2=C(N1)N=CN2C3C(CO)COC3NC4CC4</chem>	GlaxoSmithKline

2001	<p>tenofovir desopoxila (TDF)</p> <p>The structure shows a central phosphorus atom bonded to a 2-amino-6-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-yl group, a methyl group, and two diisopropylamido groups. The phosphorus is also bonded to a 2-hydroxypropyl group.</p>	Gilead Sciences
2003	<p>emtricitabina (FTC)</p> <p>The structure features a 2-amino-6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5(1H)-one ring system attached to a 2-hydroxypropyl group via a sulfur atom in a five-membered ring.</p>	Gilead Sciences
Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Nucleosídeos (ITRNNs)		
1996	<p>nevirapina (NVP)</p> <p>The structure consists of a central nitrogen atom bonded to a pyridine ring, a 2-methyl-5-pyridyl group, and a cyclopropyl group. The nitrogen is also bonded to a carbonyl group.</p>	Boehringer Ingelheim
1997	<p>delavirdina (DLV)</p> <p>The structure features a central benzimidazole ring system. One nitrogen is bonded to a 2-isopropyl-5-pyridyl group, and the other is bonded to a piperazine ring. The benzimidazole also has a sulfonamide group and a carbonyl group.</p>	Pfizer
1998	<p>efavirenz (EFV)</p> <p>The structure shows a benzimidazole ring system with a chlorine atom at the 6-position, a trifluoromethyl group at the 2-position, and a cyclopropyl group at the 4-position. The benzimidazole also has a carbonyl group.</p>	Bristol-Myers Squibb

2008	<p style="text-align: center;">etravirina (ETR)</p> 	Tibotec Therapeutics
2011	<p style="text-align: center;">nevirapina (NVP) liberação prolongada*</p> 	Boehringer Ingelheim
2011	<p style="text-align: center;">rilpivirina (RPV)</p> 	Tibotec Therapeutics
Inibidores de Protease (IP)		
1995	<p style="text-align: center;">saquinavir (SQV)</p> 	Roche Pharmaceuticals
1996	<p style="text-align: center;">ritonavir (RTV)</p> 	Abbott Laboratories

1996	<p style="text-align: center;">indinavir (IDV)</p> <p>The chemical structure of indinavir (IDV) features a central piperazine ring. One nitrogen of the piperazine is substituted with a 2-pyridylmethyl group. The other nitrogen is substituted with a 2-tert-butylaminoethyl group. The piperazine ring is further substituted with a 1-hydroxypropyl group and a 2-phenylpropyl group. The 2-phenylpropyl group is linked to a 2-hydroxy-1-phenylethyl group, which is in turn linked to a 2-hydroxy-1-(1,2,3,4-tetrahydro-1H-indol-5-yl)ethanone moiety.</p>	Merck
1997	<p style="text-align: center;">nelfinavir (NFV)</p> <p>The chemical structure of nelfinavir (NFV) consists of a piperidine ring fused to a cyclohexane ring. The piperidine nitrogen is substituted with a 2-hydroxypropyl group and a 2-tert-butylaminoethyl group. The cyclohexane ring is substituted with a 2-hydroxypropyl group and a 2-phenylpropyl group. The 2-phenylpropyl group is linked to a 2-hydroxy-1-phenylethyl group, which is in turn linked to a 2-hydroxy-1-(1,2,3,4-tetrahydro-1H-indol-5-yl)ethanone moiety.</p>	Agouron Pharmaceuticals
1999	<p style="text-align: center;">amprenavir (APV)</p> <p>The chemical structure of amprenavir (APV) features a central piperazine ring. One nitrogen of the piperazine is substituted with a 2-phenylpropyl group. The other nitrogen is substituted with a 2-tert-butylaminoethyl group. The piperazine ring is further substituted with a 2-hydroxypropyl group and a 2-phenylpropyl group. The 2-phenylpropyl group is linked to a 2-hydroxy-1-phenylethyl group, which is in turn linked to a 2-hydroxy-1-(1,2,3,4-tetrahydro-1H-indol-5-yl)ethanone moiety.</p>	GlaxoSmithKline
2000	<p style="text-align: center;">Lopinavir</p> <p>The chemical structure of Lopinavir features a central piperazine ring. One nitrogen of the piperazine is substituted with a 2-phenylpropyl group. The other nitrogen is substituted with a 2-tert-butylaminoethyl group. The piperazine ring is further substituted with a 2-hydroxypropyl group and a 2-phenylpropyl group. The 2-phenylpropyl group is linked to a 2-hydroxy-1-phenylethyl group, which is in turn linked to a 2-hydroxy-1-(1,2,3,4-tetrahydro-1H-indol-5-yl)ethanone moiety.</p>	Abbott Laboratories
2003	<p style="text-align: center;">atazanavir (ATV)</p> <p>The chemical structure of atazanavir (ATV) features a central piperazine ring. One nitrogen of the piperazine is substituted with a 2-phenylpropyl group. The other nitrogen is substituted with a 2-tert-butylaminoethyl group. The piperazine ring is further substituted with a 2-hydroxypropyl group and a 2-phenylpropyl group. The 2-phenylpropyl group is linked to a 2-hydroxy-1-phenylethyl group, which is in turn linked to a 2-hydroxy-1-(1,2,3,4-tetrahydro-1H-indol-5-yl)ethanone moiety.</p>	Bristol-Myers Squibb

2003	<p style="text-align: center;">fosamprenavir (FPV)</p> 	GlaxoSmithKline
2005	<p style="text-align: center;">tipranavir (TPV)</p> 	Boehringer Ingelheim
2006	<p style="text-align: center;">darunavir (DRV)</p> 	Tibotec Therapeutics
Inibidores de Fusão (IF)		
2003	<p style="text-align: center;">enfuvirtida (T-20)</p> 	Hoffmann-La Roche Pharmaceuticals & Trimeris

Inibidores de Integrase (II)		
2007	<p>raltegravir (RAL)</p>	Merck
2013	<p>dolutegravir (DTG)</p>	Viiv Healthcare
2014	<p>elvitegravir (EVG)</p>	Gilead Sciences
Inibidores de Entrada (IE)		
2007	<p>maraviroc (MVC)</p>	Pfizer

*Nos comprimidos de liberação imediata o insumo farmacêutico ativo é liberado imediatamente, enquanto que nos de liberação prolongada este processo é feito lentamente, permitindo que o medicamento seja administrado com menor frequência. A principal diferença entre estes medicamentos encontra-se na formulação dos mesmos.

O aumento na sobrevida e uma melhora na qualidade de vida dos portadores do HIV foi atingido através do TAR. No entanto, a prática da “monoterapia funcional”, que consiste na administração de apenas um medicamento, resultou no aparecimento de resistências. Desde então, recomenda-se o

emprego de combinações de inibidores de diferentes classes, visando bloquear a replicação do vírus em mais de um estágio do ciclo viral. As associações podem ser feitas através do uso de coquetéis (diferentes medicamentos ingeridos simultaneamente) ou de formulações em dose fixa combinada

(DFC). As DFC melhoram a adesão do paciente ao tratamento e trazem vantagens financeiras para as indústrias farmacêuticas, o que levou ao desenvolvimento e aprovação pelo FDA⁶ de algumas novas formulações, descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Associações em DFC aprovadas pelo FDA para o tratamento da AIDS

Data de aprovação pelo FDA	Nome e Composição	Empresa
1997	Combivir®: lamivudina e zidovudina	GlaxoSmithKline
2000	Trizivir®: abacavir, zidovudina lamivudina	GlaxoSmithKline
2000	Kaletra®: lopinavir e ritonavir	Abbott Laboratories
2004	Epzicom®: abacavir e lamivudina	GlaxoSmithKline
2004	Truvada®: tenofovir e emtricitabina	Gilead Sciences
2006	Atripla®: efavirenz, emtricitabina e tenofovir	Bristol-Myers Squibb e Gilead Sciences
2011	Eviplera®: emtricitabina, rilpivirina e tenofovir	Gilead Sciences
2012	Stribild®: elvitegravir, cobicistat, emtricitabina e tenofovir	Gilead Sciences
2014	Triumeq®: abacavir, dolutegravir e lamivudina	ViiV Healthcare

