

İnsan İmmünoyetmezlik Virüsü-1 (HIV-1) İntegraz İnhibitörleri

Gönderilme: 11 Ekim 2016
Revizyon: 06 Mart 2017
Kabul: 07 Mart 2017

Pınar Erkekoğlu*^o, Nida Koyuncu*

Özet

İnsan immünoyetmezlik virüsü-1 (HIV-1) replikasyon için proteaz, revers transkriptaz ve integraza (IN) ihtiyaç duyar. Son yıllarda, insan immünoyetmezlik sendromunun (AIDS) tedavisinde HIV-1 IN, antiviral tedavi için önemli bir hedef olarak popülerite kazanmıştır. IN'ye odaklanarak önemli çalışmalar yapılmıştır ve üç yeni ilaç (raltegravir, elvitegravir ve dolutegravir) Gıda ve İlaç Dairesi'nden (FDA) onay almıştır. Bu ilaçlar tek veya HIV DNA kopya sayısında daha iyi düşüşler sağlamak için kombine doz rejimleri şeklinde kullanılabilir. Birçok çalışma ile bu ilaçların etkinliği ve güvenliliği hep daha önce tedavi görmemiş, hem de daha önce tedavi gören HIV hastalarında belirlenmiştir. Son zamanlardaki uygulama kılavuzlarına göre IN inhibitörü ilaç rejimleri daha önce tedavi görmemiş hastalarda ilk basamak tedavi olarak kabul edilmektedir. Henüz geliştirilmekte olan birçok IN inhibitörü de (doğal veya sentetik) bulunmaktadır. Bu maddelerin de etkinlikleri ve yan etkileri farklı çalışmalar ile araştırılmaktadır. Bu çalışmaların en önemli hedefleri etkinliği artırarak, rezistans profillerini geliştirmek ve ilaç uygulama sıklığını ve yan etkilerini azaltmaktır. Bu derlemede, kullanımda olan ve yeni bulunan IN inhibitörlerinin farmakolojik ve toksikolojik etkilerinden söz edilecektir.

Anahtar Kelimeler: HIV, AIDS, integraz, raltegravir, diketo asitler

Abstract

Human Immunodeficiency Virus-1 (HIV-1) Integrase Inhibitors

Human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) requires protease, reverse transcriptase and integrase (IN) for replication. In the last decades, HIV-1 IN is gaining popularity as a target for the antiviral therapy of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Substantial work focusing on IN has been performed and three new drugs (raltegravir, elvitegravir and dolutegravir) received approval from Food and Drug Administration (FDA). These drugs can be used in single or combined dose regimens to obtain better reduction in HIV DNA copies. The efficacy and safety of these three

* Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, F.Toksikoloji Anabilim Dalı, Sıhhiye Ankara 06100 Türkiye

^o Yazışma Yapılacak Yazar: e-posta: erkekp@yahoo.com

drugs in treatment-naïve and experienced HIV-infected patients have been established by multiple studies. Based on the current practice guidelines, IN inhibitor-based drug regimens are considered as one of the first-line therapies for treatment-naïve HIV-infected patients. There are also several new IN inhibitors (natural or synthetic) in development. These efficiencies and side effects of these substances are now being investigated by different studies. The most important goals of these studies are to increase the efficacy, to improve the resistance profiles and to decrease the frequency of drug administration and side effects. This review will focus on the pharmacology and toxicology of IN inhibitors in use and the newly discovered IN inhibitors.

Keywords: HIV, AIDS, integrase, raltegravir, diketo acids

1. Giriş

İnsan immünoyetmezlik virüsü (HIV) ve bu virüse bağlı olarak gelişen “Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu (Edinsel=Edinilmiş Bağışıklık Yetmezliği Sendromu, AIDS)” immün sistemi hedef alan, zamanla vücudun infeksiyonlara karşı direncini yok ederek gelişen ve bireyi birçok patolojik duruma karşı korunmasız hale getirerek sonunda ölümüne neden olan bir sendromdur. HIV-1 virüsü kana bulaştıktan sonra uzun yıllar belirti vermeyebilir. Bazı vakalarda, HIV-1 pozitif bir kimsenin 8 ila 10 yıl AIDS’e yakalanmadığı görülmüştür. Kanında HIV taşıyan bireylere “HIV pozitif bireyler” denir. HIV varlığı kanda HIV-1 RNA kopyası ölçülerek belirlenir. 1000 kopya/ml’nin üzerinde tedavi önerilir. Tedavi <50 kopya olana dek devam edilir. Ancak RNA miktarı tedaviden bir süre sonra tekrar artabileceği için HIV-1 hastalarının sürekli olarak izlenmeleri ve HIV-1 RNA sayılarını ölçtürmeleri gerekmektedir. AIDS gelişimi, HIV-1 infeksiyonunun son evresini oluşturur ve bu süreçte ölümcül infeksiyonlara ve kansere sıklıkla rastlanır. Kavram bütünlüğü sağlamak açısından yaygın olarak “HIV/AIDS” birleşik terimi kullanılır. Hastalığa karşı henüz geliştirilen etkin bir aşı bulunmamaktadır [1-5].

Şu an için kesin olarak AIDS/HIV’i tedavi edici bir ilaç söz konusu olmayıp, bilimsel açıdan HIV virüsüne yapışabilen tek protein kompleksi Gp41’dir. Gp41 kompleksi, HIV virüsü içeren hücrelerin savunma mekanizması tarafınca tespit edilip yok edilmesini sağlar [1-5]. Günümüzde AIDS/HIV tedavisinde kullanımda olan ilaç rejimleri şu şekilde sınıflanmaktadır [1-5]:

- *Nükleosid/Nükleotid Revers Transkriptaz (RT) İnhibitorleri (NRTI’ler)*: HIV revers transkriptaz (RT) enzimini RNA’sını DNA’ya çevirmek için kullanır. RT’nin inhibe edilmesi HIV virüsünün kendini replike edememesini beraberinde getirir. Bu ilaçlar nükleosid/nükleotid yapısındadır. Bu ilaçlara örnek olarak zidovudin, abakavir, lamivudine, emtrisitabin ve tenofovir verilebilir [6].
- *Non-Nükleosid RT İnhibitorleri (NNRTI’ler)*: İşlevlerini ayın NRTI’lar gibi RT blokajı yaparak gösterir. Birinci jenerasyon NNRT’lere örnek olarak nevirapin ve efavirenz, ikinci jenerasyon NNRT’lere örnek olarak etravirin ve rilpivirin verilebilir. HIV-2 genelde NNRTI’lara rezistandır [7,8].
- *Proteaz (PR) İnhibitorleri (PI’lar)*: Bu ilaçlar HIV proteazını inhibe ederler. Böylece PI’lar yeni (olgun olmayan) HIV’in olgun HIV haline gelmesini önleyerek, HIV’in CD4 hücrelerini infekte etmesini engellemiş olurlar [9].
- *Füzyon İnhibitorleri (Giriş inhibitörleri, CCR5 antagonistleri)*: Bu ilaçlar CD4(+) T lenfositleri gibi bazı immün hücrelerin yüzeyindeki CCR5 koreseptörünü bloke ederek

HIV zarfının (envelop) CD4 membranına yapışmasını (füzyonunu) önler. Böylece HIV CD4 hücrelerine giremez. Maraviroc ve enfuvirtid onaylanmış ve şu an piyasada bulunan giriş inhibitörleridir [10].

- *İntegraz İnhibitorleri*: “HIV integras (IN)” sayesinde HIV viral DNA’sını konakçı CD4 hücrelerinin içine integre eder. Bu ilaçlar hücrelerine IN’yi bloke ederek HIV’in bu hücrelere girip replike olmasını önler. Bu ilaçlara örnek olarak raltegravir, elvitegravir ve dolutegravir verilebilir. Son zamanlardaki uygulama kılavuzlarına göre IN inhibitörü ilaç rejimleri daha önce tedavi görmemiş hastalarda ilk basamak tedavi olarak kabul edilmektedir [11].
- *Farmakokinetik Arttırıcılar*: Ritonavir ve kobisistat diğer ilaçlarla birlikte kullanılan farmakokinetik arttırıcılardır. Her ikisi de CYP3A4’ü inhibe eder. Kobisistat ritonavire göre daha yüksek oranda CYP3A4 inhibisyonu yapar; ancak ritonavirin antiviral etkisi varken, kobisistatın bu tip bir etkisi yoktur [12].

Yukarıda sıralanan ilaçlardan bazıları HIV/AIDS tedavisinde tek tablet rejimi olarak kullanılırken, bazıları hem tek tablet, hem de çoklu ilaç uygulamalarında; bazıları ise sadece çoklu ilaç uygulamalarında kullanılmaktadır [13,14].

Son yıllarda “IN” enziminin yapısı ve işlevi hakkında pek çok yeni bilgi elde edilmiştir. Bu bilgiler ışığında, AIDS tedavisinde IN enziminin oldukça iyi bir terapötik hedef olduğu söylenebilir; zira son yıllarda yapılan çalışmalar göstermektedir ki HIV-1 IN’ye karşı yeni ilaçların üretilmesi, HIV enfeksiyonunun semptomlarının önlenmesinde büyük bir gelişme kaydedilmesini sağlayacaktır. Günümüze dek bulunan HIV-1 IN inhibitörü ilaçların tedavide kesin çözüm sağlamadığı; ancak ileriye dönük araştırmalar için umut taşıdığı görülmüştür. Bu konuda yapılan çalışmalar yeterli değildir ve daha fazla mekanistik ve detaylı çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu derleme kapsamında IN enziminin yapısı ve fonksiyonu ve HIV-1 IN inhibitörleri değerlendirilecektir [15].

2. HIV-1 İntegraz’ın Yapısı ve İşlevi

HIV genomu 3 önemli enzim kodlamaktadır: “Proteaz (PR)”, “Revers Transkriptaz (RT)” ve “(IN)”. Günümüzde RT ve PR’yi hedefleyen ajanlar infekte kişilerde viral replikasyonu önleyebilmektedir. RT ve PR inhibitörlerinin başarısına rağmen, bu tip ilaçlara rezistan HIV’in transmisyonu artmaktadır ve transmisyon hızı %25’e yaklaşmaktadır. Bu da yeni ajanların bulunmasındaki önemi yansıtmaktadır. IN bu durumda oldukça çekici bir terapötik hedef olarak görülmektedir [16,17].

