

るような行動をとらず、状況をアセスメントした上で、必要な連携の形を吟味していることが推察された。

さらに有事例者のみに対して、保健師や地域権利擁護専門員を対象に信頼性妥当性があるとされる筒井の4領域15項目にわたる地域連携活動尺度を援用した。その結果 HIV/AIDS へのメゾレベルへの介入行動としての連携活動は、地域に軸足を置くコミュニティワーカーとしての保健師や、権利擁護専門員とは異なる連携の型を持っていることが考えられた。それは病院内に軸足を置きながら、組織の人間として地域や組織をアセスメントし、組織の代表として地域と繋がっていかうとする行動と関連があるように考えられた。この点の具体的な確認作業が今後の課題であると考えられる。

病院機能分化 地域医療連携 地域連携活動尺度 医療ソーシャルワーカー HIV/AIDS

## I はじめに

病院の機能分化と地域連携の促進は効率的な医療財資源の使用をめざしている。病院に所属する医療ソーシャルワーカーの業務は、その機能分化の流れに大きく左右されており、退院支援および地域との連携業務が大きな焦点となっている。特定機能、急性期、回復期、療養型といった病院機能の相違と急性期から慢性期への一方向の流れは、主に脳卒中を中心とした高齢退行性疾患に対応する機能分化である。しかしそれ以外の疾患に対しても、拠点病院の指定と非拠点病院との連携といった地域の仕組みで対応するようになってきた。第5次医療法改正で疾患別・事業別の医療連携が注目され、4疾患5事業として、脳卒中以外に癌や心筋梗塞、小児、災害、へき地といった対象に対し、連携システムが整備され始めた。この間医療ソーシャルワーカーは総合相談室ではなく地域連携室に配置されるようになり、病院機能の純化・促進役として、社会的に期待されることが多くなった。しかしその連携に関する業務行動のあり方については、ミクロの対人支援のレベルでは、病院スタッフとして機能分化の促進役であり、患者側の生活の継続性を大切にす専門職志向との間で板挟みになりがちであることが指摘されている<sup>(1)</sup>。

一方それらの拠点病院の指定およびシステム整備に先行して、HIV/AIDSの領域では平成15年度より国指定のブロック拠点病院、都道府県指定による地域中核拠点病院に分類された。従来からこの領域の医療は特定の病院に患者が集中し、また偏見・差別を畏れた患者が地元を嫌って遠方に通うなど、システムティックな地域分担ができにくいといった問題があった。また入院よりも外来での対応数および受療ニーズが圧倒的に多く、若者が多い患者の生活実態の多様さや見えにくさから、受療行動の維持をサポートしにくいことなどが、機能分化と連携の課題としてあげられている<sup>(2)</sup>。

さらに HIV/AIDS が新薬開発等により「死に至る病」から慢性疾患となり、患者は長期間継続して、地域で社会生活を送ることが大きな課題となってきた。そこで拠点病院内および周辺機関との「線の連携」のみならず、地域の非拠点病院や診療所、医療の他、介護・福祉機関や施設

との「面の連携」として、メゾレベルの介入である地域連携を行う必要性が大きくなってきた<sup>(3)</sup>。そして地域の側からは、患者の高齢化や合併障害、疾病の進行、重度化により、感染症としての HIV/AIDS の治療ケアと、通常的生活介護サービスとの両立が地域資源に求められることにより、中核拠点病院に協力する例が多くなってきた。しかし地域施設・機関がサービス提供を拒否・制限するなど、権利侵害などの事例も散見され、そうした面でもミクロの直接支援のみならず、メゾレベルの地域連携を行う医療ソーシャルワーカーの姿勢や活動手法が問われている。

本調査では、HIV/AIDS 医療体制整備に関する医療ソーシャルワーカーの地域連携の実態とその方法をとらえる。さらに医療ソーシャルワーカーが、地域連携のあり方をどのように考え、どのような手法を持ち、連携に取り組んでいるのかについてデータを得ることは、保健医療領域におけるソーシャルワークの地域活動による「連携」のあり方とその方法論を検討するための基礎資料となると考える。

## II 調査目的

HIV/AIDS 患者が、地域で安定した保健・医療・福祉・介護サービスを受けられるよう、日頃行っている、組織や地域に対する介入であるメゾレベルの連携行動をとらえることで、医療ソーシャルワーカーの地域連携のあり方に対する認識や方法の実際を把握することを目的とした。

本論で使用する地域連携行動とは、様々な連携に関する見解がある中<sup>(4)(5)</sup>で、「異なる専門職や機関・組織が、地域で生じる問題のよりよい解決のために、共通の目的をもち、情報の共有化を図り、協力できるようにする体制づくりのためのメゾレベルの介入行動」と定義した。

## III 調査方法

平成 20 年度における HIV/AIDS の全国のブロック拠点（国指定 14 カ所）および中核拠点（都道府県指定 48 カ所）病院、および診療拠点（契約 310 カ所）病院の合計 368 カ所（ブロックと中核の二重指定 4 カ所）に所属する医療ソーシャルワーカー 368 名と、日本医療社会事業協会に所属しており、かつ拠点に指定・契約していない非拠点病院のソーシャルワーカーのうち、多層抽出法による 800 名を対象に、郵送調査を 2008 年 12 月 15 日～09 年 1 月 15 日にわたって行った。

調査内容は、1) 基本属性（性別、年齢、ソーシャルワーク経験年数、HIV/AIDS に対するソーシャルワーク（以下 HIV-SW）経験年数、経験事例件数、所属部門、雇用形態、役職、所持資格、最終学歴、教育背景）、2) HIV-SW に関する基本情報（HIV 学習経験、HIV-SW の関心領域、チームレベルの連携活動の内容と程度、連携経験、担当事例総数）、3) HIV-SW における地域連携活動尺度（4 領域 15 項目）である。

HIV 医療は患者数が少なく特定病院に集中する特徴があることから、患者数が多い拠点病院

と患者数が少ない非拠点の群に二分し比較することによって、日本における HIV-SW の現状ととくにソーシャルワーカーとしての連携の手法に関して、その特徴を描いた。これら2グループの表記は、拠点病院と非拠点病院とした。