A transcriptase reversa (TR) é muito importante no ciclo do HIV, atuando na recodificação do material genético do vírus, convertendo-o de RNA para DNA. As principais classes de medicamentos que bloqueiam a ação viral neste estágio são os ITRNs e os ITRNNs.⁷ Os nucleosídeos, por ação enzimática, sofrem trifosforilação, transformando-se em metabólitos, que são os reais inibidores da TR. Como os nucleotídeos apresentam em sua estrutura um grupo fosfato, eles necessitam apenas de duas fosforilações para impedir a transcrição do RNA em DNA.⁸

Os ITRNNs são inibidores não competitivos, que se ligam a um sítio alostérico da enzima, provocando a restrição da mobilidade e flexibilidade do sítio ativo responsável pela formação da dupla hélice de DNA e, então levando a uma drástica redução na eficiência da enzima.⁹

2. O Efavirenz

O EFV é um ITRNN que apresenta atividade contra uma variedade de cepas mutantes do HIV-1.^{10,11} Sua estrutura envolve a presença de um núcleo benzoxazinona, contendo os grupamentos trifluorometila e ciclopropilacetinila ligados ao carbono C-4 da molécula (Tabela 1).

Este fármaco é o terceiro mais utilizado no TAR, devido às suas propriedades farmacológicas e alta potência *in vivo*. Os estudos clínicos mostraram que regimes terapêuticos contendo EFV alcançaram as melhores taxas de supressão viral,¹² com excelentes resultados em pacientes ainda não tratados com o TAR.^{13,14} Até o final de 2013, todas as recomendações emitidas por agências nacionais e internacionais indicavam a preferência por TAR contendo o EFV.¹⁵

O EFV foi patenteado pela Bristol-Myers e teve a sua licença expirada em 2012.

Entretanto, desde maio de 2007, o governo brasileiro decretou a licença compulsória, permitindo a produção local do fármaco e do medicamento.

Apesar de sua potência e eficácia, o EFV tem limitações importantes. Uma delas é o risco de ocorrer defeitos congênitos do tubo neural do feto, quando administrado no primeiro trimestre da gravidez. Isto fez com que o uso deste fármaco seja limitado em mulheres em idade fértil.¹⁶ A segunda limitação diz respeito aos efeitos no Sistema Nervoso Central (SNC), incluindo tonturas, dores de cabeça, depressão e efeitos secundários psiquiátricos, os quais desaparecem espontaneamente, após alguns dias ou semanas de tratamento.^{17,18}

Já existem relatos sobre o aumento de casos de resistência ao EFV, devido à ocorrência de mutações na TR. Assim, os órgãos de controle (Departamento de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) do Brasil/AIDS, Sociedade Clínica Europeia de AIDS – EACS, Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos – NIH) recomendam que pacientes sejam submetidos à testes de resistência genotípica do HIV antes de iniciar o TAR. Contudo, esta prática nem sempre é possível em países de baixa renda, onde os recursos financeiros são limitados.¹⁸

A infecção pelo HIV causa um desequilíbrio no sistema imunológico de pacientes soropositivos, quando não tratados, permitindo o desenvolvimento de uma série de doenças oportunistas. As mais frequentes são a tuberculose (TB) e as hepatites.¹⁹ Desta forma, são necessárias estratégias terapêuticas para evitar interações medicamentosas entre o EFV e os outros diferentes tratamentos.

A OMS estima que portadores do HIV apresentam riscos 20 vezes maiores de desenvolver a TB. Esta ainda é a principal causa de morte de pacientes soropositivos.²⁰ O uso concomitante do EFV com a

rifampicina diminui a concentração de EFV no plasma, sendo necessário aumentar as doses deste fármaco em pacientes coinfectados. Contudo, estudos mais aprofundados são necessários para descrever como esta interação ocorre e estabelecer a dose adequada para esta terapia combinada.^{21,22}

As hepatites B e C são provocadas pelos vírus da hepatite B (VHB, do inglês “HBV”) e C (VHC, do inglês “HCV”), respectivamente. A terapia empregada para tratar estas viroses envolve o uso de antivirais. O boceprevir (BOC) e o telaprevir (TVR), empregados no tratamento da hepatite C, pertencem à classe dos IP,²³ e podem ser administrados concomitantemente com o EFV sem riscos ao paciente, sendo apenas necessário realizar o ajuste das doses.²³

Diante de todos estes fatos pode-se considerar o EFV como um bom protótipo para a busca de novos análogos, que previnam os seus efeitos indesejados. Para isto, torna-se essencial o estudo da relação estrutura- atividade (SAR) deste fármaco.

2.1. Relação estrutura-atividade

A maior parte das interações do EFV com a TR do HIV envolve contatos hidrofóbicos. Por exemplo, o grupo ciclopropilacetinila está posicionado no topo da sub-bolsa, rodeado pelas cadeias laterais aromáticas de Tyr181, Tyr188 e Trp229. O anel benzoxazin-2-ona está posicionado entre as cadeias laterais de Leu100 e Val106, fazendo contatos marginais com Tyr318 e Val179¹⁰ (Figura 1). Um contato não hidrofóbico relevante é formado entre o grupamento NH do núcleo benzoxazin-2-ona e o átomo de oxigênio da carbonila da cadeia principal de Lys101. Além disso, há uma interação entre o átomo de oxigênio da carbonila da cadeia principal de Lys103 e o átomo de nitrogênio do anel benzoxazin-2-ona do EFV (Figura 1).²⁴

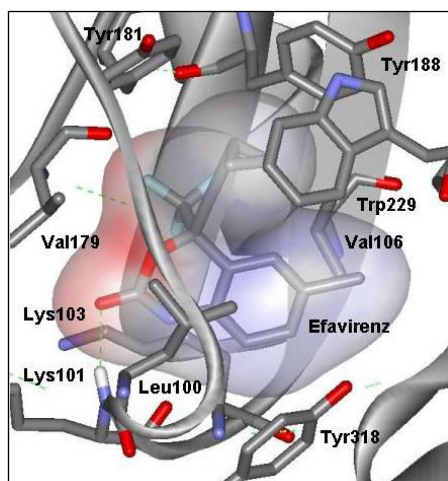


Figura 1. Principais interações do EFV com a TR do HIV.²⁵ **Legenda:** Tyr – tirosina; Val – valina; Lys – lisina; Leu – leucina; Trp – triptofano

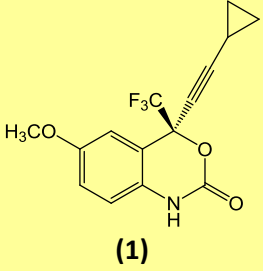
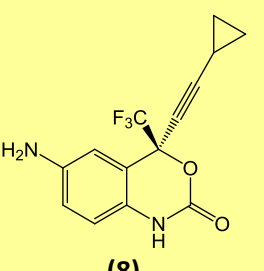
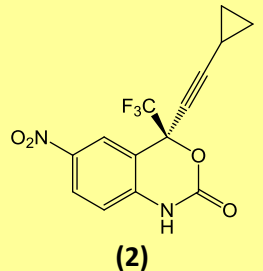
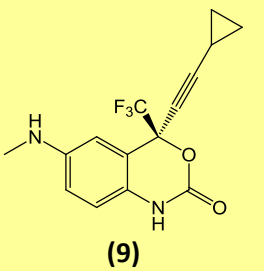
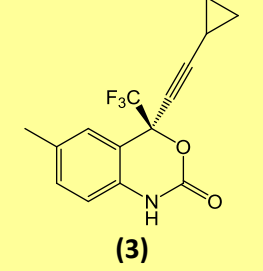
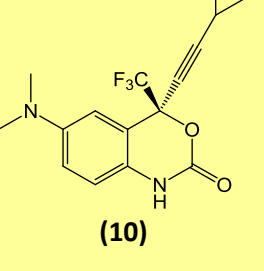
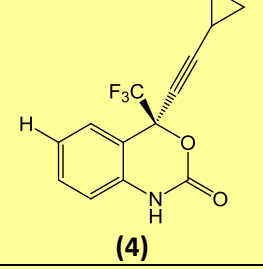
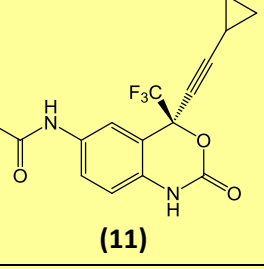
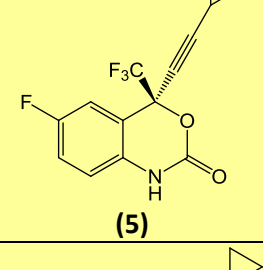
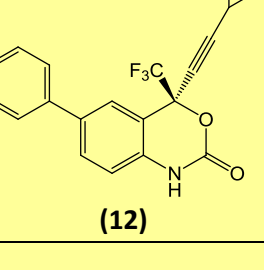
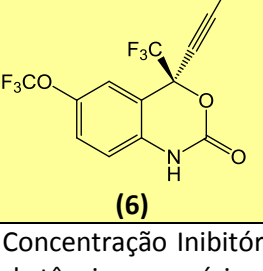
Em 1999, Patel e colaboradores^{26,27} realizaram alterações na estrutura do EFV com objetivo de verificar os efeitos de diferentes substituintes no anel aromático como apresentado na Tabela 3. Os resultados mostraram que:

O átomo de cloro em C-6 pode ser substituído sem perda de atividade significativa pelo grupo metoxi (**1**), e a substituição pelo grupo nitro (**2**) aumenta em duas vezes a atividade biológica em relação ao EFV. Contudo, quando foi substituído por outros grupos, tais como metila (**3**), hidrogênio (**4**), flúor (**5**) e trifluorometoxila (**6**) houve reduções na atividade anti-HIV.^{26,27}

A inclusão de flúor em C-5 (**7**) reduziu a atividade em duas vezes e meia. A redução do grupo nitro em C-6 levou à formação do composto **8** com baixa atividade biológica. A alquilação do grupo 6-amino gerou **9** e **10**, o que proporcionou melhora da atividade em relação ao derivado não alquilado **8**; contudo, a acetilação levou a perda da atividade no derivado **11**.²⁶ A inclusão do grupo fenila em C-6 (**12**) também causou perda da atividade antiviral. Todos estes dados indicam que os substituintes no anel aromático devem ser considerados num planejamento racional de novos análogos ou derivados deste fármaco.

Tabela 3. Avaliação biológica de análogos do EFV com diferentes substituições no anel aromático

Compostos	Concentração Inibitória (nM) – IC ₉₀ *	Compostos	Concentração Inibitória (nM) – IC ₉₀ *
<p>EFV</p>	1,70	<p>(7)</p>	4,35

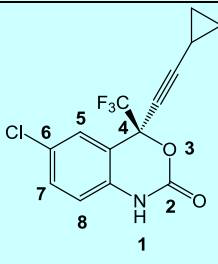
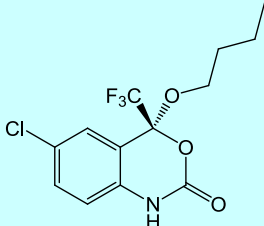
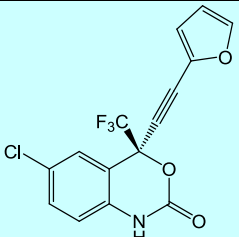
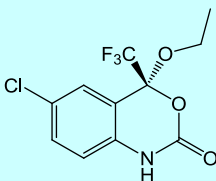
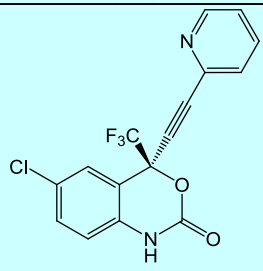
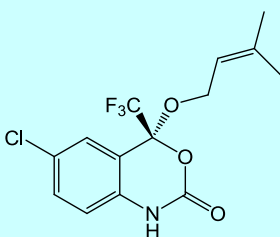
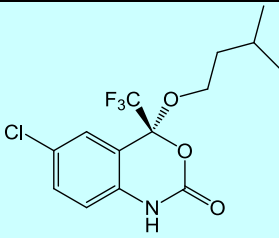
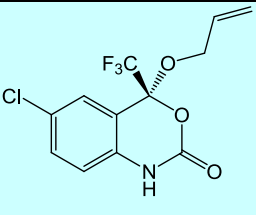
 <p>(1)</p>	2,00	 <p>(8)</p>	20,59
 <p>(2)</p>	0,83	 <p>(9)</p>	9,02
 <p>(3)</p>	7,11	 <p>(10)</p>	8,33
 <p>(4)</p>	10,31	 <p>(11)</p>	295,60
 <p>(5)</p>	7,35	 <p>(12)</p>	249,09
 <p>(6)</p>	18,89		

*Concentração Inibitória (CI, do inglês "Inhibitory Concentration", IC); IC₉₀ – concentração da substância necessária para inibir o crescimento viral em 90%.

Na tentativa de desenvolver um fármaco mais eficaz, duas séries de derivados de EFV foram sintetizadas: uma em que o grupo ciclopropilacetinila foi substituído por anéis heterocíclicos pequenos, e outro em que o acetileno foi substituído por grupos alcóxidos. Na primeira série, os derivados **13** e **14** mostraram atividades moderadamente menores que o EFV. Na segunda, as substâncias com cadeia lateral saturada,

contendo de quatro a cinco átomos de carbono em **15** e **16**, foram menos ativas que o EFV, enquanto a inclusão de cadeia lateral com dois carbonos em **17** resultou em uma significativa diminuição da potência. Cadeias insaturadas em **18** e **19** levaram a compostos mais ativos que os compostos saturados **16** e **17**,^{5,28} contudo menos potente que o EFV (Tabela 4).

Tabela 4. Avaliação biológica de análogos do EFV com diferentes substituições no grupo ciclopropilacetinila

Compostos	Concentração Inibitória (nM) – IC ₉₀	Compostos	Concentração Inibitória (nM) – IC ₉₀
 <p>EFV</p>	1,70	 <p>(16)</p>	10,19
 <p>(13)</p>	3,80	 <p>(17)</p>	18,26
 <p>(14)</p>	5,39	 <p>(18)</p>	2,68
 <p>(15)</p>	10,07	 <p>(19)</p>	3,90

A substituição do anel benzoxazin-2-ona por quinazolin-2-ona manteve a atividade biológica nos compostos **20** e **21**, embora moderadamente mais baixos que o EFV.²⁹

Este fato foi atribuído à possibilidade de interação entre o átomo de hidrogênio ligado ao nitrogênio (N-3) da quinazolin-2-ona e a Tyr181 (Figura 2).³⁰

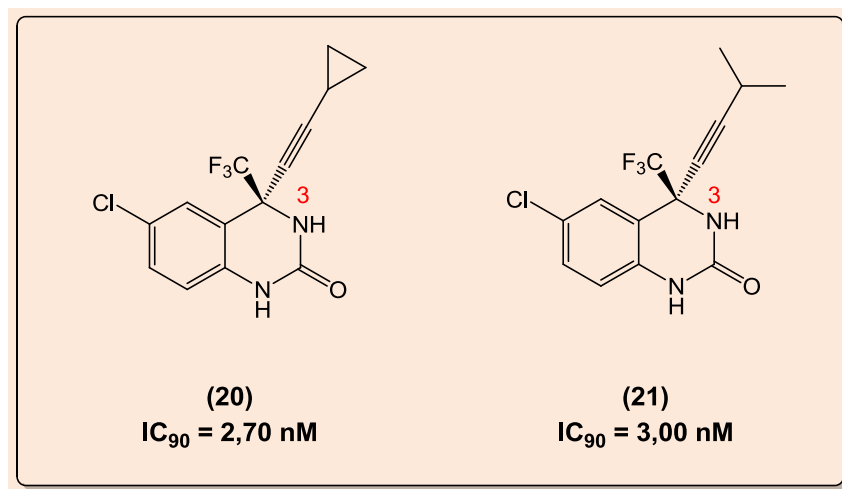


Figura 2. Análogos quinazolin-2-ona do EFV²⁹

Em 2008, Purser e colaboradores descreveram que a presença do grupo trifluorometila (CF_3) é essencial para o EFV e seus derivados, visto que melhora a potência do fármaco, através da redução do pKa do carbamato cíclico, e este interage através de ligação de hidrogênio com a enzima.³¹ A alteração de pKa pode modificar a afinidade de ligação e as propriedades farmacocinéticas de uma substância. Além disso, pode ter impacto direto sobre a biodisponibilidade no processo de absorção. Ao contrário dos fármacos administrados por via intravenosa, a biodisponibilidade dos fármacos administrados por via oral pode ser reduzida pela má absorção. O flúor é o elemento mais eletronegativo e a sua inclusão numa molécula tem um efeito muito forte na acidez ou basicidade dos grupos funcionais vicinais.³¹