HIV-1 IN aynı *Escherichia coli* RNase H gibi polinükleotidil-transferazlar grubuna dahildir. Yine de yapının tam aydınlatılması mümkün olamamıştır. HIV-1 IN 3 domainden oluşur ve bağlayıcı (linker) bölgelerinin proteolize hassas olduğu X-ışını kristallografisi ve NMR’la gösterilmiştir. Katalitik kor domaini, invariant triad şeklinde asidik rezidüleri içerir (*D,D-35-E Motif*) ve kapsamlı rezidüleri Asp⁶⁴, Asp¹¹⁶ ve Glu¹⁵⁷’dir [17,18]. Bu rezidülerin mutasyona uğraması, retroviral IN’nin aktivitesinin kaybolmasına veya ciddi şekilde azalmasına neden olur [19]. DNA polimerazlarla katalizleme kalıplarına bakılarak, bunlarla HIV-1 IN arası bir analogi kurulmuş ve IN’deki divalent metal iyonlarının rezidülere koordinasyonunun katalizde anahtar rol oynadığı önerilmiştir [20]. IN’nin aktif bölgesine kapsamlı rezidüleri önemli bir fleksi-

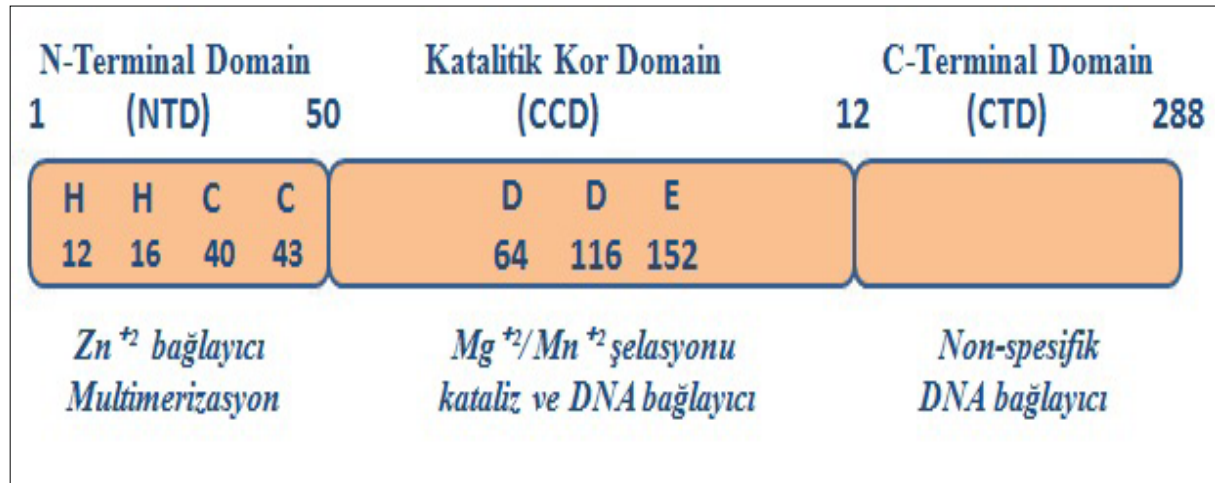
bilimleri vardır ve bu fleksibilite sayesinde DNA substratına bağlanmanın kataliz için gerekli rezidülerin tam konfigürasyona gelmeleri sağlanır [21].

HIV-1 IN'nin ana görevi revers-transkribe HIV-1 DNA'sını konakçının kromozomal DNA'sına integre etmektir. İntegrasyon, viral proteinlerin üretimi ve yeni RNA'ların oluşması için gerekli olan provirüsün transkripsiyonunda gereklidir. IN önemli bir hedef olarak görülmektedir; çünkü bu enzimin inaktivasyonu HIV-1 enfeksiyonunu bloke eder [22].

İntegrasyonun proselama ve zincir (strand) transferi reaksiyonlarını katalizlediği bildirilmiştir. Bu reaksiyonlardan proselama sitoplazmada, zincir transferi ise hücre çekirdeğinde gerçekleşir. İn vitro ortamda, sentetik substrat kullanarak bu birleşme reaksiyonları geri çevrilmiştir ve bu olay "disintegrasyon" olarak adlandırılır. Ancak, *in vivo* olarak bu reaksiyonun gerçekleştiği henüz gösterilememiştir [23].

IN 3 domaine kıvrılmış 288 rezidüden oluşur ve bu delesyon çalışmaları ile gösterilmiştir²⁰. IN oluşturan 3 domain şunlardır [24] (Şekil 1):

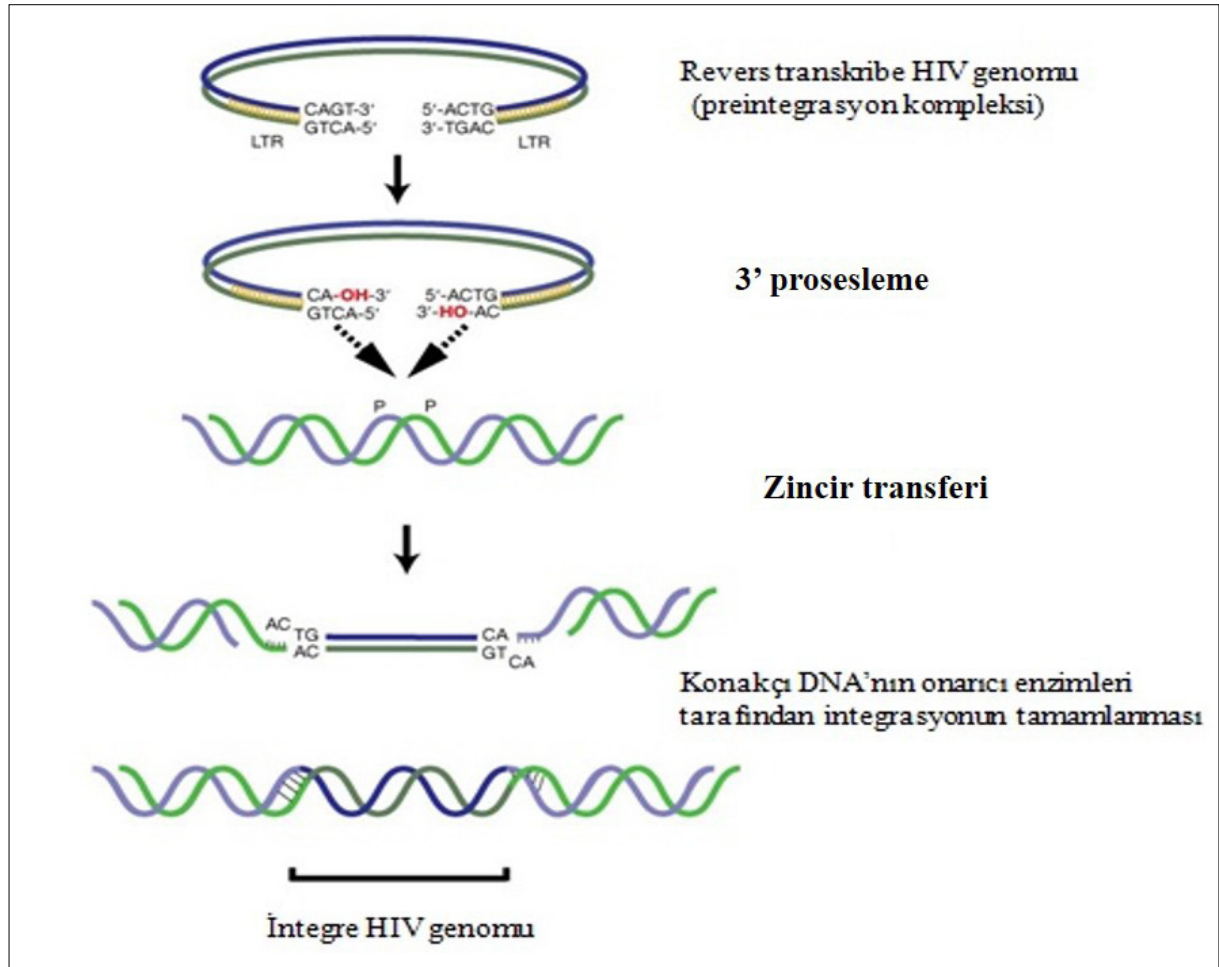
- *N-Terminal Domain*: Bu domainin IN monomerlerinin multimerizasyonunda ve agregasyonunda rol aldığı önerilmiştir. 1-49 arası rezidülden oluşur ve yapısı NMR'la aydınlatılmaya çalışılmaktadır.
- *C-Terminal Domain*: Bu domain 213-288 arasındaki rezidülden oluşur. DNA'ya non-spesifik olarak bağlanır; multimerizasyon işlemi görevi vardır ve varsayımsal bir nükleer lokalizasyon sinyal sekansı içerir. 220-270 arasındaki rezidülerin yapısı NMR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır.
- *Kor Domain*: Kor Domaini 50-212 arasındaki rezidüleri içerir ve bunlar kataliz için esansiyeldir. Bu rezidülerin Mg^{+2} (veya Mn^{+2})'a bağlandıkları ve bunun da katalitik aktivite için esansiyel olduğu önerilmiştir.



Şekil 1. HIV IN yapısı
IN: integras

3. İntegrasyon

Virüsün hücre içinde integrasyonu belirgin bir seri basamakta gerçekleşir. İlk önce, IN, viral DNA'nın 3' ucunun iki terminal nükleotidini yapıştırır. 3' işleme (processing) reaksiyonu ya sitoplazmada revers transkripsiyonla eşzamanlı veya daha sonra yürüyebilir. Zincir transferinden oluşan ikinci basamakta, IN hedef kromozomal DNA'yı parça parça çentikler ve konakçı DNA'nın 5' son ucunu (end) ile viral DNA'nın 3' son ucuyla birleştirir. Zincir transferi, 3' işlemeden farklıdır ve hücre çekirdeğine sitoplazmadan preintegrasyon kompleksinin taşınmasından sonra ortaya çıkar [23,25,26]. İntegrasyonun şematik gösterimi Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. HIV'in Hücre içine İntegrasyonunun Şematik Gösterimi

IN'nin spesifik viral kompleks üzerine yapışması işlemi için Mg^{+2} ve Mn^{+2} gibi divalen metaller gereklidir. Bu metallerin görevi hem 3' işleme, hem zincir transferi, hem de iki fonksiyonu da bir arada yürütmek amacıyla gerekli olan kompleksi oluşturmaktır [27]. İn vivo olarak Mg^{+2} 'nin kofaktör olduğu düşünülmektedir; ancak biyokimyasal çalışmalarda genellikle Mn^{+2} kullanılır. Bunun nedeni, IN aktivitesinin Mn^{+2} varlığında çok daha belirgin olarak görülmesidir [28,29]. IN'nin aktif bölgesine metal kofaktörlerin bağlanması DDE motif (D64, D116, E152/HIV-1 IN'de) denilen, üçlü asit rezidülerince sağlanır. DDE motif, retroviral IN'ler ve bakteriyel transpozazlar dahil, nükleaz ve polinükleotidiltransferazlar süper-ailelerinde bulunur [30]. Fosforil transfer reaksiyonlarını katalizleyen IN ve bununla ilişkili enzimler için, aktif bölge

için gerekli ve var olan metal sayısı tartışmalıdır. IN üzerine yapılan yapısal çalışmalar, Mg^{+2} veya Mn^{+2} için tek bir bağlanma noktası olduğunu belirlerken, Zn^{+2} veya Cd^{+2} gibi metaller için de ikinci bir metalin bağlanmasının da söz konusu olabileceğini göstermiştir [31,32].

Viral IN geninde yapılan mutasyon analizleri sonucunda, *in vitro* olarak enzim fonksiyonun ve hücre kültüründe viral replikasyonun değiştiği gözlenmiştir; ama *in vivo* olarak mutant IN'deki enzimatik reaksiyon hızı ve mutant virüslerin replikasyon hızı arasında bir korelasyona rastlanmamıştır. Örneğin, IN_{G-140S} (140. pozisyonadaki glisinin serine mutasyonu) mutasyonu ilaçlara karşı rezistansı arttırmaktadır; ama bu durumda yabanıl tipe göre viral replikasyonda bir gecikme gözlenir ve integrasyonda bozukluklar ortaya çıkabilir [33].

4. Terapötik Hedef Olarak İntegraz

HIV-1 IN'ye karşı yeni ilaçların üretilmesi, HIV enfeksiyonunun tedavisinde büyük bir gelişme kaydedilmesini sağlamıştır; zira HIV-1 IN'nin inhibitörleri integre DNA'nın oluşumunu bloke edebilir. HIV-1 IN inhibitörlerinin de kullanıldığı anti-HIV kemoterapilerinde, iki veya daha fazla ilacın kombinasyonu ile uygulanan terapilerin, pek çok HIV-pozitif hastada kandaki HIV yükünü tayin edilebilir düzeylerin altında tuttuğu gösterilmiştir. Bu tip tedaviler bırakıldığında ise, T hücrelerindeki HIV-1 tekrar replikasyona başlayabilir [34]. Kombinasyon terapisi gören hastalarda yapılan ve integre ve total HIV-1 DNA'sının ölçüldüğü bir çalışmada, istirahat halindeki CD4⁺ T- hücrelerinde integre HIV-1 DNA'nın, *in vivo* olarak kısa bir ömrü olan non-integre DNA'ya oranla daha stabil olduğu da gösterilmiştir [35].