また調査に使用した連携活動尺度は、筒井らが『地域福祉権利擁護事業に携わる「専門員」の連携活動の実態と「連携活動評価尺度」の開発』<sup>6)</sup> で使用したものであり、その後『全国の市区町村保健師における「連携」の実態に関する研究』<sup>7)</sup> で追試された。連携得点の平均と構成概念としての4因子(①情報共有 ②業務協力 ③関係職種との交流 ④連携業務の処理と管理)の確認がなされており、隣接職種の連携行動との比較をすることで HIV/AIDS 医療体制におけるソーシャルワーカーの連携の内実を検討することができる。なお保健師や地域権利擁護事業担当者に対する4領域15項目の連携尺度の信頼性、妥当性は、下位尺度によっては信頼性にやや検討の余地が残されているもののおおむね良好<sup>8)</sup> という結果を得ている。

倫理的配慮として、調査票の巻頭に研究の主旨と、調査内容は統計的に処理し、研究の目的以外使わない旨を明記した。また調査票の不備に対する追加聴取を想定し、原則記名で依頼したが、無記名でもかまわない旨のことわりをおこなった。

#### IV 調査結果と考察

##### 1. 回収率等

拠点病院 187 名(回収率 50.8%)、非拠点病院 344 名(同 43.0%) から回答を得た。ただし HIV/AIDS 患者に、回答した全てのソーシャルワーカーが出会う体験をしている訳ではなく、事例を受け持った体験のある人の割合は、拠点病院で 133 名(74.3%) 非拠点病院では 58 名(16.9%) であった。ただし体験のないものも調査に回答した点から、HIV-SW に対する興味と関心の比較的高い医療ソーシャルワーカーの集団と見ることができる。

そこで基本属性および HIV-SW の実態とそのあり方についての項目は回答者全体、合計 539 名に対して、拠点・非拠点の比較分析を行った。さらに実際の連携活動に関わる尺度の援用については、203 名の経験者集団のみをとりあげて分析し分けた。なお属性項目によって、有効回答数が異なっているために、合計数が異なっている。

##### 2. 基本属性

###### 1) 性別

男女比は 3:7 で、日本医療社会事業協会の会員調査(2008)と比較し、やや男性が多い集団であり、かつ拠点病院の方が非拠点病院に比較して 10% レベルで女性に高い有意差が見られた。なお拠点病院のソーシャルワーカーも、医療ソーシャルワーカーの職能団体である日本医療社会事業協会に所属しているものが多い。つまり回答者群は、専門職団体である協会の平均よりも、拠点病院では女性の比率が高く、非拠点病院では男性の比率が高い。

表 1 病院種別と性別

	男 性	女 性	合 計
拠点病院	48 (25.7)	139 (74.3)	187 (100)
非拠点病院	116 (33.7)	228 (66.3)	344 (100)
合 計 (%)	164 (30.9)	367 (69.1)	531 (100)

p<.055

2) 年 齢

年齢構成は 20 代が全体の 4 分の 1, 30 代が 4 割近くと比較的若い集団である。しかし 40 代以上の中堅ベテラン層が 4 割以上あり、拠点病院と非拠点病院との間での有意差はなかった。

3) 最終学歴

大学卒以上が 9 割を超え、社会福祉職の集団としては高学歴である。しかし日本医療社会事業会員調査との差異はなく、さらに拠点病院・非拠点病院での有意差はなかった。

4) 経験年数

経験年数を中央値で分けて 2 グループを作成した。経験年数が短いグループと経験年数が長いグループである。この結果、1%レベルで有意差が確認された。従って、拠点病院で働くソーシャルワーカーは非拠点病院で働くソーシャルワーカーより明らかに経験年数が短い比率が高いという結果であった。

表 2 年齢階層

年 齢	人数 (%)
20 代	137 (25.4)
30 代	213 (39.5)
40 代	109 (20.1)
50 代	77 (14.2)
60 代以上	3 (0.6)
合 計	539 (100)

表 3 最終学歴

最終学校	人数 (%)
大 学 院	28 (5.2)
大 学	465 (85.8)
短大・高専	17 (3.1)
専 門 学 校	24 (4.4)
そ の 他	5 (0.9)
合 計	539 (100)

表 4 病院種別と経験年数

	経験 0-9 年	経験 10 年以上	合 計
拠点病院	117 (62.2)	71 (37.8)	188 (100)
非拠点病院	162 (47.4)	180 (52.6)	342 (100)
合 計 (%)	279 (52.6)	251 (47.4)	530 (100)

p<.001

表5 病院種別と資格

資格		有意差	拠点／非拠点
社会福祉士		—	
精神保健福祉士	**	p<.004>	拠点>非拠点
介護支援専門員	**	p<.001>	拠点>非拠点
臨床心理士		—	
社会福祉主事		—	
介護福祉士		—	

5) 資格

資格に関して、社会福祉士資格は全体で78.3%が所持し、拠点病院と非拠点病院との間に有意差はなかった。精神保健福祉士(29.1%)、介護支援専門員(47.1%)の資格で、拠点の方が多い有意差がみられた。社会福祉士に関してはほぼ同じ割合であったが、これは日本医療社会事業協会会員調査とほぼ同じ割合であるが、社会福祉の専門職集団としては資格所持率が非常に高い。

6) HIVの事例体験件数

HIVの事例に出会った件数で2種類の比較を試みた。出会った経験の有無2グループと拠点病院と非拠点病院で検定したものである。次に、経験がない人を除いて、経験事例件数の中央値で2グループを作成し、同様の検定を試みた。

HIV感染症患者に出会ったことがあると回答した拠点病院ソーシャルワーカーの比率が有意に高く、また出会ったことがない非拠点病院ソーシャルワーカーの比率も有意に高かった。しかし患者が拠点病院に集中している中で、拠点病院ソーシャルワーカーの46名(25.7%)が、HIV感染症患者の事例と出会ったことがなく、逆に非拠点病院のソーシャルワーカーの58名