Dados da literatura mostram que o grupo N-H da benzoxazin-2-ona no EFV é importante para a atividade biológica.²⁴ Contudo, o nosso grupo de pesquisa desenvolveu duas séries de análogos, nos quais o anel benzoxazin-2-ona foi substituído por indolin-2-ona, contendo substituinte alquila em N-1. Na primeira série, **22a-l**, o

carbono quaternário C-3 foi substituído por hidroxila e grupo trifluorometila, enquanto na segunda, o C-3 foi substituído por hidroxila e grupo ciclopropilacetinila **23a-h** (Figura 3).³² Para o planejamento destes análogos usou-se a técnica de modelagem molecular através da análise comparativa dos valores de “Total Score”, nas configurações *R* e *S*, utilizando os métodos de docking Flex e DrugScore.* Todas as substâncias que apresentaram similaridade com o EFV, em termos de afinidade com a enzima, foram sintetizadas e testadas na forma de racemato, e a maioria realizou interações por ligação de hidrogênio no sítio alostérico da

* “Total Score” – refere-se ao cálculo que o programa FlexX realiza para calcular a energia de ligação de cada ligante; “docking Flex – consiste na amostragem de espaço de coordenadas do sítio de ligação e pontuação de cada posicionamento possível do ligante, que é tomado como modo de ligação previsto para cada composto;³³ “DrugScore” – É a função de cálculo utilizada pelo programa para o cálculo de docking.³⁴

HIV-TR.

Após as avaliações biológicas realizadas *in vitro*, utilizando o EFV como padrão, da série **22a-l**, foi possível verificar que os resultados foram compatíveis com a atividade prevista na modelagem molecular. As moléculas mais ativas foram as que continham o substituinte metila **22h** ou acetila **22k** ligados ao átomo de nitrogênio do anel indolin-2-ona. Este resultado é contrário ao que ocorre com o EFV, e isto pode ser explicado através das

diferentes interações que estas moléculas fazem com a TR.³² Os compostos *N*-substituídos por grupos metilas realizaram uma série de interações hidrofóbicas que compensaram a perda de ligação de hidrogênio. Com relação às substâncias *N*-substituídas por grupos acetilas, elas atuam como aceptores de ligações de hidrogênio, e este tipo de interação polar é de extrema importância para fixar a conformação do ligante.

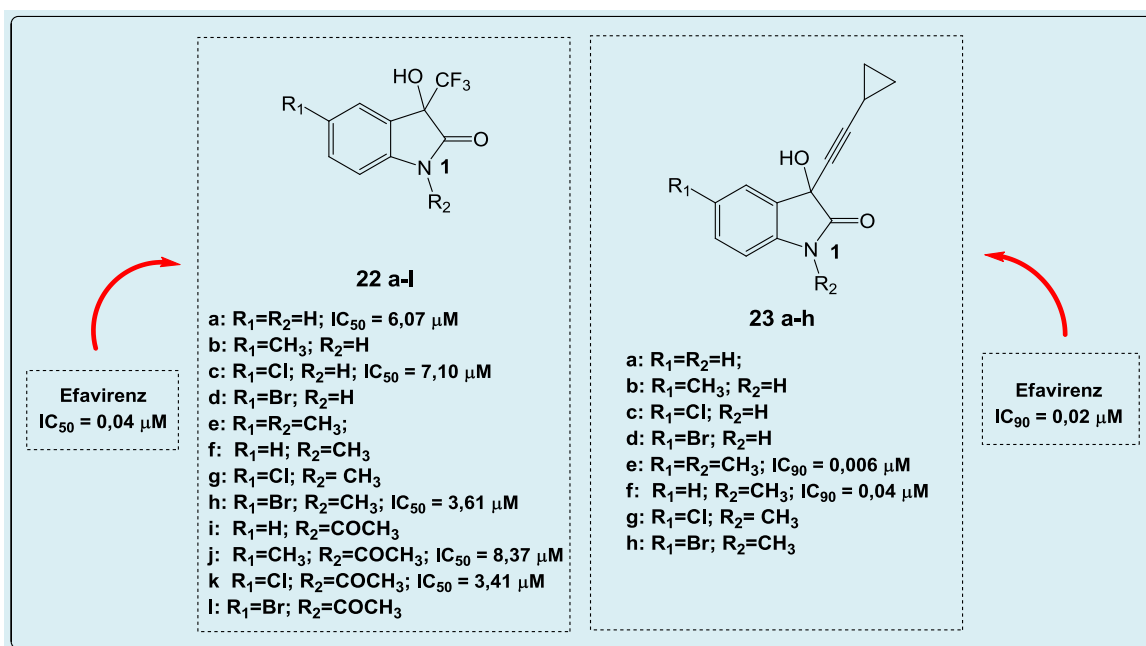


Figura 3. Análogos indolin-2-ona do EFV.³² Os valores de IC₅₀ e IC₉₀ são resultados dos testes *in vitro* para as substâncias que apresentaram os melhores resultados nos estudos teóricos

Buscando um aperfeiçoamento no encaixe das moléculas no sítio alostérico da TR e assumindo que o anel benzoxazin-2-ona pode ser substituído com êxito pelo anel indolin-2-ona, a série **23a-h** foi planejada e sintetizada.³² O análogo **23e** foi 3,3 mais ativo do que o EFV. Estudos de modelagem molecular de **23e** mostraram que os grupos metila na posição 5 e ligado ao átomo de nitrogênio do núcleo indolin-2-ona realizam

interações de van der Waals com Leu234 e Leu100, respectivamente. Estas interações são importantes para um bom encaixe no sítio alostérico da proteína e também para compensar a ausência de uma ligação de hidrogênio do grupo N-H do EFV com a Lys101. É importante mencionar que não foi observada nenhuma ligação adicional de hidrogênio com o grupo OH (Figura 4).³²

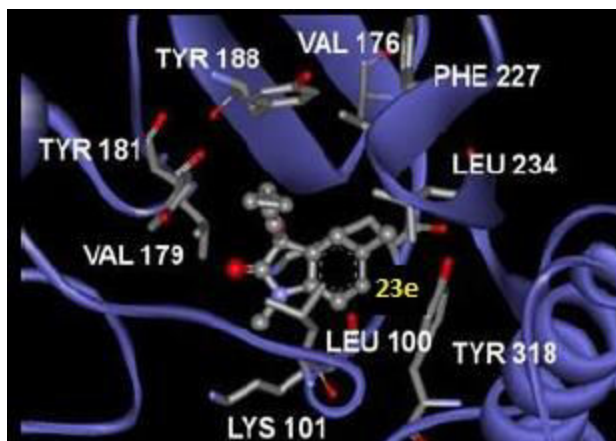


Figura 4. Principais interações de **23e** com a TR. Adaptada da referência 32

Nos últimos anos, a síntese de moléculas híbridas vêm sendo uma estratégia importante para a descoberta de novos fármacos. Os híbridos podem ser obtidos através da junção de substâncias com atividades farmacológicas e toxicidade estabelecidas e, muito frequentemente, os sistemas resultantes possuem características bioquímicas melhoradas, relativamente aos seus compostos de origem.³⁵⁻³⁸ A literatura mostra que esta abordagem também é

empregada para a obtenção de novos compostos anti-HIV. Griffin e colaboradores sintetizaram uma série de multiligantes, contendo o EFV ligado à emtricitabina (FTC) ou lamivudina (3TC), que apresentaram maior potência e melhor biodisponibilidade, com menores efeitos adversos, quando comparados aos inibidores protótipos (Figura 5). Porém, os dados de atividade não foram apresentados nas patentes.^{39,40}