Teorik olarak IN'nin aktivitesini etkilemek için çeşitli yollar kullanılabilir. Bunlar nükleer lokalizasyonunu, dimer/multidimer oluşumunu ve protein-DNA etkileşimini değiştirmek ve işleme ve/veya birleşme reaksiyonlarının inhibisyonları olabilir:

- *Nükleer Lokalizasyon:* HIV virüsü IN'nin hücre çekirdeğine taşınmasını sağlamak için, en az bir tanesi nükleer lokalizasyon sinyal sekansı içeren, HIV matriks proteini ve RT dahil çeşitli diğer viral proteinler ve viral DNA ile pre-integrasyon kompleksi oluşturur. Nükleer lokalizasyonu önlemek için tüm pre-integrasyon kompleksi sitoplazmaya hapsedilmelidir veya integrasyonu önlemek için DNA IN'den ayrılmalıdır. Böylece, DNA ve IN hücre çekirdeğine giremez [36].
- *Protein-Protein Etkileşimleri:* İN nadiren de olsa dimer olarak da etki gösterebilir. IN monomerleri arası etkileşimi etkilemenin integrasyon reaksiyonunu yavaşlatabileceği söylenebilir; ancak sitoplazmaya veya hücre çekirdeğine spesifik etkileyici ajanı bulmak sorun yaratabilir. Kor domainin yapısındaki dimerizasyon yüzeyi genel olarak şişkin ve hidrofobiktir ve bu nedenle bu yüzeyi hedeflemek zordur [37].
- *Protein-DNA Etkileşimleri:* Protein-DNA etkileşimleri üzerine etkili ajanlar DNA yapısını, DNA'nın görünür yüzeyini etkileyerek veya ilgili proteinin DNA-bağlanma bölgeleriyle etkileşime girerek değiştirir. IN'nin DNA'ya bağlanan noktası veya noktalarıyla terapötik ajanların etkileşimi, protein-DNA etkileşimi üzerine etki etmek için belki de en iyi yaklaşımdır. Terapötik amaçlar için, enzimin bilinen sekans özgünlüğünü kullanmak mümkündür; ancak henüz DNA fragmanlarına bağlanan yerlerdeki enzim yapısı tam bilinmemektedir [38].

5.1. Kullanımda Olan HIV-1 İntegraz İnhibitörleri

5.1. Raltegravir

N-(4-florobenzil)-5-hidroksi-1-metil-2-(2-{{(5-metil-1,3,4-okzadiazol-2-1)karbonil]amino}-2-propanil)-6-okzo-1,6-dihidro-4-pirimidinkarboksamid yapısındadır. 2007 yılının Kasım ayında ABD’de Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)’den onay almıştır. 2011 yılında 2-11 yaş arası hastalarda kullanımı çiğneme tableti olarak da onaylanmıştır. 11 yaş üstü adölesanlarda erişkin tablet formu kullanılmaktadır [39].

Raltegravirin oral alımından sonra biyoyararlanımının yaklaşık %32 olduğu tahmin edilmektedir. Gıdalarla etkileşmediği belirtilmiştir. Yarı ömrü ($t_{1/2}$) yaklaşık 7-12 saattir ve kararlı kan konsantrasyonlarına 2 günlük kullanımıyla ulaşılabildiği belirtilmiştir. Uridin difosfat glukuronosilt-ransferaz 1A1 (UGT1A1) ile metabolize edilir; ancak UGT1A1 veya UGT2B7’yi inhibe etmez. Sitokrom P450 (CYP450) enzimlerinin substratı değildir ve bu enzimleri indüklemeyi veya inhibe etmez. İn vitro olarak CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 veya CYP3A4 inhibisyonu; *in vivo* olarak da CYP1A2, CYP2B6 veya CYP3A4 inhibisyonu yapmadığı gösterilmiştir. P-glikoproteini ile de etkileşmez. Yaklaşık %51’i feçesle, %32’si ise idrarla atılır. Hafif ve orta karaciğer ve böbrek yetmezliği doz ayarlanması gerektirmez [40].

Tek başına kullanımı genellikle önerilmemektedir. Kombine tedavi olarak kullanılır. Kombinasyon tedavisinde 24. ve 48. haftaların sonunda efavirenzden daha güçlü bir anti-retroviral etkinliğinin olduğu ve efavirenze göre HIV RNA yükünü deteksiyon düzeyinin altına daha hızlı bir şekilde indirdiği belirlenmiştir. Tedavinin 24. ve 48. haftalarının sonlarında raltegravirin serum total kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein ve trigliserit düzeylerini artırmadığı da gözlenmiştir. İlacın NNRTI’lerden ve PI’lerden daha etkin olduğu belirtilmektedir. Diğer taraftan, insan sitomegalovirüsü, insan endojen retrovirüsleri ve büyük bir olasılıkla Epstein-Barr virüsüne de etkin olduğu bildirilmiştir [41].

İlacın en sık rastalanan yan etkileri uykusuzluk, baş ağrısı, baş dönmesi, bulantı, güçsüzlük, deride kızarıklık, alerjik reaksiyonlar ve karaciğer sorunlarıdır. Karaciğer sorunlarının göstergesi olarak hepatit, sarılık, koyu renkli idrar, açık renkli dışkılama, bulantı, kusma, iştah kaybı, ağrı, acıma ve midede hassasiyet ortaya çıkabilir. İlacı kullanan hastalarda kreatin kinaz düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca miyopati ve rabdomiyoliz de rapor edilmiştir. Ayrıca “immün yeniden yapılanma sendromu”na yol açabilir. Daha az sıklıkla rastlanan yan etkiler ateş, bitkinlik, aşırı yorgunluk, kas veya eklem ağrısı, ağızda ve/veya deride blister oluşumu, ağızda acıma hissi/hassasiyet, gözlerde kızarıklık ve/veya şişme, ağızda ve/veya yüzde şişme ve nefes almada güçlütür. Bu etkiler başlarsa, ilacın bırakılması önerilir [42,43].

Raltegravirin plazma düzeyi birlikte alındığı diğer ilaçlardan etkilenebilir. Alüminyum veya magnezyum içeren antiasitlerle beraber alınması önerilmez. İlacın ripampin gibi UG1A1 indükleyicileriyle birlikte alınması plazma konsantrasyonlarını yaklaşık %61 düzeyinde azaltabilir. Ayrıca, omeprazol (20 mg) ile kullanılması plazma konsantrasyonlarını 3-4 kat artırabilir. Bu etkileşimde önerilen mekanizma omeprazolün gastrik pH’yi artırması sonucu raltegravirin çözünürlüğünün ve absorpsiyonunun artmasıdır. FDA gebelik kategorisi C’dir [43-45].

5.2. Elvitegravir (EVG, f GS-9137)

6-[(3-kloro-2-florofenil)metil]-1-[(2S)-1-hidroksi-3-metilbutan-2-il]-7-metoksi-4-okzokinolin-3-karboksilik asit yapısındadır. 2012 yılının Ağustos ayında ABD’de FDA tarafından kombine terapi olarak onay almış, 2014 yılında tek ilaç olarak HIV/AIDS’e karşı onaylanmıştır. 2014 yılının Kasım ayında ise elvitegravir, kobisistat, emtrisitabin ve tenofovir alafenamid içeren bir ikneci kombinasyon terapisi içinde onay almıştır. Tek bir doz ritonavir ile kombine tedavisinin 24 haftada tek başına kullanımına göre daha etkin olduğu da belirtilmiştir [46,47].

İlaç CYP3A4 ve takiben UGT1A1 ve UGT1A3 ile metabolize edilir. Elvitegraviri kullanan hastaların %10’undan fazlasında başağrısı, bulantı ve diyare görülmektedir. Ayrıca, gastrointestinal (mide yanması/ağrısı, hazımsızlık, iştah kaybı, kusma), dermatolojik (deride kızarıklık) ve psikolojik (cesaret kaybı, hayata karşı umudunu yitirme/yaşama sevincini yitirme, mutsuz/boşlukta hissetme, irritabilite, uykusuzluk ve konsantre olma güçlüğü) sorunlara neden olabilir. İlacı kullanan hastaların %2’sinden azında laboratuvar anomalileri (karaciğer enzimlerinde değişiklik, total trigliserit ve kolesterol düzeylerinde değişme, hiperglisemi, lipaz artışı) görülür [48-51].

Elvitegravir/cobicistat/emtrisitabin/tenofovir kombinasyonu kullananlarda yüksek dozlarda alınması ile ciddi yan etkiler ortaya çıkabilir. Kombine terapinin laktik asidoz, steatoz ve hepatomegaliye neden olabileceği belirtilmiştir ve kemik mineral dansitesinde ciddi azalmalara neden olabilir. Kombine terapi uygulanan hastalarda vücut yağının redistribüsyonu ve immün yeniden yapılanma sendromu görülebilir [48].

Ritonavir gibi CYP3A indükleyicilerinin elvitegravirin klerensini hızlandırdıkları bilinmektedir. Alüminyum veya magnezyum içeren antiasitlerle beraber alınması önerilmez. İlacın rimpampin gibi UGT1A1 indükleyicileriyle birlikte alınması plazma konsantrasyonlarını azaltabilir. Elvitegravir, antiaritmikler ve digoksinle birlikte alınırsa bu ilaçların plazma konsantrasyonlarını artırabilir. Okskarbazepin elvitegravirin plazma konsantrasyonunu azaltır; antifungaller (itakonazol, ketokonazol, vorikonazol), sistemik kortikosteroidler (flutikazon) ve antimikobakteriyeller (rifabutin, rifapentin) ise, elvitegravirin plazma konsantrasyonunu artırabilir. FDA gebelik kategorisi B’dir [49-51].

5.3. Dolutegravir

(4R,12aS)-N-(2,4-diflorobenzil)-7-hidroksi-4-metil-6,8-diokzo-3,4,6,8,12,12a-hekzahidro-2H-pirido[1',2':4,5]pirazino[2,1-b][1,3]okzazin-9-karboksamid yapısındadır. 2013 yılında ABD’de FDA tarafından onaylanmıştır. 2013 yılını Kasım ayında Kanada’da kullanıma girmiştir. 2014’te ise Avrupa Birliği’nden onay almıştır. Hem ilk kez HIV tedavisi alacak olan, hem de tedavisi devam eden hastalarda kullanılabilir. 12 yaş ve 40 kg üstü tüm çocuklarda da kullanımı onaylanmıştır [52].

Randomize, çift-kör, aktif-kontrollü bir faz 3 çalışması olan SPRING-2 2010 yılında başlamış ve ilk verileri (ilk 48 hafta) 2013’te yayınlanmıştır. Sonrasında 2010-2013 tarihleri arasındaki sonuçları (ilk 96 hafta) yayınlanmıştır. Çalışmaya daha önce tedavi görmemiş ve HIV-1 RNA kopyaları >1000 kopya/ml olan erişkin HIV-1 hastalar dahil edilmiştir. Hastalar ikiye ayrılarak bir kısmına günde 1 kez dolutegravir, diğerlerine ise günde 2 kez araştırmacının seçimi ile raltegravir + tenofovir-emtrisitabin veya raltegravir + abakavir-lamivudin verilmiştir. Çalışmanın son noktaları 96. hafta sonunda HIV-1 RNA yükünün 50 kopya/ml altına düşmesi ve

CD(+) 4^+ T-hücre sayısında artış sağlanması olarak belirlenmiştir. Sonuçta dolutegravir ile tedavi gören hastaların %81'inde HIV-1 RNA yükü 50 kopya/ml'nin altına düşerken, bu oran raltegravir kullananlarda %76 olarak bulunmuştur. Virolojik olarak cevap vermeme durumu dolutegravir grubunda %5 iken, raltegravir grubunda %10 olarak belirlenmiştir. Ortanca CD 4^+ T-hücre sayısı dolutegravir grubunda 276 hücre/ μ l iken, raltegravir grubunda 264 hücre/ μ l olarak bildirilmiştir. Hastaların sadece %2'si 48.-96. haftalar arası advers etkiler nedeniyle tedaviyi bırakmıştır. Sonuçta dolutegravir tedavisinin HIV-1 hastalarında uygun bir seçenek olabileceği sonucuna varılmıştır [54].