表6 病院種別と経験の有無

	経験なし	経験あり	合計
拠点病院	46 (25.7)	133 (74.3)	179 (100)
非拠点病院	285 (83.1)	58 (16.9)	343 (100)
合計 (%)	331 (63.1)	191 (36.6)	522 (100)

p<.000

表7 病院種別と経験件数

	4事例まで	5事例以上	合計
拠点病院	52 (39.1)	81 (60.9)	133 (100)
非拠点病院	44 (75.9)	14 (24.1)	58 (100)
合計 (%)	96 (50.3)	95 (49.7)	191 (100)

p<.000

表 8 病院種別と HIV-SW 経験年数

	経過 0-5 年	経過 6 年以上	合 計
拠点病院	98 (68.1)	46 (31.9)	144 (100)
非拠点病院	32 (54.2)	27 (45.8)	59 (100)
合 計 (%)	130 (64.0)	73 (36.0)	203 (100)

p&lt;.062

(16.9%) が、またそのうち 5 事例以上体験したとする 16 名が HIV/AIDS 患者に出会い、実際ソーシャルワーク介入をしている点、今後の拠点と非拠点を含めた関係機関について地域連携との関係で着目すべきであろう。

### 7) HIV-SW 実践経過年数

最初に HIV-SW を実践してからの経過年数を中核施設・拠点病院とその他の病院の比率を決定したものが上の表である。中核施設・拠点病院 SW の経過年数の短い割合が高い傾向にあり、非拠点病院は経過年数が長い人の割合が高い傾向にあった。これは拠点病院のソーシャルワーカーの年齢が若いことと連動していることが考えられる。

### 3. HIV-SW のチーム組織レベルの連携について

HIV-SW の個別事例から組織への展開を行うマイクロからメゾレベルの連携行動について、HIV-SW 経験の有無を問わず、その組織やチームレベルの連携に関する基礎的な認識とアセスメントの視点及びその動き方について聞いた。聴取項目は 7 項目である。この項目は HIV/AIDS 患者の事例体験者 3 名に対して、「HIV-SW のチームワークを実施するにあたって、重要なものは何か」とするリサーチクエスションをたて、フォーカスグループインタビューによって抽出した項目である。

その結果は拠点・非拠点、および HIV-SW 経験の有無によって回答の次元が異なることが考えられるため、回答の質が変化することを考慮しつつグループ別にみていった。

表 9 病院種別と HIV-SW 経験の有無と連携行動

連 携 行 動	拠点/非拠点	経験の有無
事務的うち合わせ以外の関係機関との連携	φ	***
職場の上司への相談できる雰囲気	***	***
外部機関や専門家への相談	***	***
地域連携への職場の応援	***	—
組織内紹介ルートの確保	***	***
HIV に関するスタッフの理解	***	***

φ p&lt;.1    \*p&lt;.05    \*\*p&lt;.01    \*\*\*p&lt;.000

1) 事務的うち合わせ以外の関係機関との連携

うち合わせ以外の関係機関との連携については、非拠点、また事例体験なし群の方が、行う又は行うであろうと答えている。これは HIV-SW 活動実態としては、うち合わせ以外の関係機関との連携活動を実施していない傾向があるとの結果である。実際は事務的うち合わせや調整で完結するミクロレベルの連携が主に行われていることが考えられる。事例によっては、それで十分な場合もあり早計な判断は下せないが、メゾレベルの地域連携を視野に入れた実践が行われにくい実態があることも考えられる。

2) 上司へ相談できる雰囲気

拠点および有事例のソーシャルワーカーの群が有意に多かった。これはこれらの群の方が従来相談してきたソーシャルワーカー側の実績や相談に足る能力等の下地があることが推察される。

3) 外部機関や専門家への相談

拠点および有事例の群は「相談しない」が有意に高かった。これはこれらの群は問題が生じた場合すぐに相談すると言うよりも、相談するかしないかの見立てをもって、しなくても活動が可能になっているということ、また非拠点および無事例群は、外部に相談しないと支援が始まらないと考えていることが考えられる。いずれにしても HIV-SW の特殊性の認識が基底にあると考えられる。

4) 地域連携への職場の応援

拠点の方が非拠点よりもその応援態勢が有意に積極的であった。しかし事例の有無には関連がなかった。この設問のみ拠点と有事例とが分かれた。これは有事例が組織の支援のない中で活動を行っていることを示すと共に、拠点という組織的認識が有効であること。そして非拠点、無事例群のこたえにあらわれているように、事例がないと応援態勢が整わない、事例を体験しつつ周囲の応援を得ようとする認識が存在することが分かる。

5) 組織内紹介ルートの確保

拠点と有事例双方でルートが確保されていることが分かった。その点非拠点でも無事例でも自分の病院では HIV/AIDS 事例が見逃され、ソーシャルワーカーのところまで来ないとソーシャルワーカー自身が考えている可能性があることが分かった。

6) HIV-SW に関するスタッフの理解

拠点および有事例の非拠点ソーシャルワーカーの両者とも有意に高いことが分かった。これは HIV/AIDS に関する専門家チームの存在がある中で、HIV-SW との協働体験がスタッフの理解をすすませる可能性が高いことが分かる。

## 4. HIV-SW への地域連携活動尺度の援用について

筒井が保健師と地域権利擁護事業専門員に対して用いた地域連携活動尺度を、HIV-SW を体験したと答えた拠点・非拠点の医療ソーシャルワーカー 191 名に対して援用し、連携活動の検討を行った。単純集計結果は表 10 の通りである。

さらに無回答を除外し、因子分析を実施した（表 11・12）。因子分析は主因子法、バリマックス回転を用いた。項目を調整し因子数 2 から始めて因子数 4 まで順次試行し、それぞれの回転後の因子負荷行列を得たが、最適解を得たのは因子数 3 であった。

表 10 HIV-SW の連携行動の実態

連 携 行 動	全くしない	あまりしない	必要に応じて	いつもする
分担して支援した時の他機関への報告	2	5	168	19
他機関からのサービスの把握	1	9	161	23
サービス提供に必要な他機関からの知識と情報収集	14	30	134	6
他機関へのサービスプログラムの提言	8	30	150	6
HIV-SW の推進に他機関からの協力要請	1	7	164	22
他の専門職の会議への参加	11	45	76	3
関連機関の実務者から機関の実態について聞く	12	41	129	12
関連他機関にいる専門職の把握	8	45	120	20
事例検討会参加についての同僚への呼びかけ	13	38	112	30
関連機関や他の職種の懇親会への参加	16	49	114	13
新規採用された場合に関連機関への挨拶	82	42	60	8
自分の判断で費用負担の決定権限	134	26	27	5
自分の業務内容の他機関への資料配付	53	53	80	8
複数の機関で集めた情報の管理	28	26	98	40