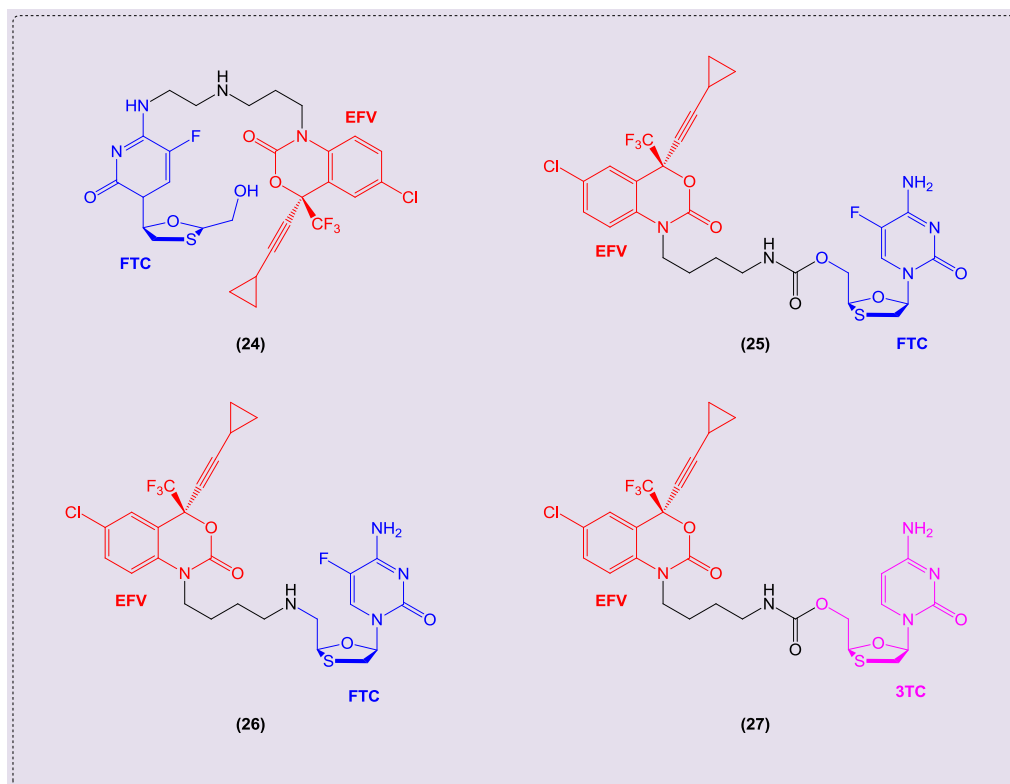


Figura 5. Compostos multiligantes derivados do EFV

2.2. Métodos de síntese do EFV

Devido à importância clínica do EFV, uma série de metodologias para a sua obtenção estão descritas.⁴¹⁻⁶² As rotas sintéticas disponíveis têm como principal obstáculo a etapa enantiosseletiva para a formação do carbono estereogênico, visto que o insumo farmacêutico ativo (IFA) deverá ser obtido enantiomericamente puro e com bom rendimento global. Outro agravante é a obtenção de vários polimorfos, durante o processo de cristalização ou purificação deste IFA, que dificultam a posterior formulação do medicamento.

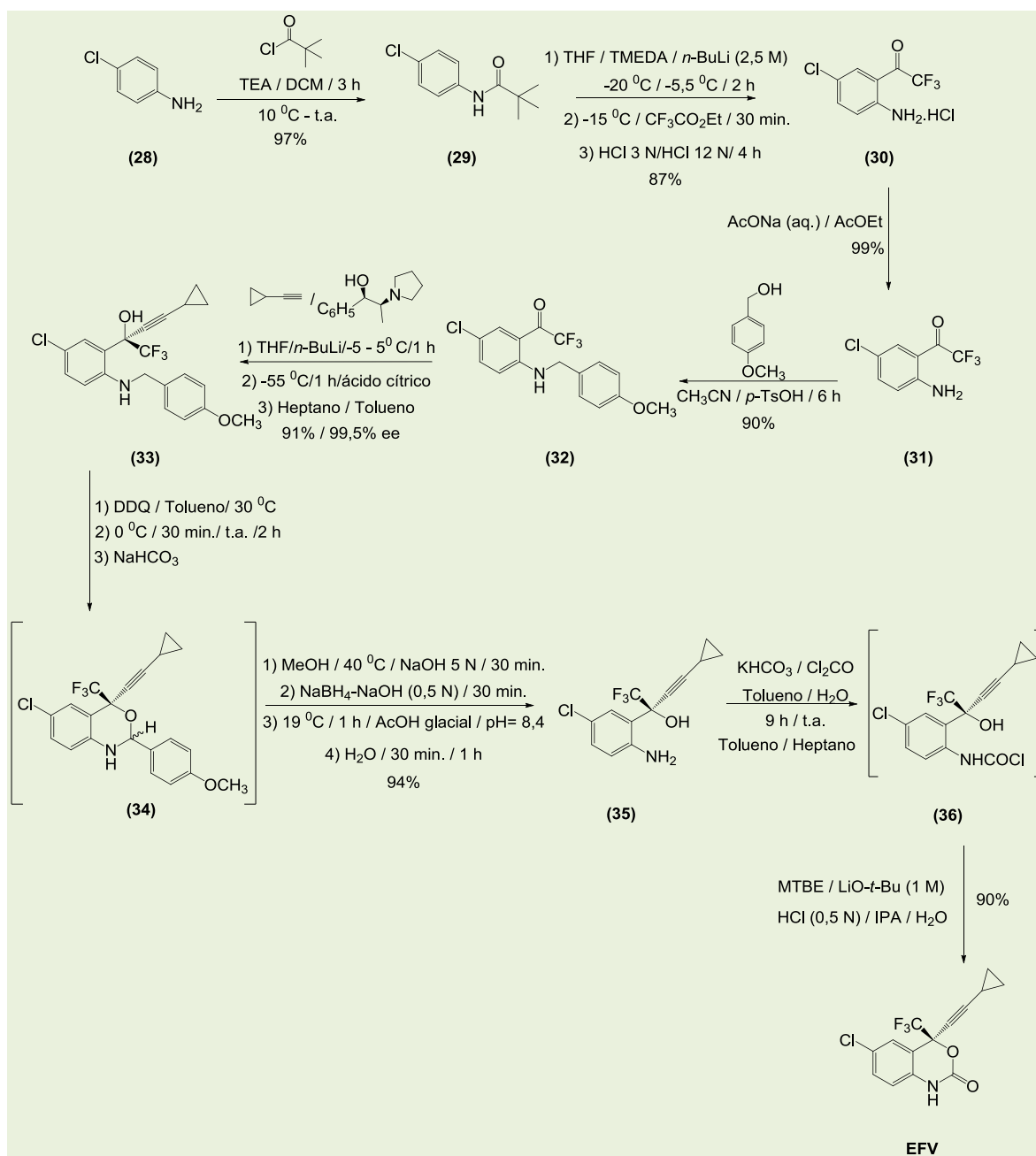
A metodologia original para a obtenção do EFV foi descrita por Young e colaboradores^{60,61} e consiste em uma síntese assimétrica via organolítio, com nove etapas de reação que levam à formação do produto com bom rendimento (Esquema 1). Um dos grandes problemas deste processo é a baixa disponibilidade comercial e o custo da (1*S*,2*R*)-*N*-pirrolidinilnorefedrina, utilizada como indutor quiral na quinta etapa da reação.⁶¹

Em outro trabalho, Chen e colaboradores⁶² utilizaram organozinco em substituição ao uso de organolítio (Esquema 2). Esta metodologia apresentou como vantagem a redução do número de etapas de

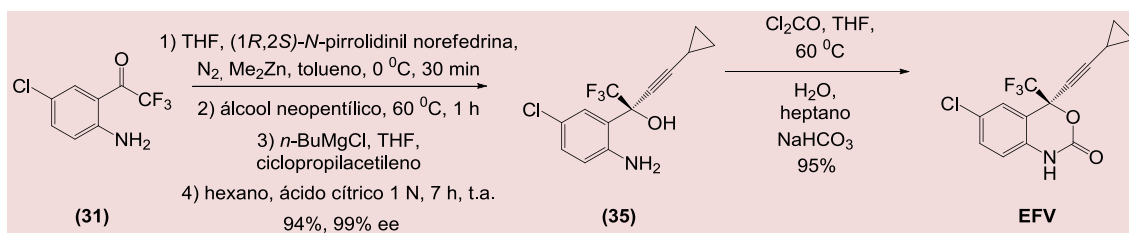
reação, quando comparado à metodologia anterior, descrita por Young e colaboradores, visto que a etapa de proteção da amina não foi realizada. Contudo, uma das principais desvantagens foi o elevado custo do catalisador de zinco e a necessidade de excessivas lavagens com heptano para a retirada do catalisador.