Randomize, çift-kör bir faz 3 çalışması olan SINGLE'de ise, daha önce tedavi görmemiş, erişkin ve HIV-1 RNA sayısı ≥ 1000 kopya/ml olan HIV-1 hastalarında dolutegravirin (50 mg/gün) abakavir-lamivudin kombinasyonu ile beraber kullanıldığında etkinliği diğer bir antiviral kombinasyonu [efavirenz-tenofovir disoproksil fumarat-emtrisitabin] ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın son noktası 48. hafta sonunda HIV-1 RNA yükünün 50 kopya/ml altına düşmesi olarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonunda dolutegravir-abakavir-lamivudin kullanan hastaların %88'inde HIV RNA kopya sayısı < 50 kopya/ml olarak bulunurken, bu oran efavirenz-tenofovir disoproksil fumarat-emtrisitabin kullanan hastalar için %81 olarak bulunmuştur ve iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir ($p=0.003$). Dolutegravir-abakavir-lamivudin kombinasyonunun viral baskılama sağladığı ortanca zaman ve CD 4^+ T-hücre sayısında sağladığı artış diğer kombinasyona göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p<0.001$). Dolutegravir-abakavir-lamivudin kombinasyonu ile gözlenen advers olaylar (2%) diğer kombinasyonu kullananlara (%10) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Özellikle efavirenz-tenofovir disoproksil fumarat-emtrisitabin kullanan hastalarda görülen deride kızarıklık ve nöropsikiyatrik olayların (anormal rüyalar, anksiyete, baş dönmesi, uyku hali) dolutegravir-abakavir-lamivudin grubundan daha yüksek olduğu; ancak dolutegravir-abakavir-lamivudin kullanan hastalarda diğer kombinasyonu kullananlara göre uykusuzluğun daha sık rapor edildiği bildirilmiştir. Dolutegravir-abakavir-lamivudin kombinasyonunun antiviral rezistansına neden olmadığı; efavirenz-tenofovir disoproksil fumarat-emtrisitabin kombinasyonunun ise bir kişide tonofovire bağlı, dört kişide ise efavirenze bağlı HIV mutasyonlarına yol açtığı belirtilmiştir. Sonuçta dolutegravir-abakavir-lamivudin kombinasyonunun diğer kombinasyona göre güvenlilik profilinin daha iyi olduğu ve 48 hafta sonra daha etkili bir tedavi sağladığı belirtilmiştir [54].

Çok merkezli, açık etiketli ve faz 3b çalışması olan FLAMINGO çalışması Ekim 2011-Mayıs 2012 arasında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada daha önce tedavi görmemiş HIV-1 hastalarında HIV-1 RNA kopyaları ≥ 1000 kopya/ml olan hastalara günde 1 kez dolutegravir (50 mg) veya günde 1 kez dolutegravir darunavir+ritonavir kombinasyonu (800 mg+100 mg) uygulanarak, dolutegravirin etkinliği darunavir+ritonavir kombine tedavisi ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın son noktası HIV-1 RNA yükünün 50 kopya/ml altına düşmesi olarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonunda dolutegravirin 48 haftada hastaların %90'ında HIV RNA yükünü 50 kopyanın altına düşürdüğü belirlenmiştir [gruplar arası ayarlanmış fark: %7,1; güvenlik aralığı (CI):%95, 0,9-13,2]. Bu oran kombine tedavi için %83 olarak belirlenmiş ve iki farklı ilaç grubun alan hastalarda tedavinin etkinliği istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p=0.025$). Görülen advers etkilere bağlı olarak hastaların dolutegraviri bırakma oranı %2 iken, darunavir+ritonavir kombinasyonu için bırakma oranı %10'dur. Dolutegravir ve darunavir+ritonavir kombinasyonlarının kullanımı ile en çok görülen yan etkiler diyare (dolutegravir için %17,

kombinasyon için %29), bulantı (dolutegravir için %16, kombinasyon için %18) ve baş ağrısıdır (dolutegravir için %75, kombinasyon için %10). Dolutegravir kullanan hastaların düşük dansiteli lipoprotein dansitelerinin kombinasyonu kullananlara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda dolutegravirin günde bir kez kullanımının etkinliğinin kombinasyon tedavisine göre daha üstün olduğunu belirtilmiş ve dolutegravirin daha önce tedavi görmemiş HIV-1 enfekte bireylerde etkin bir tedavi sağlayabileceği bildirilmiştir [55].

Yapılan bir pilot, tek kolu, açık etiketli faz 2b çalışmasında (VIKING), raltegravir veya elvitegravirin etkin olmadığı erişkinlerde dolutegravirin günde iki kez 50 mg kullanımının etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışmanın son noktası HIV-1 RNA yükünün 50 kopya/ml altına düşmesi olarak belirlenmiştir. Dolutegravirin 8. günden itibaren etkin olduğu belirlenmiş ve 24. haftanın sonunda hastaların %69'unda ilacın HIV-1 RNA yükünü 50 kopya/ml'nin altına düşürdüğü görülmüştür. HIV Q148 + ≥ 2 rezistansı olan hastalarda ilacın etkinliği önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Hastaların sadece %8'i ilacı advers etkileri nedeniyle bırakmıştır. Bu advers etkinin oranının ilacı tek doz kullananlarda da aynı olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla, günde 2 kez dolutegravir kullanımıyla etkin bir tedavi sağlanabileceği belirtilmiştir [56].

Dolutegravir hızlı bir şekilde absorbe edilir ve plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır. Az bir kısmı CYP3A enzimleriyle metabolize edilir ve takiben de ilaç UGT1A1 ile glukuronidasyona uğrar. İlacın %1'inden azı değişmeden atılır. $t_{1/2}$ 'si 14 saattir. %53'ü feçesle, %32'si idrarla atılır [52,57,58].

İlacın en belirgin yan etkileri uykusuzluk ve baş ağrısıdır. Hastaların yaklaşık %2'sinde bu istenmeyen etkilerin görüldüğü bildirilmiştir. Diğer taraftan, nadir de olsa aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişebilir. Kızarıklıkla başlayan reaksiyonlar organ yetmezliği gelişimine dek gidebilir. Hepatit B ve C hastalarında dolutegravir kullanımıyla transaminazlarda yükselme görülebilir. Dolutegravir ile kombine başka bir anti-retroviral ilaç kullanan hastalarda vücut yağının redistribüsyonu ve immün yeniden yapılanma sendromu görülebilir.⁵¹ Etravirin, nevirapin, fosamprenavir/ritonavir, tipranavir/ritonavir ve efavirenz gibi antiviraller dolutegravirin plazma konsantrasyonlarını düşürebilir. Diğer taraftan, okzarbazepin, fenitoin, fenobarbital, karbamazepin ve St. John's wort gibi santral-aktif ilaçlar, alüminyum ve magnezyum içeren antiasitler ve rifampinin de dolutegravirin plazma konsantrasyonlarını düşürebileceği belirtilmiştir [52,58,59].

5.4. Diketo Asitler (4-Aril-2,4 Dioksobutanoik Asitler)

Diketo asitler (DKA'lar) en potent IN inhibitörleri olarak bilinmektedir. İnhibitör konsantrasyon 50'leri (IC_{50}) nanomolar düzeydedir. DKA'lar, IN inhibisyonuyla viral replikasyonu önlemektedir [60,61]. IN'de DKA'lara rezistans gelişmesine neden olan aminoasit değişiklikleri bulunmaktadır ve günümüzde bu değişikliklerin hemen hemen hepsi belirlenmiştir. HIV sekans veri tabanı analizi ile enfekte popülasyondaki rezistansa 2 ile 3 aminoasit değişiminin neden olduğunu belirlenmiştir. Şu ana dek en çok bilinen mutasyonlar T661, S1534, M1541 mutasyonlarıdır ve bunların rezistans gelişmesiyle ilgili olduğu belirlenmiştir [62,63].

Bu bileşikler arasında en çok bilinen ve klinik araştırmada olanları p-florobenilpirol butanoik asit (L-731,998, FBP) ve L-708,906'dır [64]. Bu iki bileşiğin hücre kültürlerinde HIV-1 replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, IN'nin zincir transfer fonksiyonunu ortadan kaldırırlar ki, eğer bunlara karşı HIV-1 IN rezistans mutasyonları gelişirse, bu iki ilacın her iki etkisine karşı da rezistans gelişmiş olur. L-731,998 $IC_{50}=100$ nM'da zincir transferini ve $IC_{50}=5$

μM 'da 3'-işleme işlevini inhibe eder ve hücre kültürlerinde diğer DKA'lar gibi integrasyon ve viral replikasyonu ortadan kaldırır [65-67].

Azido- grubu içeren DKA'lar da günümüzde geliştirilmektedir. Bunlardan 5CITEP ([1-(5-kloroindol-3-il)-3-hidroksi-3-(2H-tetrazol-5-il)-propenon] en çok bilinen ajandır. Bu ajanların da L-708,906 kadar potent inhibitör oldukları bulunmuştur. Bu bileşiklerin HIV-infekte hücrelerde önemli anti-viral potansiyellerinin olduğu ve düşük sitotoksositeye sahip oldukları bulunmuştur. Bu ürünlerin sentezinde kullanılan azido-metil- içeren ara ürünlerin de IN inhibitör potansiyellerinin olduğu belirlenmiştir [68,69]. Son yıllarda, IN inhibisyonu ile birlikte RT RNaz H inhibisyonu da yapan DKA türevleri sentezlenmeye başlamıştır. Bu bileşiklerin oldukça düşük sitotoksik etkilerinin olduğu, HeLa hücrelerinde IC_{50} 'lerinin $50 \mu\text{M}$ civarında olduğu ve ilerisi için umut vaat ettikleri belirtilmiştir [70].

5.5. Şikorik Asitler

Şikorik asitler içinde en çok bilineni L-şikorik asit (dikafeik asit esteri)'tir. L-şiroik asit doğal bir yapı olan şikorik asitin enantiomeridir. L- şikorik asit [S-(R*,R*)-2,3-Bis[[3-(3,4-dihidroksifenil)-1-okso-2-propenil]oksi]-butanedioik asit yapısındadır. Doku kültürlerinde, HIV-1 IN'yi inhibe ettiği gösterilen ilk maddedir. IN_{G140S} mutasyonu bu asite karşı rezistans gelişmesine neden olur ve tek bir mutasyonla etkisinin ortadan kalkması düşündürücüdür. L- şikorik asit $264 \mu\text{M}$ ile $333 \mu\text{M}$ arasındaki konsantrasyonlarda HIV-1 (LAI suşu) IN'ye karşı etkindir [71-73].