表 11 項目の共通性

連携行動項目	初期	因子抽出後
分担して支援した時の他機関への報告	1	0.516
他機関からのサービスの把握	1	0.532
サービス提供に必要な他機関からの知識と情報収集	1	0.454
HIV-SW の推進に他機関からの協力要請	1	0.381
関連機関の実務者から機関の実態について聞く	1	0.618
関連他機関にいる専門職の把握	1	0.609
新規採用された場合に関連機関への挨拶	1	0.467
自分の業務内容の他機関への資料配付	1	0.676
複数の機関で集めた情報の管理	1	0.498
他機関からの協力要請に応える	1	0.39



表 12 HIV-SW の連携に関わる因子分析

連 携 行 動 項 目	成 分		
	1	2	3
関連機関の実務者から機関の実態について聞く	.762	.159	.110
関連他機関にいる専門職の把握	.747	.212	.076
サービス提供に必要な他機関からの知識と情報の収集	.631	.015	.234
他機関からの協力要請に応える	.609	.027	-.138
自分の業務内容の他機関への資料配付	.059	.818	.057
複数の機関で集めた情報の管理	.113	.685	.129
新規採用された場合に関連機関への挨拶	.157	.665	-.014
分担して支援した時の他機関への報告	.091	.080	.708
他機関からのサービスの把握	.137	-.117	.706
HIV-SW の推進に他機関からの協力要請	-.070	.287	.542

因子抽出法：主成分分析

回転法：Kaiser の正規化を伴うバリマックス法

因子数 3 の回転後の因子負荷行列、共通性、固有値、累積寄与率等を確認した。第 1 因子は「関連機関の実務者から機関の実態について聞く」「関連機関にいる専門職の把握」「他機関からの情報収集」「他機関からの協力要請」の項目に大きな負荷を持ち、第 2 因子は「自分の業務内容の資料を他機関にも配布する」「複数の機関で集めた情報を管理する」、第 3 因子は「分担で支援した時のその機関への報告」「他機関からのサービスの把握」にそれぞれ大きな因子負荷を持った。

このことから第 1 因子は「関連機関アセスメント行動」、第 2 因子は「情報流通・管理行動」、第 3 因子は「連携の巻き込み行動」と命名した。しかし各因子の信頼性を検定した結果、第 1 因子、第 2 因子では、信頼性が確認されたが、Cronbach の  $\alpha$  係数が第 1 因子 (.634)、第 2 因子 (.608) と十分な信頼性が確保されたわけではない。尺度として使えるという程度であった。また、第 3 因子では  $\alpha$  係数が (.395) と信頼性が確認できなかった。

以上のことから筒井の連携行動尺度を HIV-SW の地域連携に援用したが、医療ソーシャルワーカーの HIV-AIDS に対するメゾからマクロレベルの連携行動の実態とは、異なるものがあると考えられた。保健師の地域連携業務では、4 因子 ①情報共有 ②業務協力 ③関係職種との交流 ④連携業務の処理と管理とに分かれていた。しかし医療ソーシャルワーカーでは、第 1 因子では情報共有や業務協力以上に、関係機関に対するアセスメントとして、情報収集の上の資源のアセスメントのための行動があるのではないかと推察される。第 2 因子では情報交流と管理として、関係機関や関係職種との協力や情報共有が、機関と職種を問わず同一の範疇でとらえられているのではないかと考えられた。また第 3 因子では信頼性が十分確保できなかったが、連携のための巻き込み行動として、ネットワーキング様の行動要素が入る可能性が考えられる。

## V まとめ

HIV/AIDS 医療体制整備事業の大きな目的の一つは、拠点間また拠点・非拠点間の地域医療連携体制づくりである。そこでは医療ソーシャルワーカーには、効率的医療のためミクロの個別事例に対する支援のための連携のみならず、組織や地域に介入するメゾからマクロレベルの連携活動が必要とされる。

そこで HIV/AIDS に対する医療ソーシャルワーカーの地域連携活動についての認識とその実態について、全国の全拠点病院（368 名）、非拠点病院（800 名）のソーシャルワーカーに対して量的調査を平成 20 年 12 月から 21 年 1 月にかけておこなった。回収率は前者 50.8%で、後者で 43.8%であった。

調査の結果、回答を行った拠点病院の 75%のソーシャルワーカーは HIV/AIDS 事例を有しており、非拠点病院のソーシャルワーカーの 15%も HIV/AIDS 事例を体験していた。調査対象とした拠点および非拠点病院のソーシャルワーカーの集団は、専門職団体である日本医療社会事業協会会員とほぼ同じ基本属性を持ち、性別で 8 割弱が女性、8 割弱が社会福祉士資格をもち、拠点病院ではさらに精神保健福祉士や介護支援専門員資格も 2~3 割程度と有意に多く持っていた。しかし経験年数は非拠点病院よりも有意に少なく、比較的若年層が多かった。

HIV/AIDS 拠点および有事例者集団の連携行動の特徴は、メゾのチーム・組織レベルでの認知や理解は得られており、また経験を積んでいることによって、外部との連絡を自分なりに吟味して動き出すという専門職としての自律性を有していることが分かった。また事例経験のないソーシャルワーカーほど、他組織との連携の必要を強調しているが、経験を積めば積むほど、拠点病院として他のスタッフや組織的な認知が深まっていると思われる状況では、むやみに他と連携するような行動はとらず、状況をアセスメントした上で、必要な連携をとっていることが推察された。

さらに有事例者のみに対して、保健師や地域権利擁護専門員に対して信頼性妥当性があるとされる筒井の 4 領域 15 項目にわたる地域連携活動尺度を援用した。その結果 HIV/AIDS へのメゾレベルへの介入行動としての連携活動は、地域に軸足を置くコミュニティワーカーとしての保健師や、権利擁護専門員とは異なる連携の型を持っていることが考えられた。それは病院内に軸足を置きながら、組織の人間として地域をアセスメントし、組織の代表として地域と繋がっていかこうとする行動と関連があるように考えられた。この点の具体的な行動別の確認作業が今後の課題であると考えられる。