O primeiro exemplo de síntese assimétrica⁴⁶ do EFV, através de uma trifluorometilação enantiosseletiva, foi realizado em 2011, por Shibata e colaboradores. Nesta rota, o grupo trifluorometila foi adicionado à cetona **39**, utilizando o reagente Ruppert-Prakash (trifluorometil trimetilsilano - Me₃SiCF₃) e o catalisador fluoreto de tetrametilamônio (Me₄NF), obtendo-se o fármaco em bom rendimento. Além disso, utilizou-se um brometo de amônio derivado de cinchona para promover a trifluorometilação enantiosseletiva (Esquema 3).

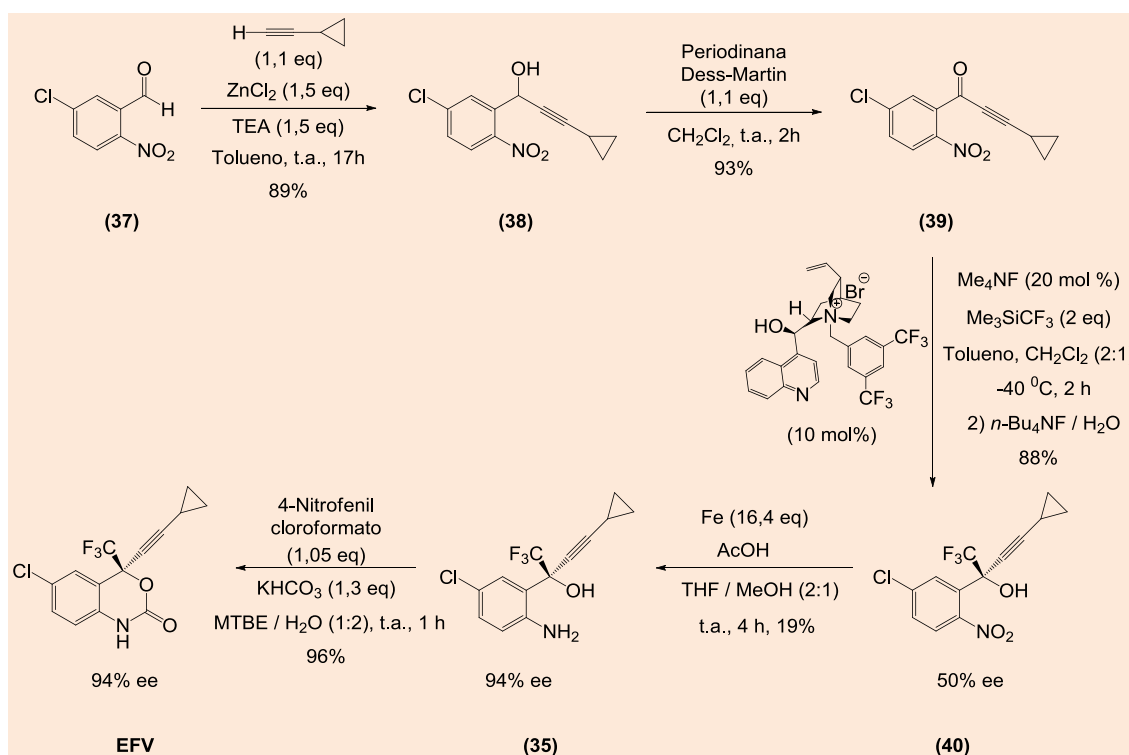
No trabalho de Shibata e colaboradores também pode-se observar um aumento do excesso enantiomérico na quarta etapa de reação. Este pôde ser obtido por meio de um enriquecimento enantiomérico, realizado através de um processo de recristalização utilizando hexano/diclorometano. No entanto, o rendimento do intermediário **35** após esse processo caiu de 77% para 19%.⁴⁶



Esquema 1. Síntese original para obtenção do EFV.^{60,61} **Legenda:** TEA – trietilamina; DCM – diclorometano; THF – tetraidrofurano; TMEDA – tetrametiletileno diamina; *n*-BuLi – *n*-butil-lítio; $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{Et}$ – trifluoroaceto de etila; AcONa- acetato de sódio; AcOEt – acetato de etila; *p*-TsOH – ácido *p*-toluenossulfônico; DDQ – 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona; AcOH – ácido acético; MTBE – metil *terc*-butil éter; LiO-*t*-Bu – *terc*-butoxi de lítio; IPA – álcool isopropílico. Os intermediários **34** e **36** não foram isolados, mas formados *in situ*



Esquema 2. Rota de síntese para a obtenção do EFV via organozinco^{57,61} **Legenda:** Me_2Zn – dimetilzinco; *n*-BuMgCl - *n*-butil cloreto de magnésio



Esquema 3. Rota de síntese para a obtenção do EFV descrita por Shibata e colaboradores.⁴⁶ **Legenda:** Me_4NF – fluoreto de tetrametilamônio; Me_3SiCF_3 – trifluorometil-trimetilsilano; *n*-Bu₄NF – fluoreto de *n*-tetrabutílamônio; Outras variações nos métodos sintéticos para a obtenção de EFV estão descritas em patentes⁴¹⁻⁵⁹

3. Conclusão

O EFV é um ITRNN que apresenta atividade contra uma variedade de cepas mutantes do HIV-1, sendo o terceiro mais utilizado no TAR. Apesar de sua potência e eficácia, o EFV tem limitações importantes para uso em gestantes e por seus efeitos colaterais no SNC. Além disso, já são relatados casos de resistência ao EFV.

O EFV foi patenteado pela Bristol-Myers e teve a sua licença expirada em 2012, permitindo a sua fabricação e comercialização em qualquer país, independente da prerrogativa de licenças compulsórias. Para a fabricação do EFV, são descritas três rotas sintéticas.

Vários estudos contendo análogos ou derivados do EFV foram publicados, mas ainda não existe uma segunda geração do EFV, o que o torna um valioso protótipo para

a busca de novos inibidores da transcriptase reversa.

Referências Bibliográficas

¹ Gallo, R. The early years of HIV/AIDS. *Science* **2002**, *298*, 1728. [CrossRef] [PubMed]

² De Clercq, E. Highlights in the discovery of antiviral drugs: A personal retrospective. *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *53*, 1438. [CrossRef] [PubMed]

³ Organização Mundial de Saúde (OMS). Disponível em: <<http://www.who.int/hiv/data/en/>>. Acesso: 29 janeiro 2014.

⁴ Organização Mundial de Saúde (OMS). Disponível em: <<http://www.who.int/hiv/pub/arv/consultation-on-hiv-treatment-adolescents/en/>>. Acesso em: 29 janeiro 2015.

⁵ Rawal, R. K.; Murugesan, V.; Katti, S. B. Structure-activity relationship studies on clinically relevant HIV-1 NNRTIs. *Current Medicinal Chemistry* **2012**, *19*, 5364. [CrossRef]

⁶ Food and Drug Administration (FDA). Disponível em: <<http://aidsinfo.nih.gov/education-materials/fact-sheets/21/58/fda-approved-hiv-medicines>>. Acesso em: 12 janeiro 2015.