L- şikorik asit dışında, 3,5-dikaffeoyilkinik asit (3,5-DCQA), rosmarik asit ve diketoyiltartarik asitlerin (DCTA) de anti-HIV aktivitesinin olduğu bilinmektedir [74]. 3,5-DCQA, ilk olarak *Baccharis genistelloides*'in sulu ekstresinden elde edilmiştir ve HIV IN'nin potent bir inhibitörüdür [75]. 3,5 DCQA'nın bir türevi olan 1-metoksioksalil-3,5-dikaffeokinik asit (1-MO-3,5-DCQA) ise, ilk olarak *Achyrocline satureoides*'in sulu ekstresinden izole edilmiştir ve bu da HIV-1 IN reaksiyonunun potent bir inhibitörüdür. 3,5- DCQA'nın *in vitro* IC_{50} 'si HIV-1 (LAI) için $>150 \mu\text{g/mL}$ iken, 1-MO-3,5-DCQA'nın IC_{50} 'si HIV-1 (LAI) IN için *in vitro* olarak $>350 \mu\text{g/mL}$ 'dir. Bu maddeler, HIV-1 IN'ye irreversible bağlanır [76-78].

5.6. Nükleotidler

İn vitro olarak HIV-1 IN'ye karşı birçok yüksek derecede modifiye mono ve dinükleotidler hazırlanmış ve test edilmiştir. Bu çalışmalar ile HIV-1 IN, RT'nin aksine yüksek oranda modifiye nükleotidlere afinite gösterebildiği belirlenmiştir [79,80]. İzodinükleotidler de, normal dinükleotidlerle eşit miktarda HIV-1 IN'yi karşı potent bir şekilde inhibe edebilir. İzonükleotidlerin nükleazlara karşı artmış stabilitesi, daha potent analoglarının sentezlenme yolunu açmaktadır [80,81]. Yakın zamanda 4-zincirli guanozin kuartet yapıları oluşturan daha uzun oligonükleotidler bulunmuştur [82]. Değişik uzunluklarda guanozin kuartetler kullanarak yapılan çalışmalarda, IN interaksyonunun oligonükleotidlerin terminal lup yapısıyla ilişkili olduğu önerilmektedir [83, 84].

5.7. Tiyazolotiazepinler ve Türevleri

Polifenollerin aksine tiyazolotiazepinler, Mg^{+2} 'un kullanıldığı *in vitro* araştırmalarda da aktif bulunmuştur. Bu olay, ilaç geliştirmesinde oldukça önemlidir; zira daha önce de bahsedildiği üzere, IN'nin spesifik viral kompleks üzerine yapışması için Mg^{+2} ve Mn^{+2} gibi divalent metaller

gereklidir. Ancak, deneysel olarak Mn^{+2} *in vitro* olarak kullanılmaktadır. Oysa, *in vivo* olarak IN'nin aktivite göstermesinde Mg^{+2} 'nin fizyolojik divalan metal kofaktörü olduğu belirtilmiştir. Tiyazolotiazepinler, önceden birleşen (preassemble) IN-DNA komplekslerinde aktiftirler ki, bu da tiyazolotiazepinlerin bu komplekslere bağlanıp, inaktive ettiğini göstermektedir. Tiyazolotiazepinler yüksek konsantrasyonlarda antiviral etki gösterir ve yeni antiviral ilaçların geliştirilmesine yeni ve öncü bir sınıfı teşkil eder [85,86].

5.8. Lamellarin α -20-sülfat

Lamellarin α -20-sülfat askidiyan alkaloididir ve marin doğal ürünlerden elde edilmiştir. HIV-1 IN'yi oldukça düşük konsantrasyonlarda (μM düzeylerde) inhibe etmektedir. Hücreye dayalı yöntemlerde, lamellarin α -20-sülfat'ın HIV-1 replikasyonunun ilk basamaklarını inhibe ettiği gözlenmiştir [87-89].

5.9. Doğal Ajanlar

Yeni bulunan bazı IN inhibitörleri, bazı doğal ürünlerin mikrobiyal ekstraktlarından elde edilmiştir. Bunlara örnek olarak *Fusarium* biyotoksini equisetin, phomasetin ve integrik asit derivate-leri verilebilir. Bu bileşiklerin hepsi HIV-1 IN'yi düşük konsantrasyonlarda (μM düzeylerde) inhibe etmektedir; ancak bu bileşikler üzerindeki araştırmalar ancak son yıllarda başlamıştır [90,91].

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda ise deniz ürünlerinden elde edilen bazı bileşiklerin yüksek HIV IN aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Örneğin, *Thalassia testudinum* (turtleg-rass, Karayip Denizi çimi)'dan elde edilen "thalassiolinler (Thalassiolin A, B, C) zincir transfer reaksiyonunu Mg^{+2} varlığında engellemektedir [92].

5.10. Stiril kinolinler

Polihidroksile aromatiklerin son örnekleridir. Diğer polihidroksile salisilik asitler gibi HIV-1 integrasyonu *in vitro* olarak aynı dozlarda inhibe etmektedir. Bazı stirilkinolinler, 3 günlük "hücre-koruma yöntemi (cytoprotection assay)" kullanılarak yapılan çalışmada CEM hücrelerinde HIV-1 replikasyonunu inhibe etmişlerdir; ancak belirgin bir sitotoksikite göstermektedirler ki, bu da antiviral aktivitelerinin önüne geçmektedir [93,94].

5.11. Arctigenin

Arctigenin (dibenzilbutirolakton lignanolid = 2(3H)-Furanon, 4-((3,4-dimetoksifenil) metil) dihidro-3-((4-hidroksi-3-metoksifenil) metil), (3R-trans)), doku kültürlerinde HIV-1 inhibe ettiği gösterilmiş olan doğal bir lignanolittir. Arctigenin, DNA topoizomera II'nin potent bir inhibitörüdür. Yapılan çalışmalarda arctigenin'in potent bir IN inhibitörü olduğu da görülmüştür ve bunun integrasyon reaksiyonunu inhibe etmesiyle bağlantılı olduğu düşünülmektedir. MT hücrelerinde HIV-1 (III B) IC_{50} 'si $0,63 \mu g/mL$ 'dir [95].

5.12. Etoposid

Etoposid insan DNA topoizomera II'sini inhibe ederek etki gösteren bir antineoplastik ajandır. Etoposid aynı zamanda hücre kültürlerinde ve doğrudan HIV-1 proviral DNA integrasyonunu inhibe eden bir potent HIV-1 inhibitörüdür. Etoposidin anti-HIV aktivitesinin hem HIV-1 integ-

razı hem de Topoizomeraz II aktivitesini inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca etoposid gibi teniposid, doksorubisin, hidroksirubisin ve adriamisin de benzer etkilerinin olduğu düşünülmektedir. Ancak, henüz *in vivo* olarak bu etkiler kanıtlanamamıştır [96,97].

5.13. Hidroksokobalamin (Vitamin B12)

HIV-1 IN'nin kobalaminler için potansiyel bir hedef olduğu düşünülmektedir. Hidroksokobalamin, metilkobalamin, 5'-deoksiadenosilkobalamin ve disiyanokobinamidin normal insan monositlerinde ve lenfositlerinde HIV-1 gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir. İnhibisyon, viral suşa spesifik değildir; ancak konakçı hücreler için spesifiktir. Kobalaminler Jurkat ve CEM gibi hücre hatlarında normal insan monosit ve lenfositlerinden daha az etkindir. Ancak, siyanokobalaminin (vitamin B12), 1000 μM 'ın altında HIV-1 replikasyonunu belirgin şekilde inhibe etmediği belirlenmiştir [98,99].

5.14. İki Değerlikli (Divalan) ve Üç Değerlikli Katyonlar

Bilindiği gibi metaller tedavide çok eski zamanlardan beri kullanılmaktadır. Vitamin B12'nin yapısında bulunan bir metal olan kobalt (Co), doğa iki veya üç değerlikli olarak bulunmaktadır ve henüz biyolojik sistemlerdeki tüm işlevleri aydınlatılamamıştır [100,101]. İki değerlikli Co bileşikleri (Co^{+2}), retro-viral IN'deki reaksiyonlarda e^- çiftleşmesini önleyerek etki gösterir. Üç değerlikli kobalt bileşiklerinin (Co^{+3}) ise, antibakteriyel ve antiviral etkileri uzun yıllardır bilinmektedir ve HIV-1 dahil bazı virüslerin membran füzyonlarını engelleyebildikleri belirtilmektedir [102]. Özellikle kalsiyumun iki değerlikli katyonu (Ca^{+2}) ise, yine IN reaksiyonlarında e^- çiftleşmesini önler [100,101]. IN proteinin *in vitro* olarak Ca^{+2} , Co^{+2} , Mg^{+2} ve Mn^{+2} ile inkübe edilmesi sonrasında, Ca^{+2} ve/veya Co^{+2} 'ın Mg^{+2} ve Mn^{+2} yerine tam olarak geçemedikleri ve dolayısıyla IN reaksiyonlarını tam olarak engelleyemedikleri belirtilmiştir. Ancak, *in vivo* koşullarda Ca^{+2} ve/veya Co^{+2} 'ın Mg^{+2} ve Mn^{+2} yerine geçebildikleri ve IN reaksiyonlarını inhibe edebildikleri bildirilmiştir. İki değerlikli metaller, bunların bileşikleri ve HIV-1 IN inhibisyonu konusunda, daha mekanistik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır [101].

5.15. Diğerleri

2-Merkaptobenzen-sülfonamidler, akridinler (akriflavin, proflavin, 9-amino-akridin), antikanser ilaçlar (doksorubisin, hidroksirubisin, adriamisin, teniposid, elliptisin türevleri), depsidler (granulatin), hiperisin, leksitropsinler, naftokinonlar, tetrasiklin deriveleri ve zentivir HIV-1 IN'yi inhibe ettiği önerilen diğer kimyasal maddeler/ilaçlardır. Ancak, bu maddelerin IN inhibitörü etkinlikleri henüz araştırma aşamasındadır.

Aşağıdaki tabloda HIV-1 üzerine etki gösterdikleri bildirilen ajanların etkiledikleri HIV-1 enzimleri ve proteinleri/protein kompleksleri özetlenmiştir. Bazı bileşiklerin hem IN, hem de diğer bazı HIV enzimlerini (RT, PR, Topoizomeraz II) etkileyebildikleri belirtilmektedir. Ayrıca, IN ile birlikte gp120 protein kompleksini etkileyen bazı bileşiklerin de olduğu bildirilmiştir. Ancak, IN üzerine bazı ajanların kesin etkinlikleri gösteren henüz yeterli sayıda çalışma yoktur ve araştırmalar devam etmektedir.

Tablo 1. HIV IN'yi hedef aldığı belirlenen veya önerilen ilaçlar

<i>İLAÇ</i>	<i>HEDEFİ</i>
2-Merkaptobenzen-sülfonamidler	IN ?
3,5-dikaffeoyilklinik asit	gp120+IN ?
Adriamisin	Topoizomeraz II, IN ?
Akridinler	Topoizomeraz II, IN ?
Arctigenin	Topoizomeraz II, IN ?
AZT (3'-Azido-3'-deoksitimidin)	RT+IN ?
Biskumarinler	PR+IN ?
Depsidler (granulatin)	IN ?
Diketo asitler	IN
Divalan Katyonlar (Ca ⁺⁺ , Cd ⁺⁺)	IN ?
Doksorubisin	Topoizomeraz II, IN ?
Dolutegravir	IN
Elliptisin türevleri	Topoizomeraz II, IN ?
Etoposid	Topoizomeraz II, IN ?
Guanozin quartetler	Gp120+IN ?
Hidroksirubisin	Topoizomeraz II, IN ?
Hiperisin	Fuzyon+IN ?
Kobalaminler	Folat ve Demetilasyon İnhibisyonu+IN ?
Leksitropsinler	RT+IN
Naftokinonlar	IN ?
Nükleotidler	RT+IN ?
Polihidroksile stirilkinolinler	IN ?
Şikorik asit ve türevleri	gp120+IN ?
Teniposid	Topoizomeraz II, IN ?
Tetrasiklin Deriveleri	IN ?
Tiyazolotiazepinler	IN ?
Thalassiolin	IN ?
Zentivir	gp120+IN ?

gp120: zarf glikoproteini GP120; **PR: IN:** integraz; **PR:** proteaz; **RT:** revers transkriptaz

(?) IN hedefinin henüz tam kesinleşmediğini/daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğunu ifade etmektedir.