本研究・調査は平成 20 年度厚生労働省科学研究費補助金事業『HIV 感染症の医療体制整備に関する研究（研究代表者 濱口元洋）』『MSW の立場から（研究分担者 田中千枝子）』にもとづいて行われた。

引用文献

- (1) 漆畑真人「患者の権利擁護を考える」『医療ソーシャルワーク』東京都医療社会事業協会 56 2006 pp39-42
- (2) 小西加保留「ソーシャルワークにおけるアドボカシー」ミネルヴァ書房, 2007 p96
- (3) 田中千枝子「地域の保健医療ネットワーク構築のための連携方法と基礎知識」『保健医療サービス』中央法規 2009 p112
- (4) 田城孝雄「21 世紀の医療連携」『地域医療連携』日総研, 2006 p10  
田城は医療を柱にした地域連携を唱え, 系統的システムティックな医療供給体制の整備を地域連携の課題とした。
- (5) 筒井孝子, 東野定律「全国の市区町村保健師における「連携」の実態に関する研究」日本公衆衛生雑誌, 53 巻, 10 号, 2006 pp763  
筒井は「連携」を「異なる専門職や機関（もしくは組織）が, よりよい課題解決のために, 共通の目的を持ち, 情報の共有化をはかり, 協力し合い活動すること」と定義しているが, その連携尺度は個別のミクロレベルではなく組織や地域のメゾ・マクロレベルを測るようになっており, 地域連携としてシステムづくりのための下準備の行動ととることができる。
- (6) 筒井孝子「地域福祉権利擁護事業に携わる「専門員」の連携活動の実態と「連携活動評価尺度」の開発」上下, 社会保険旬報, No.2 (8) PP18-24 No. 2184 PP24-28 2003
- (7) 筒井孝子, 東野定律「全国の市区町村保健師における「連携」の実態に関する研究」日本公衆衛生雑誌, 53 巻, 10 号, 2006 pp762-776
- (8) 筒井孝子, 大井田隆『介護サービスにおける権利擁護の行政的評価に関する研究』厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）平成 14 年度 研究報告書 2002 P73



## Synthesis and biological evaluation of novel allophenylnorstatine-based HIV-1 protease inhibitors incorporating high affinity P2-ligands

Arun K. Ghosh<sup>a,\*</sup>, Sandra Gemma<sup>a</sup>, Elena Simoni<sup>a</sup>, Abigail Baldrige<sup>a</sup>, D. Eric Walters<sup>b</sup>, Kazuhiko Ide<sup>c</sup>, Yasushi Tojo<sup>c</sup>, Yasuhiro Koh<sup>c</sup>, Masayuki Amano<sup>c</sup>, Hiroaki Mitsuya<sup>c,d</sup>

<sup>a</sup> Departments of Chemistry and Medicinal Chemistry, Purdue University, West Lafayette, IN 47907, United States

<sup>b</sup> Departments of Biochemistry and Molecular Biology, Rosalind Franklin University of Medicine and Science, North Chicago, IL 60064, United States

<sup>c</sup> Departments of Hematology and Infectious Diseases, Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto 860-8556, Japan

<sup>d</sup> Experimental Retrovirology Section, HIV and AIDS Malignancy Branch, National Cancer Institute, Bethesda, MD 20892, United States

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 19 October 2009

Revised 20 November 2009

Accepted 23 November 2009

Available online 5 December 2009

#### Keywords:

HIV protease

Inhibitors

Darunavir

Allophenylnorstatine

Design

Synthesis

### ABSTRACT

A series of stereochemically defined cyclic ethers as P2-ligands were incorporated in an allophenylnorstatine-based isostere to provide a new series of HIV-1 protease inhibitors. Inhibitors **3b** and **3c**, containing conformationally constrained cyclic ethers, displayed impressive enzymatic and antiviral properties and represent promising lead compounds for further optimization.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

The introduction of protease inhibitors into highly active anti-retroviral treatment (HAART) regimens with reverse transcriptase inhibitors represented a major breakthrough in AIDS chemotherapy.<sup>1</sup> This combination therapy has significantly increased life expectancy, and greatly improved the course of HIV management. Therapeutic inhibition of HIV-1 protease leads to morphologically immature and noninfectious viral particles.<sup>2</sup> However, under the selective pressure of chemotherapeutics, rapid adaptation of viral enzymes generates strains resistant to one or more antiviral agents.<sup>3</sup> As a consequence, a growing number of HIV/AIDS patients harbor multidrug-resistant HIV strains. There is ample evidence that such strains can be readily transmitted.<sup>4</sup> Therefore, one of the major current therapeutic objectives has been to develop novel protease inhibitors (PIs) with broad-spectrum activity against multidrug-resistant HIV-1 variants. In our continuing interest in developing concepts and strategies to combat drug-resistance, we have reported a series of novel PIs including Darunavir, TMC-126, GRL-06579, and GRL-02031.<sup>5–8</sup> These inhibitors have shown exceedingly potent enzyme inhibitory and antiviral activity as well as exceptional broad spectrum activity against highly cross-resistant mutants. Darunavir, which incorporates a (*R*)-(hydroxymethyl)-sulfonamide isostere and a stereochemically defined bis-tetrahy-

drofuran (bis-THF) as the P2-ligand, was initially approved for the treatment of patients with drug-resistant HIV and more recently, it has been approved for all HIV/AIDS patients including pediatrics<sup>9</sup> (Fig. 1).