⁷ Schinazi, R. F.; McMillan, A.; Cannon, D.; Mathis, R.; Lloyd, R. M.; Peck, A.; Sommadossi, J. P.; St. Clair, M.; Wilson, J.; Furman, P. A.; Painter, G.; Choi, W. B.; Liotta, D. C. Selective inhibition of human immunodeficiency viruses by racemates and enantiomers of cis-5-fluoro-1-[2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]cytosine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1992**, *36*, 2423. [CrossRef] [PubMed]

⁸ Cunico, W.; Gomes, C. R. B.; Vellasco Junior, W. T. HIV - recentes avanços na pesquisa de fármacos. *Química Nova* **2008**, *31*, 2111. [CrossRef]

⁹ 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. *Biophysical Journal* **2003**, *84*, 3547. [CrossRef]

¹⁰ De Clercq, E. Emerging anti-HIV drugs. *Expert Opinion on Emerging Drugs* **2005**, *10*, 241. [CrossRef] [PubMed]

¹¹ Young, S. D.; Britcher, S. F.; Tran, L. O.; Payne, L. S.; Lumma, W. C.; Lyle, T. A.; Huff, J. R.; Anderson, P. S.; Olsen, D. B. L-743, 726 (DMP-266): a novel, highly potent nonnucleoside inhibitor of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1995**, *39*, 12, 2602. [CrossRef] [PubMed]

¹² Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. Disponível em: <<http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/AdultandAdolescentGL003093.pdf>>. Acesso em: 14 julho 2014.

¹³ Gulick, R. M.; Ribaldo, H. J.; Shikuma, C. M.; Lalama, C.; Schackman, B. R.; Meyer III, W. A.; Acosta, E. P.; Schouten, J.; Squires, K. E.; Pilcher, C. D.; Murphy, R. L.; Koletar, S. L.; Carlson, M.; Reichman, R. C.; Bastow, B.; Klingman, K. L.; Kuritzkes, D. R. Three- vs four-drug antiretroviral regimens for the initial treatment of HIV-1 infection. *The Journal of the American Medical Association* **2006**, *296*, 769. [CrossRef] [PubMed]

¹⁴ Casseti, I.; Madruga, J. V.; Suleiman, J. M. A. H.; Etzel, A.; Zhong, L.; Cheng, A. K.; Enejosa, J. The safety and efficacy of tenofovir DF in combination with lamivudine and efavirenz through 6 Years in antiretroviral-naïve HIV-1 - infected patients. *HIV Clinical Trials* **2007**, *8*, 164. [CrossRef] [PubMed]

¹⁵ Organização Mundial de Saúde (WHO) WHO HIV/AIDS Programme. Guia consolidado do uso de fármacos antirretrovirais para tratamento e prevenção do HIV. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85322/1/WHO_HIV_2013.7_eng.pdf>. Acesso em: 14 julho 2014.

¹⁶ Ford, N.; Calmy, A.; Mofenson, L. Safety of efavirenz in the first trimester of pregnancy: an updated systematic review and meta-

- analysis. *AIDS* **2011**, *25*, 2301. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁷ Nguyen, A.; Calmy, A.; Delhumeau, C.; Mercier, I.; Cavassini, M.; Mello, A. F.; Elzi, L.; Rauch, A.; Bernasconi, E.; Schmid, P.; Hirschel, B. A randomized cross-over study to compare raltegravir and efavirenz (SWITCH-ER study). *AIDS* **2011**, *25*, 1481. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁸ Raffi, F.; Pozniak, A. L.; Wainberg, M. A. Has the time come to abandon efavirenz for first-line antiretroviral therapy? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2014**, *69*, 1742. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁹ Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/coinfeccoes>>. Acesso em: 6 agosto 2014.
- ²⁰ World Health Organization (WHO). Global tuberculosis control: surveillance planning financing. Disponível em: <http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/>. Acesso em: 20 agosto 2014.
- ²¹ Gengiah, T. N.; Holford, N. H. G.; Botha, J. H.; Gray, A. L.; Naidoo, K.; Karim, S. S. A. The influence of tuberculosis treatment on efavirenz clearance in patients co-infected with HIV and tuberculosis. *European Journal of Clinical Pharmacology* **2012**, *68*, 689. [CrossRef] [PubMed]
- ²² Regazzi, M.; Carvalho, A. C.; Villani, P.; Matteelli, A. Treatment optimization in patients co-infected with HIV and mycobacterium tuberculosis infections: Focus on drug-drug interactions with rifamycins. *Clinical Pharmacokinetics* **2014**, *53*, 489. [CrossRef] [PubMed]
- ²³ Munteanu, D. I.; Rockstroh, J. K. New agents for the treatment of hepatitis C in patients co-infected with HIV. *Therapeutic Advances in Infectious Disease* **2013**, *1*, 71. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁴ Ren, J.; Milton, J.; Weaver, K. L.; Short, S. A.; Stuart, D. I.; Stammers, D. K. Structural basis for the resilience of efavirenz (DMP-266) to drug resistance mutations in HIV-1 reverse transcriptase. *Structure* **2000**, *8*, 1089. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁵ Bastos, M. M.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005. [Link]
- ²⁶ Patel, M.; McHugh, R. J.; Cordova, B. C.; Klabe, R. M.; Erickson-Viitanen, S.; Trainor, G. L.; Ko, S. S. Synthesis and evaluation of benzoxazinones as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. Analogs of efavirenz (SUSTIVA) *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **1999**, *9*, 3221. [CrossRef]
- ²⁷ Patel, M.; Ko, S. S.; McHugh, R. J.; Markwalder, J. A.; Srivastava, A. S.; Cordova, B. C.; Klabe, R. M.; Erickson-Viitanen, S.; Trainor, G. L.; Seitz, S. P. Synthesis and evaluation of analogs of efavirenz (SUSTIVA) as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **1999**, *9*, 2805. [CrossRef]
- ²⁸ Cocuzza, A. J.; Chidester, D. R.; Cordova, B. C.; Jeffrey, S.; Parsons, R. L.; Bacheler, L. T.; Erickson-Viitanen, S.; Trainor, G. L.; Ko, S. S. Synthesis and evaluation of efavirenz (Sustiva) analogues as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors: replacement of the cyclopropylacetylene side chain. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2001**, *11*, 1177. [CrossRef]
- ²⁹ Corbett, J. W.; Ko, S. S.; Rodgers, J. D.; Gearhart, L. A.; Magnus, N. A.; Bacheler, L. T.; Diamond, S.; Jeffrey, S.; Klabe, R. M.; Cordova, B. C.; Garber, S.; Logue, K.; Trainor, G. L.; Anderson, P. S.; Erickson-Viitanen, S. K. Inhibition of clinically relevant mutant variants of HIV-1 by quinazolinone non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **2000**, *43*, 2019. [CrossRef]
- ³⁰ Pungpo, P.; Saparpakorn, P.; Wolschann, P.; Hannongbua, S. Computer-aided molecular design of highly potent HIV-1 RT inhibitors: 3D QSAR and molecular docking studies of efavirenz derivatives. *SAR and QSAR in Environmental Research* **2006**, *17*, 353. [CrossRef] [PubMed]
- ³¹ Purser, S.; Moore, P. R.; Swallow, S.; Gouverneur, V. Fluorine in medicinal chemistry. *Chemical Society Reviews* **2008**, *37*, 320. [CrossRef] [PubMed]
- ³² a) Boechat, N.; Kover, W. B.; Bastos, M. M.; Romeiro, N. C.; Silva, A. S. C.; Santos, F. C.;