6. Sonuç ve Tartışma

Son yıllarda özellikle ülkemizde HIV/AIDS ciddi anlamda artış göstermektedir. Ülkemizde HIV'i nasıl kapıldığına dair bilgisi olmayan kişilerin oranı tüm hastaların %56,7'sini oluşturmaktadır [102]. HIV/AIDS özellikle immün sistemleri iyi çalışmayan bireylerde ve hassas popülasyonlarda (örneğin, çocuklarda) daha hızlı ilerlemekte ve ölüme neden olmaktadır. Bu nedenle, HIV tedavisiyle ilgili yeni anti-viral ilaçların geliştirilmesi ülkemiz dahil tüm dünya için büyük önem taşımaktadır.

Bilindiği gibi HIV-1'in konakçıda çoğalması için önemli iki enzim olan RT ve PR'nini inhibisyonunu sağlayan ilaçlar geliştirilmiş ve kullanıma girmiştir. Ancak, bu ilaçlara karşı gelişen gerek viral rezistans, gerekse ilaçların toksik etkilerinin fazlalığı ilaçların klinikte kullanımını bazı durumlarda kısıtlamıştır [6-9]. Bu nedenle yeni hedef moleküller aranmış ve IN'nin önemli etkin bir hedef olabileceği bulunmuştur [11]. HIV-1 IN'nin temel işlevi revers-transkribe HIV-1 DNA'sını konakçının kromozomal DNA'sına integre edilmesidir. İntegrasyon, HIV-1'in yaşamına devam

etmesi için elzemdir ve viral proteinlerin üretimi ve yeni RNA'ların oluşması için integrasyon gereklidir. IN'nin inaktivasyonunun HIV-1 infeksiyonunu bloke ettiği bilinmektedir [22].

HIV IN yapı ve fonksiyonunun aydınlatılmasına dair yaşanan bazı güçlüklerle rağmen, bu konuda son yıllarda pek çok yeni bilgi elde edilmiştir. Enzimin fonksiyonlarının karmaşıklığı sayesinde pekçok yönden enzimle etkileşebilecek yeni ajanlar sentezlenmeye başlanmış ve IN HIV/AIDS terapisinde çekici bir hedef haline gelmiştir. IN inhibitörü olarak piyasada bulunan ilaçlar dışında, IN'yi selektif hedef olarak belirleyen tek bileşik grubu DKA'dır. Tiyazolotiazepinlerin ve polihidroksile stirilkinolinlerin selektif hedef olarak IN'yi seçip seçmedikleri henüz araştırılmaktadır. Ancak, bilindiği gibi bir ilaç molekülünün kullanıma girmesi en az 10 yıllık bir süreçte gerçekleşir ve bu nedenle DKA'lar dahil, yeni moleküllerin hastalara ulaşması için daha uzun bir sürenin olduğu söylenebilir.

Antiviral aktiviteye sahip bir IN inhibitörünün selektif hedef olarak IN'yi seçtiği kanısına varmak çok doğru değildir. IN inhibitörleri retroviral gen ekspresyonundan önce ve virüs girişi ve revers transkripsiyondan sonra etki göstermelidir. IN'nin ilacın hedefi olduğunun belirlenmesi için iki kriter önerilmektedir:

1. İntegraz mutasyonu olan ilaç-rezistan virüsün seçimi
2. İlaçla tedavi edilmiş hücrelerde sirküler DNA formlarının akümüasyonu

Birinci kriter göz önüne alınacak olursa, IN mutasyonu olan ilaç-rezistan bir viral suşu elde edip kullanmak, IN'nin ilacın hedefi olup olmadığını belirlemek için tek başına yeterli değildir. Örneğin, şikorik asitler için rezidü 140'da bir nokta mutasyonu bulunmuştur; ancak IN nokta mutantları *in vitro* olarak şikorik asit türevlerine rezistan değildir. Bu durum da IN'nin bu ilaçların tek hedefi olmadığını gösterir. Bu olayla aynı noktayı işaret eden bir olasılık da şudur ki, şikorik asitler polianyonik ve polikasyonik bileşiklere rezistan olan virüs suşlarının replikasyonunu inhibe edemez. Ayrıca, şikorik asite rezistan HIV-1 suşları, gp120 zarf glikoproteininde çoklu mutasyonlar taşır. Tüm bu nedenlerle, antiviral ilacın selektif olarak IN'yi hedef aldığını göstermek için yeni hücresel yöntemler geliştirilmelidir.

Bazı ilaçlar, IN dışında diğer enzimler ve yapılarla etkileşerek etki göstermektedir. Örneğin, AR177 (Zintevir) gp120'nin V3 lupunu da etkiler ve antiviral aktivitesi hem IN inhibisyonuna hem de gp120 etkileşimine bağlıdır [104,105]. AZT (3'-Azido-3'-deoksitimidin) fosforile türevlerine metabolize olarak RT'yi inhibe eder; aynı zamanda da monofosforile türevleri (AZT MP) IN'nin zincir transferini $IC_{50}=140 \mu M$ 'da inhibe eder. AZT MP'nin hücrelerde 1 mM'a kadar akümüle olması bunun göstergesidir. HIV'in AZT rezistan suşları, AZT MP'nin inhibitör etkisini ortadan kaldırmak için IN proteininde de mutasyonlar oluşturmuşlardır. Bu gibi durumlarda ise, ilacın IN'nin hangi fonksiyonunu inhibe ettiğinin belirlenmesi gerekir [104-108].

Sonuç olarak, retroviral integrasyonun temel mekanizmasının çok iyi bir şekilde anlaşılması gerekmektedir. Son zamanlarda, mekanistik çalışmalarda kullanılabilecek indüklenebilir IN geni içeren hücre hatları geliştirilmiştir. Bu durumda, IN'nin işleme veya zincir transferi görevlerinden birini hedef seçerek, IN inhibisyonunun gerçekleştirilmesi sağlanabilecektir. Diğer taraftan, HIV-1'in integrasyonunda görev alan diğer bazı proteinlerin veya farklı moleküllerin varlığının belirlenmesi ile de integrasyonunun önlenilebileceği belirtilebilir. Dolayısıyla, HIV genomunun daha ayrıntılı olarak değerlendirilmesi ve integrasyon ile ilgili moleküllerin hedef olarak belirlenerek, bunları inhibe edecek yeni ilaç moleküllerinin keşfi AIDS savaşına çok büyük katkılar getirecektir.

Kaynaklar

1. Sepkowitz KA: AIDS—the first 20 years. *New England Journal of Medicine* 2001, 344(23):1764–1772.
2. Yoshimura K: Current status of HIV/AIDS in the ART era. *Journal of Infections and Chemotherapy* 2016 pii: S1341-321X(16)30198-301912.
3. Sheets RL, Zhou T, Knezevic I: Review of efficacy trials of HIV-1/AIDS vaccines and regulatory lessons learned: A review from a regulatory perspective. *Biologicals* 2016 44(2):73-89.
4. Cary DC, Fujinaga K, Peterlin BM: Molecular mechanisms of HIV latency. *Journal of Clinical Investigations* 2016, 126(2):448-454.
5. Spivak AM, Planelles V. HIV-1 Eradication: Early Trials (and Tribulations). *Trends in Molecular Medicine* 2016, 22(1):10-27.
6. Sprenger HG, Bierman WF, van der Werf TS, Gisolf EH, Richter C: A systematic review of a single-class maintenance strategy with nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitors in HIV/AIDS. *Antiviral Therapy* 2014, 19(7):625-36.
7. Schafer JJ, Short WR: Rilpivirine, a novel non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor for the management of HIV-1 infection: a systematic review. *Antiviral Therapy* 2012, 17(8):1495-1502.
8. Reynolds C, de Koning CB, Pelly SC, van Otterlo WA, Bode ML: In search of atreatment for HIV--current therapies and the role of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs). *Chemical Society Reviews* 2012, 41(13):4657-4670.
9. Kurt Yilmaz N, Swanstrom R, Schiffer CA: Improving Viral Protease Inhibitors to Counter Drug Resistance. *Trends in Microbiology* 2016, 24(7):547-557.
10. Henrich TJ, Kuritzkes DR: HIV-1 entry inhibitors: recent development and clinical use. *Current Opinions in Virology* 2013, 3(1):51-57.
11. Park TE, Mohamed A, Kalabalik J, Sharma R: Review of integrase strand transfer inhibitors for the treatment of human immunodeficiency virus infection. *Expert Reviews in Anti Infectious Therapy* 2015, 13(10):1195-1212.
12. Larson KB, Wang K, Delille C, Otofokun I, Acosta EP.: Pharmacokinetic enhancers in HIV therapeutics. *Clinical Pharmacokinetics* 2014, 53(10):865-872.
13. Lee FJ, Amin J, Carr A: Limited reporting of major harms in studies of initial combination antiretroviral therapy: a systematic review. *AIDS*. 2015, 29(8):921-929.
14. Baril JG, Angel JB, Gill MJ, Gathe J, Cahn P, van Wyk J, Walmsley S: Dual Therapy Treatment Strategies for the Management of Patients Infected with HIV: A Systematic Review of Current Evidence in ARV-Naive or ARV-Experienced, Virologically Suppressed Patients. *PLoS One*. 2016, 11(2):e0148231.
15. Andreoni M, Marcotullio S, Puro V, De Carli G, Tambussi G, Nozza S, Gori A, Rusconi S, Santoro MM, Clementi M, Perno CF, d'Arminio Monforte A, Maggiolo F, Castagna A, De Luca A, Galli M, Giacomelli A, Borderi M, Guaraldi G, Calcagno A, Di Perri G, Bonora S, Mussini C, Di Biagio A, Puoti M, Bruno R, Zuccaro V, Antinori A, Cinque P, Croce D, Restelli U, Rizzardini G, Lazzarin A: An update on integrase inhibitors: new opportunities for a personalized therapy? The NEXTaim Project. *New Microbiology* 2015, 38(4):443-490.