Darunavir was designed based upon the 'backbone binding' concept developed in our laboratories. Darunavir-bound X-ray structure revealed extensive hydrogen bonding with the protease backbone throughout the enzyme active site.<sup>10</sup> The P2-bis-THF ligand is responsible for its superior drug-resistance properties. The bis-THF ligand has been documented as a privileged ligand for the S2-subsite. Incorporation of this ligand into other transition-state isosteres also resulted in significant potency enhancement.<sup>11</sup> Besides 3(*S*)-THF, and [3*aS*,5*S*,6*R*]-bis-THF, we have designed a number of other novel cyclic ether-based high affinity ligands. Incorporation of these ligands in (*R*)-(hydroxyethyl)-sulfonamide isosteres provided PIs with excellent potency and drug-resistance properties.<sup>6–8</sup> We then investigated the potential of these structure-based designed P2-ligands in a KNI-764-derived isostere designed by Mimoto and co-workers.<sup>12</sup> This PI incorporates an allophenylnorstatine isostere. Interestingly, KNI-764 has maintained good activity against HIV-1 clinical strains resistant to several FDA-approved PIs. The flexible *N*-(2-methyl benzyl) amide P2'-ligand may have been responsible for its activity against drug-resistant HIV-1 strains as the flexible chain allows better adaptability to mutations.<sup>12,13</sup> The bis-THF and other structure-based designed P2-ligands, make several critical

\* Corresponding author. Tel.: +1 765 494 5323; fax: +1 765 496 1612.  
E-mail address: [akghosh@purdue.edu](mailto:akghosh@purdue.edu) (A.K. Ghosh).

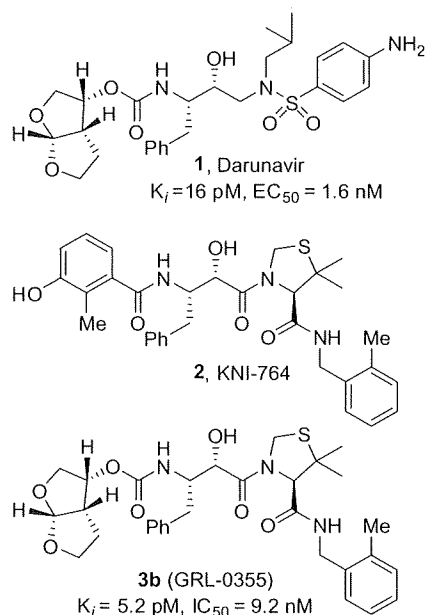
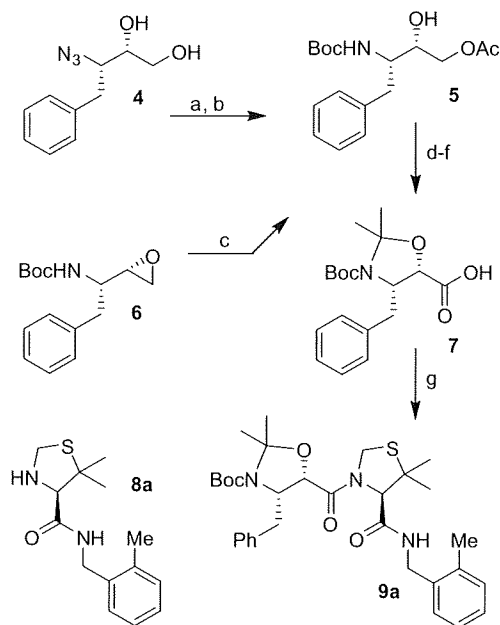


Figure 1. Structures of inhibitors 1, 2, and 3b.

hydrogen bonds with the protein backbone, particularly with Asp-29 and Asp-30 NH's.<sup>11</sup> Therefore, incorporation of these ligands into the KNI-764-derived isostere, may lead to novel PIs with improved potency and efficacy against multidrug-resistant HIV-1 variants. Furthermore, substitution of the P2-phenolic derivative in KNI-764 with a cyclic ether-based ligand could result in improved metabolic stability and pharmacological properties since phenol glucuronide is readily formed when KNI-764 is exposed to human hepatocytes in vitro.<sup>12</sup>

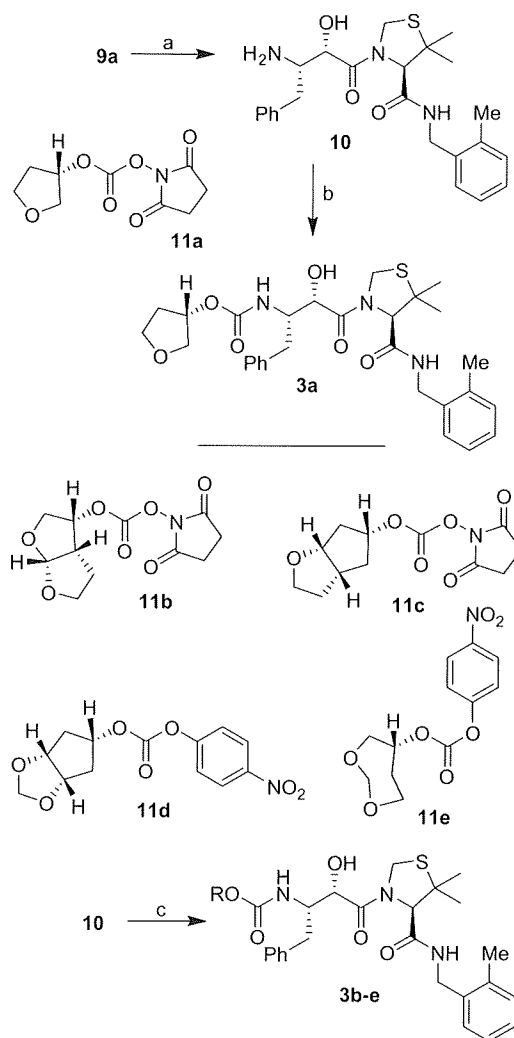
The synthesis of target compounds **3a–e** was accomplished as described in Scheme 1. Our synthetic plan for carboxylic acid **7** (Scheme 1) involved the preparation of the key intermediate **5** through two different synthetic pathways. In the first approach,



Scheme 1. Reagents: (a)  $\text{H}_2$ , Pd/C,  $\text{Boc}_2\text{O}$ , EtOAc; (b)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Pyr, DMAP; (c)  $\text{LiCO}_3$ , AcOH, DMF; (d) 2-methoxypropene, CSA, DCM; (e)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeOH; (f)  $\text{RuCl}_3$ ,  $\text{NaIO}_4$ ,  $\text{CCl}_4$ -MeCN- $\text{H}_2\text{O}$  (2:2:3); (g) *N*-methylmorpholine, *i*BuOCOCl, **8a**, THF.