- Valverde, A. L.; Azevedo, M. L. G.; Wollinger, W.; Souza, T. M. L.; Oliveira de Souza, S. L.; Frugulhetti, I. C. P. P. Design, synthesis, and biological evaluation of new 3-hydroxy-2-oxo-3-trifluoromethylindole as potential HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Medicinal Chemistry Research* **2007**, *15*, 492. [CrossRef]
- b) Boechat, N.; Kover, W. B.; Bongertz, V.; Bastos, M. M.; Romeiro, N. C.; Azevedo, M. L. G.; Wollinger, W. Design, Synthesis and pharmacological evaluation of HIV-1 reverse transcriptase inhibition of new indolin-2-ones. *Medicinal Chemistry* **2007**, *3*, 533. [CrossRef] [PubMed]
- ³³ Lyne, P. D. Structure-based virtual screening: an overview. *Drug Discovery Today* **2002**, *7*, 1047. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁴ Clark, M.; Cramer, R. D. III; Van Opdenbosch, N. Validation of the general purpose Tripos 5.2 force field. *Journal of Computational Chemistry* **1989**, *10*, 982. [CrossRef]
- ³⁵ Zhao, G.; Miller, M. J.; Franzblau, S.; Wan, B.; Möllmann, U. Syntheses and studies of quinolone-cephalosporins as potential anti-tuberculosis agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2006**, *16*, 5534. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁶ a) Srivastava, B. K.; Solanki, M.; Mishra, B.; Soni, R.; Jayadev, S.; Valani, D.; Jain, M.; Patel, P. R. Synthesis and antibacterial activity of 4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridine quinolones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2007**, *17*, 1924. [CrossRef] [PubMed] b) Wang, J.; Huang, J.; Wu, Y.; Hai, L.; Wang, G. Design and synthesis of novel thioether-linked carbapenem-oxazolidinone hybrids as potential antimicrobial agents. *Letters in Organic Chemistry* **2008**, *5*, 336. [CrossRef]
- ³⁷ Morphy, R.; Rankovic, Z. The physicochemical challenges of designing multiple ligands. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, *49*, 4961. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁸ Morphy, R.; Rankovic, Z. Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2005**, *48*, 6523. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁹ Griffin, J. H.; Mammen, M.; Oare, D.; Aggen, J. Inhibitors of HIV reverse transcriptase. *USA Pat. Appl. WO9964048 1999*. (CA 132:35990). [Link]
- ⁴⁰ Griffin, J. H.; Judice, J. K. Novel therapeutic agents that modulate enzymatic processes. *USA Pat. Appl. WO9964037 1999*. (CA 132:35718). [Link]
- ⁴¹ Dai, D.; Long, X.; Luo, B.; Kuleska, A.; Reichwagen, J.; Guo, Y. Process for preparation of efavirenz by cyclisation. *USA Pat. Appl. WO097510 2012*. (CA 157:261851). [Link]
- ⁴² Dai, D.; Long, X.; Luo, B.; Kuleska, A.; Reichwagen, J.; Guo, Y. DMP-266 by cyclisation. *USA Pat. Appl. WO097511 2012*. (CA 157:261850). [Link]
- ⁴³ Dai, D.; Long, X.; Luo, B.; Kuleska, A.; Reichwagen, J.; Guo, Y. Process for preparing efavirenz. *USA Pat. Appl. WO079235 2012*. (CA 157: 104694). [Link]
- ⁴⁴ Brenner, M.; Carreira, E. M.; Chinkov, N.; Lorenzi, M.; Warm, A.; Zimmermann, L. Process for the synthesis of cyclic carbamates. *USA Pat. Appl. WO048884 2012*. (CA 156: 505527). [Link]
- ⁴⁵ Brenner, M.; Carreira, E. M.; Chinkov, N.; Lorenzi, M.; Warm, A.; Zimmermann, L. Process for the synthesis of chiral propargylic alcohols. *USA Pat. Appl. WO048887 2012*. (CA 156: 533348). [Link]
- ⁴⁶ Kawai, H.; Kitayama, T.; Tokunaga, E.; Shibata, N. A New synthetic approach to efavirenz through enantioselective trifluoromethylation by using the Ruppert–Prakash reagent. *European Journal of Organic Chemistry* **2011**, 5959. [CrossRef]
- ⁴⁷ Chen, B.; Wang, Z.; Xue, Y.; Liu, L.; Chen, H. Methods of making efavirenz and intermediates thereof. *USA Pat. Appl. WO009203 2011*. (CA 154: 158475). [Link]
- ⁴⁸ Singh, G. P.; Singh, G. P.; Mahajan, P.; Salunke, G.; Karnalkar, D. An improved process for preparation of efavirenz. *USA Pat. Appl. WO007367 2011*. (CA 154: 133342). [Link]
- ⁴⁹ Nonnenmacher, M.; Jung, J.; Meudt, A. Method for the enantioselective addition of organometallic carbon nucleophiles to trifluoromethyl ketones and use of the method in the synthesis of HIV reverse transcriptase inhibitors. *USA Pat. Appl. WO000532 2011*. (CA 154: 88229). [Link]

- ⁵⁰ Leganza, A.; Galvagni, M. Process for the preparation of efavirenz. *USA Pat. Appl. WO085978* **2010**. (CA 153: 260351). [[Link](#)]
- ⁵¹ Gurjar, M. K.; Deshmukh, A. A.; Deshmukh, S. S.; Mehta, S. R. Novel process. *USA Pat. Appl. WO032259* **2010**. (CA 152: 405768). [[Link](#)]
- ⁵² Vemishetti, P.; Chadwick, S. T.; Costello, C. A.; Desikan, S.; Reiff, E. A. Synthesis of a benzoxazinone. *USA Pat. Appl. US0047115* **2006**. (CA 144: 254137). [[Link](#)]
- ⁵³ Batra, U.; Higgins, R. J.; Thompson, K. C.; Katdare, A. V. Efavirenz compressed tablet formulation. *USA Pat. Appl. WO61026* **1999**. (CA 132: 15626). [[Link](#)]
- ⁵⁴ Frey, L. F.; Tillyer, R. D.; Grabowski, E. J. J. Efficient synthesis of a 1,4-dihydro-2h-3,1-benzoxazin-2-one. *USA Pat. Appl. WO34928* **1998**. (CA 129: 175644). [[Link](#)]
- ⁵⁵ Pierce, M. E.; Choudhury, A.; Parsons, R. L., Jr. Asymmetric synthesis of benzoxazinones. *USA Pat. Appl. WO27073* **1998**. (CA 129: 81740). [[Link](#)]
- ⁵⁶ Parsons, R. L., Jr. An improved synthesis of cyclopropylacetylene. *USA Pat. Appl. WO27034* **1998**. (CA 129: 81739). [[Link](#)]
- ⁵⁷ Pierce, M. E.; Radesca, L. A. A practical synthesis of benzoxazinones useful as HIV reverse transcriptase inhibitors. *USA Pat. Appl. WO04535* **1998**. (CA 128: 154087). [[Link](#)]
- ⁵⁸ Young, S. D.; Tran, L. O.; Britcher, S. F.; Lumma, W. C., Jr.; Payne, L. S. Benzoxazinones as inhibitors of HIV reverse transcriptase. *European Pat. Appl. EP582455* **1994**. (CA 120: 270428). [[Link](#)]
- ⁵⁹ Thompson, A. S.; Corley, E. G.; Huntington, M. Improved synthesis of cyclopropylacetylene. *USA Pat. Appl. WO22955* **1996**. (CA 125: 221855). [[Link](#)]
- ⁶⁰ Young, S. D.; Britcher, S. F.; Payne, L. S.; Tran, L. O.; Lumma, W. C., Jr. Benzoxazinones as inhibitors of HIV reverse transcriptase. *USA Pat. Appl. WO20389* **1995**. (CA 123: 246802). [[Link](#)]
- ⁶¹ Pierce, M. E.; Parsons, Jr., R. L.; Radesca, L. A.; Lo, Y. S.; Silverman, S.; Moore, J. R.; Islam, Q.; Choudhury, A.; Fortunak, J. M. D.; Nguyen, D.; Luo, C.; Morgan, S. J.; Davis, W. P.; Confalone, P. N. Practical asymmetric synthesis of efavirenz (DMP 266), an HIV-1 reverse transcriptase inhibitor. *The Journal of Organic Chemistry* **1998**, *63*, 8536. [[CrossRef](#)]
- ⁶² Chen, C. Y.; Tillyer, R. D.; Tan, L. Efficient enantioselective addition reaction using an organozinc reagent. *USA Pat. Appl. WO51676* **1998**. (CA 130: 24851). [[Link](#)]