16. Park TE, Mohamed A, Kalabalik J, Sharma R: Review of integrase strand transfer inhibitors for the treatment of human immunodeficiency virus infection. *Expert Reviews in Anti Infectious Therapy* 2015, 13(10):1195-1212.
17. Blanco JL, Whitlock G, Milinkovic A, Moyle G: HIV integrase inhibitors: a new era in the treatment of HIV. *Expert Opinions in Pharmacotherapy* 2015, 16(9):1313-1324.
18. Esposito F, Tramontano E: Past and future. Current drugs targeting HIV-1 integrase and reverse transcriptase-associated ribonuclease H activity: single and dual active site inhibitors. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy* 2014, 23(4):129-144.
19. Goldgur Y, Craigie R, Cohen GH, Fujiwara T, Yoshinaga T, Fujishita T, Sugimoto H, Endo T, Murai H, Davies DR: Structure of the HIV-1 integrase catalytic domain complexed with an inhibitor: a platform for antiviral drug design. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A* 1999, 96(23):13040-13043.
20. Diamond TL, Bushman FD: Role of metal ions in catalysis by HIV integrase analyzed using a quantitative PCR disintegration assay. *Nucleic Acids Research* 2006, 34(21):6116-6125.
21. Krishnan L, Engelman A: Retroviral integrase proteins and HIV-1 DNA integration. *Journal of Biological Chemistry* 2012, 287(49):40858-40866.
22. Hu WS, Hughes SH: HIV-1 reverse transcription. *Cold Spring Harbour Perspective Medicine* 2012, 2(10). pii: a006882.
23. Métifiot M, Johnson BC, Kiselev E, Marler L, Zhao XZ, Burke TR Jr, Marchand C, Hughes SH, Pommier Y: Selectivity for strand-transfer over 3'-processing and susceptibility to clinical resistance of HIV-1 integrase inhibitors are driven by key enzyme-DNA interactions in the active site. *Nucleic Acids Research* 2016, 44(14):6896-6906.
24. Chen JC, Krucinski J, Miercke LJ, Finer-Moore JS, Tang AH, Leavitt AD, Stroud RM: Crystal structure of the HIV-1 integrase catalytic core and C-terminal domains: a model for viral DNA binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A* 2000, 97(15):8233-8238.
25. Wang JY, Ling H, Yang W, Craigie R: Structure of a two-domain fragment of HIV-1 integrase: implications for domain organization in the intact protein. *EMBO Journal* 2001, 20(24):7333-7343.
26. Schubert U, Ott DE, Chertova EN, Welker R, Tessmer U, Princiotta MF, Bennink JR, Krausslich HG, Yewdell JW: Proteasome inhibition interferes with gag polyprotein processing, release, and maturation of HIV-1 and HIV-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A* 2000, 97(24):13057-13062.
27. Diamond TL, Bushman FD: Role of metal ions in catalysis by HIV integrase analyzed using a quantitative PCR disintegration assay. *Nucleic Acids Research* 2006, 34(21):6116-6125.
28. Yi J, Asante-Appiah E, Skalka AM: Divalent cations stimulate preferential recognition of a viral DNA end by HIV-1 integrase. *Biochemistry*. 1999, 38(26):8458-8468.
29. Bacchi A, Carcelli M, Compari C, Fisicaro E, Pala N, Rispoli G, Rogolino D, Sanchez TW, Sechi M, Sinisi V, Neamati N: Investigating the role of metal chelation in HIV-1 integrase strand transfer inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* 2011, 54(24):8407-8420.
30. Dyda F, Hickman AB, Jenkins TM, Engelman A, Craigie R, Davies DR: Crystal structure of the catalytic domain of HIV-1 integrase: similarity to other polynucleotidyl transferases. *Science* 1994, 266:1981-1986.
31. Engelman A, Craigie R: Efficient magnesium-dependent human immunodeficiency virus type 1 integrase activity. *Journal of Virology* 1995, 69(9):5908-5911.

32. Hazuda DJ, Felock PJ, Hastings JC, Pramanik B, Wolfe AL: Differential divalent cation requirements uncouple the assembly and catalytic reactions of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *Journal of Virology* 1997, 71(9):7005-7011.
33. King PJ, Lee DJ, Reinke RA, Victoria JG, Beale K, Robinson WE Jr: Human immunodeficiency virus type-1 integrase containing a glycine to serine mutation at position 140 is attenuated for catalysis and resistant to integrase inhibitors. *Virology* 2003, 306(1):147-161.
34. Hazuda DJ: HIV integrase as a target for antiretroviral therapy. *Current Opinions in HIV AIDS*. 2012, 7(5):383-389.
35. Charpentier C, Piketty C, Laureillard D, Tisserand P, Si-Mohamed A, Weiss L, Bélec L: Dynamics of HIV-1 DNA level in highly antiretroviral-experienced patients receiving raltegravir-based therapy. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 2012, 31(2):129-133.
36. Levin A, Armon-Omer A, Rosenbluh J, Melamed-Book N, Graessmann A, Waigmann E, Loyter A: Inhibition of HIV-1 integrase nuclear import and replication by a peptide bearing integrase putative nuclear localization signal. *Retrovirology* 2009, 6:112.
37. Maes M, Loyter A, Friedler A: Peptides that inhibit HIV-1 integrase by blocking its protein-protein interactions. *FEBS Journal* 2012, 279(16):2795-2809.
38. Xue W, Liu H, Yao X: Molecular mechanism of HIV-1 integrase-vDNA interactions and strand transfer inhibitor action: a molecular modeling perspective. *Journal of Computational Chemistry* 2012, 33(5):527-536.
39. Drug Approval Package. Drug Name: Isentress (raltegravir) 400mg Tablets Company: Merck & Company, Inc. İnternet Adresi: 022145http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2007/022145_Isentress.cfm [Website]
40. Hughes CA, Robinson L, Tseng A, MacArthur RD: New antiretroviral drugs: a review of the efficacy, safety, pharmacokinetics, and resistance profile of tipranavir, darunavir, etravirine, rilpivirine, maraviroc, and raltegravir. *Expert Opinion in Pharmacotherapy* 2009, 10(15):2445-2466.
41. Markowitz M, Nguyen BY, Gotuzzo E, Mendo F, Ratanasuwan W, Kovacs C, Prada G, Morales-Ramirez JO, Crumpacker CS, Isaacs RD, Gilde LR, Wan H, Miller MD, Wenning LA, Tepler H; Protocol 004 Part II Study Team: Rapid and durable antiretroviral effect of the HIV-1 Integrase inhibitor raltegravir as part of combination therapy in treatment-naive patients with HIV-1 infection: results of a 48-week controlled study". *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome* 2007, 46 (2):125–133.
42. AIDSinfo Drug Database. Raltegravir. İnternet adresi: <https://aidsinfo.nih.gov/drugs/420/raltegravir/0/patient>. [Website]
43. Highlights of Prescribing Information. Isentress® (Raltegravir) film-coated tablets, for oral use. ISENTRESS® (raltegravir) chewable tablets, for oral use. ISENTRESS® (raltegravir) for oral suspension. İnternet sitesi: https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/i/isentress/isentress_pi.pdf
44. Blonk MI, Colbers AP, Hidalgo-Tenorio C, Kabeya K, Weizsäcker K, Haberl AE, Moltó J, Hawkins DA, van der Ende ME, Gíngelmaier A, Taylor GP, Ivanovic J, Giaquinto C, Burger DM: Pharmacokinetics of Newly Developed Antiretroviral Agents in HIV-Infected Pregnant Women PANNA Network; PANNA Network. Raltegravir in HIV-1-Infected Pregnant Women: Pharmacokinetics, Safety, and Efficacy. *Clinical Infectious Diseases* 2015, 61(5):809-816.

45. Fernández-Montero JV: Once-daily raltegravir moving ahead. *AIDS Reviews* 2013, 15(4):238-239.
46. Sax P E, Dejesus E, Mills A, Zolopa A, Cohen C, Wohl D, Gallant JE, Liu HC, Zhong L, Yale K, White K, Kearney BP, Szwarcberg J, Quirk E, Cheng AK: Gs-Us-236-0102 Study T: Co-formulated elvitegravir, cobicistat, emtricitabine, and tenofovir versus co-formulated efavirenz, emtricitabine, and tenofovir for initial treatment of HIV-1 infection: A randomised, double-blind, phase 3 trial, analysis of results after 48 weeks". *The Lancet*. 2012, 379 (9835): 2439–2448.
47. Shimura K, Kodama E, Sakagami Y, Matsuzaki Y, Watanabe W, Yamataka K, Watanabe, Y, Ohata Y, Doi S, Sato M, Kano M, Ikeda S, Matsuoka M: Broad Anti-Retroviral Activity and Resistance Profile of a Novel Human Immunodeficiency Virus Integrase Inhibitor, Elvitegravir (JTK-303/GS-9137). *Journal of Virology*, 82(2):764–774.
48. Highlights of Prescribing Information Stribild. İnternet sitesi: http://www.gilead.com/~media/files/pdfs/medicines/hiv/stribild/stribild_pi.pdf. [Website]
49. Elvitegravir (Vitekta) for HIV. *Medical Letters on Drugs Theray* 2016, 58(1486):10-11.
50. Raffe S, Fisher M: The pharmacokinetics, pharmacodynamics and clinical efficacy of elvitegravir + cobicistat + emtricitabine + tenofovir combination therapy for the treatment of HIV. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology* 2015, 11(3):427-435.
51. Deeks ED: Elvitegravir: a review of its use in adults with HIV-1 infection. *Drugs* 2014, 74(6):687-697.
52. Highlights of Prescribing Information. Tivicay. İnternet sitesi http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/204790lbl.pdf.
53. Raffi F, Jaeger H, Quiros-Roldan E, Albrecht H, Belonosova E, Gatell JM, Baril JG, Domingo P, Brennan C, Almond S, Min, S; extended SPRING-2 Study Group: Once-daily dolutegravir versus twice-daily raltegravir in antiretroviral-naive adults with HIV-1 infection (SPRING-2 study): 96 week results from a randomised, double-blind, non-inferiority trial. *The Lancet Infectious Diseases* 2013, 13 (11): 927–935.
54. Walmsley SL, Antela A, Clumeck N, Duiculescu D, Eberhard A, Gutiérrez F, Hocqueloux L, Maggiolo F, Sandkovsky U, Granier C, Pappa K, Wynne B, Min S, Nichols G; SINGLE Investigators: Dolutegravir plus abakavir-lamivudine for the treatment of HIV-1 infection. *New England Journal of Medicine* 2013, 369(19):1807-1818.
55. Clotet B, Feinberg J, van Lunzen J, Khuong-Josses MA, Antinori A, Dumitru I, Pokrovskiy V, Fehr J, Ortiz R, Saag M, Harris J, Brennan C, Fujiwara T, Min S; ING114915 Study Team: Once-daily dolutegravir versus darunavir plus ritonavir in antiretroviral-naive adults with HIV-1 infection (FLAMINGO): 48 week results from the randomised open-label phase 3b study. *The Lancet*. 2014, 383(9936):2222-2231.
56. Castagna A, Maggiolo F, Penco G, Wright D, Mills A, Grossberg R, Molina JM, Chas J, Durant J, Moreno S, Doroana M, Ait-Khaled M, Huang J, Min S, Song I, Vavro C, Nichols G, Yeo JM; VIKING-3 Study Group: Dolutegravir in antiretroviral-experienced patients with raltegravir- and/or elvitegravir-resistant HIV-1: 24-week results of the phase III VIKING-3 study. *Journal of Infectious Diseases* 2014, 210(3):354-362.
57. [Dolutegravir (Tivicay) orally]. *Journal of Pharmacy Belgium* 2015, (3):47-48.
58. Kandel CE, Walmsley SL: Dolutegravir - a review of the pharmacology, efficacy, and safety in the treatment of HIV. *Journal of Drug Design Development and Therapy* 2015, 9:3547-3555.