known optically active azidodiol **4**<sup>14</sup> was first hydrogenated in the presence of  $\text{Boc}_2\text{O}$ . The resulting diol was converted to **5** by selective acylation of the primary alcohol with acetic anhydride in the presence of pyridine and a catalytic amount of DMAP at  $0^\circ\text{C}$  for 4 h to provide **5** in 77% overall yield. As an alternative approach, commercially available optically active epoxide **6** was exposed to lithium acetate, formed in situ from lithium carbonate and acetic acid in DMF. This resulted in the regioselective opening<sup>15</sup> of the epoxide ring and afforded compound **5** in 62% yield. The alcohol **5** thus obtained was protected as the corresponding acetonide by treatment with 2-methoxypropene in the presence of a catalytic amount of CSA. The acetate group was subsequently hydrolyzed in the presence of potassium carbonate in methanol to afford the corresponding alcohol. This was subjected to an oxidation reaction using ruthenium chloride hydrate and sodium periodate in a mixture of aqueous acetonitrile and  $\text{CCl}_4$  at  $23^\circ\text{C}$  for 10 h. This resulted in the formation of the target carboxylic acid **7** in 61% yield. Amide **9a** was prepared by activation of carboxylic acid **7** into the corresponding mixed anhydride by treatment with isobutylchloroformate followed by reaction with amine **8a**.<sup>16,17</sup>

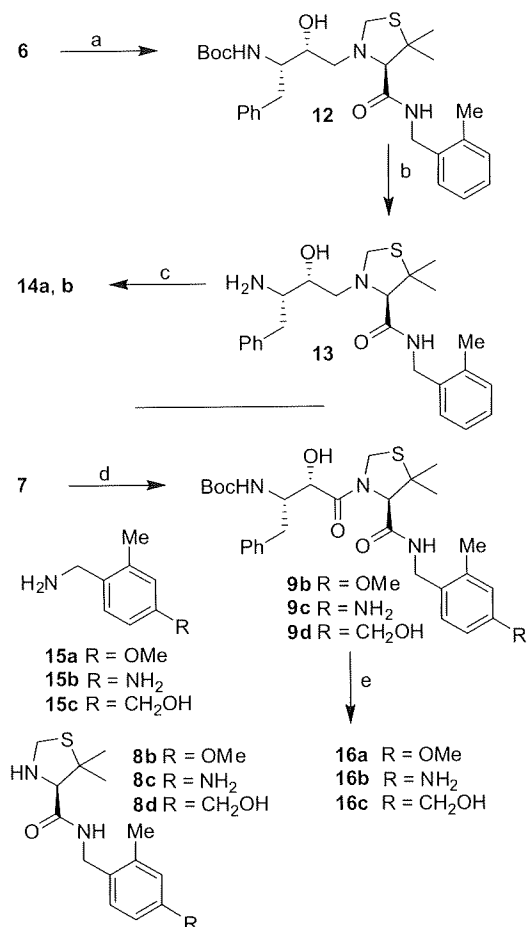
Synthesis of various inhibitors was carried out as shown in Scheme 2. Deprotection of the Boc and acetonide groups was carried out by exposure of **9** to a 1 M solution of hydrochloric acid in methanol at  $23^\circ\text{C}$  for 8 h. This provided amine **10** in quantitative



Scheme 2. Reagents: (a) 1 M HCl, MeOH; (b) **11a**,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (c) **11b,c**,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; or, **11d,e**, DIPEA, THF.

yield. Reaction of **11a** with amine **10** in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  in the presence of  $\text{Et}_3\text{N}$  at  $23^\circ\text{C}$  for 6 h, provided inhibitor **3a** in 62% yield. The 3(*S*)-tetrahydrofuran-2-yl carbonate **11a** was prepared as described previously.<sup>18</sup> Similarly, allophenylnorstatine-based inhibitors **3b–e** were synthesized. As shown, carbonates **11b**,<sup>19</sup> **11c**,<sup>7</sup> and **11d–e**<sup>19</sup> were prepared as previously described. Reaction of these carbonates with amine **10** furnished the desired inhibitors **3b–e** in 45–62% yield.

The syntheses of inhibitors **14a,b** and **16a–c** were carried out as shown in Scheme 3. Inhibitors **14a,b**, containing hydroxyethylamine isostere were prepared by opening epoxide **6** with amine **8a** in the presence of lithium perchlorate in diethyl ether at  $23^\circ\text{C}$  for 5 h to provide amino alcohol **12** in 64% yield. Removal of the Boc-group by exposure to 1 M HCl in MeOH at  $23^\circ\text{C}$  for 12 h afforded amine **13**. Reactions of amine **13** with activated carbonates **11a** and **11b** afforded urethane **14a** and **14b** in 44% and 59% yields, respectively. For the synthesis of inhibitors **16a–c**, commercially available (*R*)-5,5-dimethyl-thiazolidine-4-carboxylic acid was protected as its Boc-derivative. The resulting acid was coupled with amines **15a–c** in the presence of DCC and DMAP in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  to provide the corresponding amides. Removal of the Boc-group by exposure to 30% trifluoroacetic acid afforded **8b–d**. Coupling of these amines with acid **7** as described in Scheme 1, provided the corresponding products **9b–d**. Removal of Boc-group and reactions of the resulting amines with activated carbonate **11b** furnished inhibitors **16a–c** in good yields (55–60%).