59. Henao-Mejia J, Góez Y, Patiño P, Rugeles MT: Diketo acids derivatives as integrase inhibitors: the war against the acquired immunodeficiency syndrome. *Recent Patents On Anti-Infective Drug Discovery* 2006, 1(2):255-265.
60. Zhao G, Wang C, Liu C, Lou H: New developments in diketo-containing inhibitors of HIV-1 integrase. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 2007, 7(7):707-725.
61. Pescatori L, Métifiot M, Chung S, Masoaka T, Cuzzucoli Crucitti G, Messore A, Pupo G, Madia VN, Saccoliti F, Scipione L, Tortorella S, Di Leva FS, Cosconati S, Marinelli L, Novellino E, Le Grice SF, Pommier Y, Marchand C, Costi R, Di Santo R: N-Substituted Quinolinonyl Diketo Acid Derivatives as HIV Integrase Strand Transfer Inhibitors and Their Activity against RNase H Function of Reverse Transcriptase. *Journal of Medicinal Chemistry* 2015, 58(11):4610-4623.
62. Brigo A, Lee KW, Fogolari F, Mustata GI, Briggs JM: Comparative molecular dynamics simulations of HIV-1 integrase and the T66I/M154I mutant: binding modes and drug resistance to a diketo acid inhibitor. *Proteins* 2005, 59(4):723-741.
63. Henao-Mejia J, Góez Y, Patiño P, Rugeles MT: Diketo acids derivatives as integrase inhibitors: the war against the acquired immunodeficiency syndrome. *Recent Pat Antiinfectious Drug Discovery* 2006, 1(2):255-265.
64. Crosby DC, Lei X, Gibbs CG, McDougall BR, Robinson WE, Reinecke MG: Design, synthesis, and biological evaluation of novel hybrid dicaffeoyltartaric/diketo acid and tetrazole-substituted L-chicoric acid analogue inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *Journal of Medicinal Chemistry* 2010, 53(22):8161-8175.
65. Nair V, Chi G: HIV integrase inhibitors as therapeutic agents in AIDS. *Reviews in Medical Virology* 2007, 17(4):277-295.
66. Zahm JA, Bera S, Pandey KK, Vora A, Stillmock K, Hazuda D, Grandgenett DP: Mechanisms of human immunodeficiency virus type 1 concerted integration related to strand transfer inhibition and drug resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008, 52(9):3358-3368.
67. Pandey KK, Bera S, Zahm J, Vora A, Stillmock K, Hazuda D, Grandgenett DP: Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 concerted integration by strand transfer inhibitors which recognize a transient structural intermediate. *Journal of Virology* 2007, 81(22):12189-12199.
68. Pais GC, Zhang X, Marchand C, Neamati N, Cowansage K, Svarovskaia ES, Pathak VK, Tang Y, Nicklaus M, Pommier Y, Burke TR Jr: Structure activity of 3-aryl-1,3-diketo-containing compounds as HIV-1 integrase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* 2002, 45(15):3184-3194.
69. Rao GS, Bhatnagar S, Ahuja V: Structure-based design of a novel peptide inhibitor of HIV-1 integrase: a computer modeling approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2002, 20(1):31-38.
70. Cuzzucoli Crucitti G, Métifiot M, Pescatori L, Messore A, Madia VN, Pupo G, Saccoliti F, Scipione L, Tortorella S, Esposito F, Corona A, Cadeddu M, Marchand C, Pommier Y, Tramontano E, Costi R, Di Santo R: Structure-activity relationship of pyrrolyl diketo acid derivatives as dual inhibitors of HIV-1 integrase and reverse transcriptase ribonuclease H domain. *Journal of Medicinal Chemistry* 2015, 58(4):1915-1928.

71. Robinson WE Jr: L-chicoric acid, an inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) integrase, improves on the in vitro anti-HIV-1 effect of Zidovudine plus a protease inhibitor (AG1350). *Antiviral Research* 1998, 39(2):101-111.
72. McDougall B, King PJ, Wu BW, Hostomsky Z, Reinecke MG, Robinson WE Jr: Dicafeoylquinic and dicafeoyltartaric acids are selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1998, 42(1):140-146.
73. Bonn D: Green coffee beans may yield new class of anti-HIV-1 agents. *The Lancet*. 1998, 352(9133):1039.
74. McDougall B, King PJ, Wu BW, Hostomsky Z, Reinecke MG, Robinson WE Jr: Dicafeoylquinic and dicafeoyltartaric acids are selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1998 42(1):140-163.
75. Robinson WE Jr, Reinecke MG, Abdel-Malek S, Jia Q, Chow SA: Inhibitors of HIV-1 replication that inhibit HIV integrase. *Proceedings of National Academy of Sciences U S A*. 1996, 93(13):6326-6331.
76. Adamoli R: Unconventional therapies in HIV infection: a working perspective. XII Natinal Conference ANLAIDS. 1998.
77. Fachinetto JM, Bagatini MD, Durigon J, da Silva ACF, Tedesco SB: Anti-proliferative effect of infusions of *Achyrocline satureioides* on the *Allium cepa* cell cycle. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 2007, 17:4954.
78. Johnston MI, Hoth DF: Present status and future prospects for HIV therapies. *Science* 1993, 260(5112):1286-1293.
79. Chi G, Nair V: Synthetic approaches to nuclease-resistant, nonnatural dinucleotides of anti-HIV integrase interest. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2005, 24(10-12):1449-1468.
80. Taktakishvili M, Neamati N, Pommier Y, Nair V: Recognition and inhibition of HIV integrase by a novel dinucleotide. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters* 2000, 10(3):249-251.
81. Cherepanov P, Esté JA, Rando RF, Ojwang JO, Reekmans G, Steinfeld R, David G, De Clercq E, Debyser Z: Mode of interaction of G-quartets with the integrase of human immunodeficiency virus type 1. *Molecular Pharmacology* 1997, 52(5):771-780.
82. Scomparin A, Polyak D, Krivitsky A, Satchi-Fainaro R.: Achieving successful delivery of oligonucleotides--From physico-chemical characterization to in vivo evaluation. *Biotechnology Advances* 2015, 33(6 Pt 3):1294-1309.
83. Van Aerschot A: Oligonucleotides as antivirals: dream or realistic perspective? *Antiviral Research* 2006, 71(2-3):307-316.
84. Turner JJ, Fabani M, Arzumanov AA, Ivanova G, Gait MJ: Targeting the HIV-1 RNA leader sequence with synthetic oligonucleotides and siRNA: chemistry and cell delivery. *Biochimie Biophys Acta* 2006, 1758(3):290-300.
85. Aiello F, Brizzi A, Garofalo A, Grande F, Ragno G, Dayam R, Neamati N: Synthesis of novel thiazolothiazepine based HIV-1 integrase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2004, 12(16):4459-4466.

86. Neamati N, Turpin JA, Winslow HE, Christensen JL, Williamson K, Orr A, Rice WG, Pommier Y, Garofalo A, Brizzi A, Campiani G, Fiorini I, Nacci V: Thiazolothiazepine inhibitors of HIV-1 integrase. *Journal of Medicinal Chemistry* 1999, 42(17):3334-3341.
87. Reddy MV, Rao MR, Rhodes D, Hansen MS, Rubins K, Bushman FD, Venkateswarlu Y, Faulkner DJ: Lamellarin alpha 20-sulfate, an inhibitor of HIV-1 integrase active against HIV-1 virus in cell culture. *Journal of Medicinal Chemistry* 1999, 42(11):1901-1907.
88. Ridley CP, Reddy MV, Rocha G, Bushman FD, Faulkner DJ: Total synthesis and evaluation of lamellarin alpha 20-Sulfate analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2002, 10(10):3285-3290.
89. Kamiyama H, Kubo Y, Sato H, Yamamoto N, Fukuda T, Ishibashi F, Iwao M: Synthesis, structure-activity relationships, and mechanism of action of anti-HIV-1 lamellarin α 20-sulfate analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2011, 19(24):7541-7550.
90. De Clercq E: Current lead natural products for the chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Medical Research Reviews* 2000, 20(5):323-349.
91. Hazuda D, Blau CU, Felock P, Hastings J, Pramanik B, Wolfe A, Bushman F, Farnet C, Goetz M, Williams M, Silverman K, Lingham R, Singh S: Isolation and characterization of novel human immunodeficiency virus integrase inhibitors from fungal metabolites. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy* 1999, 10(2):63-70.
92. Rowley DC, Hansen MS, Rhodes D, Sotriffer CA, Ni H, McCammon JA, Bushman FD, Fenical W: Thalassiolins A-C: new marine-derived inhibitors of HIV cDNA integrase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2002, 10(11):3619-3625.
93. Deprez E, Barbe S, Kolaski M, Leh H, Zouhiri F, Auclair C, Brochon JC, Le Bret M, Mouscadet JF: Mechanism of HIV-1 integrase inhibition by styrylquinoline derivatives in vitro. *Molecular Pharmacology* 2004, 65(1):85-98.
94. Mekouar K, Mouscadet JF, Desmaële D, Subra F, Leh H, Savouré D, Auclair C, d'Angelo J: Styrylquinoline derivatives: a new class of potent HIV-1 integrase inhibitors that block HIV-1 replication in CEM cells. *Journal of Medical Chemistry* 1998, 41(15):2846-2857.
95. Eich E, Pertz H, Kaloga M, Schulz J, Fesen MR, Mazumder A, Pommier Y: (-)-Arctigenin as a lead structure for inhibitors of human immunodeficiency virus type-1 integrase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 1996, 39(1):86-95.
96. Carteau S, Mouscadet JF, Goulaouic H, Subra F, Auclair C: Effect of topoisomerase inhibitors on the in vitro HIV DNA integration reaction. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993, 192(3):1409-1414.
97. Fesen MR, Kohn KW, Leteurtre F, Pommier Y: Inhibitors of human immunodeficiency virus integrase. *Proceedings of National Academy of Sciences U S A.* 1993, 90(6):2399-2403.
98. Weinberg JB, Shugars DC, Sherman PA, Sauls DL, Fyfe JA: Cobalamin inhibition of HIV-1 integrase and integration of HIV-1 DNA into cellular DNA. *Biochemistry and Biophys Research Communications* 1998, 246(2):393-397.
99. Weinberg JB, Sauls DL, Misukonis MA, Shugars DC: Inhibition of productive human immunodeficiency virus-1 infection by cobalamins. *Blood* 1995, 86(4):1281-1287.
100. Bacchi A, Carcelli M, Compari C, Fiscaro E, Pala N, Rispoli G, Rogolino D, Sanchez TW, Sechi M, Sinisi V, Neamati N: Investigating the role of metal chelation in HIV-1 integrase strand transfer inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* 2011, 54(24):8407-8420.

101. Hazuda DJ, Felock PJ, Hastings JC, Pramanik B, Wolfe AL: Differential divalent cation requirements uncouple the assembly and catalytic reactions of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *Journal of Virology* 1997, 71(9):7005-7011.
102. Chang EL, Simmers C, Knight DA. Cobalt Complexes as Antiviral and Antibacterial Agents. *Pharmaceuticals* 2010, 3:1711-1728.
103. Kowalska JD, Oprea C, de Witt S, Pozniak A, Gökengin D, Youle M, Lundgren JD, Horban A; ECEE Network Group: Euroguidelines in Central and Eastern Europe (ECEE) conference and the Warsaw Declaration - a comprehensive meeting report. *HIV Medicine* 2016. doi: 10.1111/hiv.12436 (basımda).
104. Vandegraaff N, Kumar R, Hocking H, Burke TR Jr, Mills J, Rhodes D, Burrell CJ, Li P: Specific inhibition of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) integration in cell culture: putative inhibitors of HIV-1 integrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001, 45(9):2510-2516.
105. Esté JA, Cabrera C, Schols D, Cherepanov P, Gutierrez A, Witvrouw M, Pannecouque C, Debyser Z, Rando RF, Clotet B, Desmyter J, De Clercq E: Human immunodeficiency virus glycoprotein gp120 as the primary target for the antiviral action of AR177 (Zintevir). *Molecular Pharmacology* 1998, 53(2):340-345.
106. Bodiwala HS, Sabde S, Gupta P, Mukherjee R, Kumar R, Garg P, Bhutani KK, Mitran D, Singh IP: Design and synthesis of caffeoyl-anilides as portmanteau inhibitors of HIV-1 integrase and CCR5. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2011, 19(3):1256-1263.
107. Koh Y, Haim H, Engelman A: Identification and characterization of persistent intracellular human immunodeficiency virus type 1 integrase strand transfer inhibitor activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2011, 55(1):42-49.
108. Manyeruke MH, Olomola TO, Majumder S, Abrahams S, Isaacs M, Mautsa N, Mosebi S, Mnkandhla D, Hewer R, Hoppe HC, Klein R, Kaye PT: Synthesis and evaluation of 3-hydroxy-3-phenylpropanoate ester-AZT conjugates as potential dual-action HIV-1 Integrase and Reverse Transcriptase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2015, 23(24):7521-7528.