**Scheme 3.** Reagents: (a) **8a**,  $\text{Li}(\text{ClO}_4)$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ; (b)  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (c) **11a** or **11b**,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (d) *N*-methylmorpholine, isobutylchloroformate, **8b–d**, THF; (e)  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , then **11b**,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Inhibitors **3a–e** were first evaluated in enzyme inhibitory assay utilizing the protocol described by Toth and Marshall.<sup>20</sup> Compounds that showed potent enzymatic  $K_i$  values were then further evaluated in antiviral assay. The inhibitor structure and potency are shown in Table 1. As shown, incorporation of a stereochemically defined 3(*S*)-tetrahydrofuran ring as the P2-ligand provided inhibitor **3a**, which displayed an enzyme inhibitory potency of 0.2 nM and antiviral  $\text{IC}_{50}$  value of 20 nM. The corresponding derivative **14a** with a hydroxyethylamine isostere exhibited over 400-fold reduction in enzyme inhibitory activity. Introduction of a stereochemically defined bis-THF as the P2-ligand, resulted in inhibitor **3b**, which displayed over 40-fold potency enhancement with respect to **3a**. Inhibitor **3b** displayed a  $K_i$  of 5.2 pM in the enzyme inhibitory assay. Furthermore, compound **3b** has shown an impressive antiviral activity with an  $\text{IC}_{50}$  value of 9 nM. Inhibitor **14b** with hydroxyethylamine isostere is significantly less potent than the corresponding norstatine-derived inhibitor **3b**. Inhibitor **3c** with a (3*aS*, 5*R*, 6*aR*)-5-hydroxy-hexahydrocyclopenta[*b*]furan as the P2-ligand has displayed excellent inhibitory activity, and particularly, antiviral activity, showing an  $\text{IC}_{50}$  value of 13 nM. Other structure-based designed ligands in inhibitors **3d** and **3e** have shown subnanomolar enzyme inhibitory activity. However, inhibitor **3b** with a bis-THF ligand has shown the most impressive activity.

To obtain molecular insight into the possible ligand-binding site interactions, we have created energy-minimized models of a number of inhibitors based upon protein-ligand X-ray structure of KNI-764 (**2**).<sup>21</sup> An overlaid model of **3b** with the X-ray structure of 2-bound HIV-1 protease is shown in Figure 2. This model for inhibitor **3b** was created from the X-ray crystal structure of KNI-764 (**2**)-bound HIV-1 protease (KNI-764, pdb code 1MSM<sup>21</sup>) and the X-ray crystal structure of darunavir (pdb code 2IEN<sup>22</sup>), by combining the P2-end of the darunavir structure with the P2'-end of the KNI-764 structure, followed by 1000 cycles of energy minimization. It appears that both oxygens of the bis-THF ligand are suitably located to form hydrogen bonds with the backbone atoms of Asp-29 and Asp-30 NH's, similar to darunavir-bound HIV-1 protease.<sup>10</sup> Furthermore, the KNI-764-X-ray structure-derived model of **3b** suggested that the incorporation of appropriate substituents on the phenyl ring could interact with Asp-29' and Asp-30' in the S2'-subsite. In particular, it appears that a 4-hydroxymethyl substituent on the P2'-phenyl ring could conceivably interact with backbone Asp-30' NH in the S2'-subsite. Other substituents such as a methoxy group or an amine functionality also appears to be within proximity to Asp-29' and Asp-30' backbone NHs. Based upon these speculations, we incorporated *p*-MeO, *p*-NH<sub>2</sub> and *p*-CH<sub>2</sub>OH substituents on the P2'-phenyl ring of inhibitor **3b**. As shown in Table 1, neither *p*-MeO nor *p*-NH<sub>2</sub> groups improved enzyme inhibitory potency compared to inhibitor **3b**. Of particular note, compound **16a**, displayed a good antiviral potency, possibly suggesting a better penetration through the cell membrane. Inhibitor **16c** with a hydroxymethyl substituent showed sub-nanomolar enzyme inhibitory potency but its antiviral activity was moderate compared to unsubstituted derivative **3b**. As it turned out, inhibitor **3b** is the most potent inhibitor in the series. We subsequently examined its activity against a clinical wild-type X<sub>4</sub>-HIV-1 isolate (HIV-1<sub>ERS104pre</sub>) along with various multidrug-resistant clinical X<sub>4</sub>- and R<sub>5</sub>- HIV-1 isolates using PBMCs as target cells.<sup>5b</sup> As can be seen in Table 2, the potency of **3b** against HIV-1<sub>ER104pre</sub> ( $\text{IC}_{50}$  = 31 nM) was comparable to the FDA approved PI, amprenavir with an  $\text{IC}_{50}$  value of 45 nM. Darunavir and atazanavir on the other hand, are significantly more potent with  $\text{IC}_{50}$  values of 5 nM and 3 nM, respectively. Inhibitor **3b**, while less potent than darunavir, maintained 5-fold or better potency over amprenavir against HIV-1<sub>MDR/C</sub>, HIV-1<sub>MDR/G</sub>, HIV-1<sub>MDR/TM</sub> and HIV-1<sub>MDR/MM</sub>. It maintained over a 2-fold potency against HIV-1<sub>MDR/JSL</sub>. In fact, inhibitor **3b** maintained comparable potency to atazanavir against all

**Table 1**  
Enzymatic inhibitory and antiviral activity of allophenylnorstatine-derived inhibitors

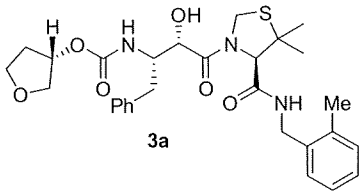
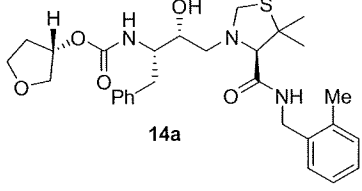
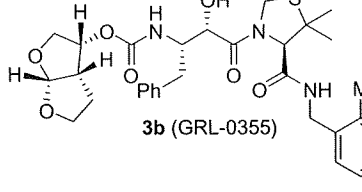
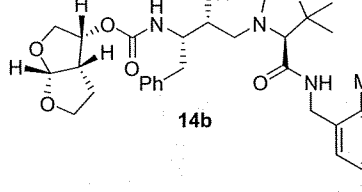
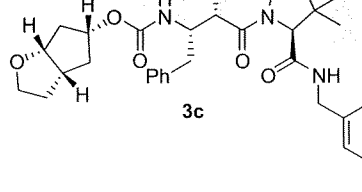
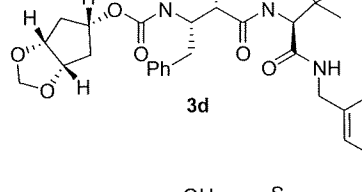
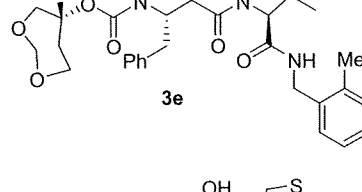
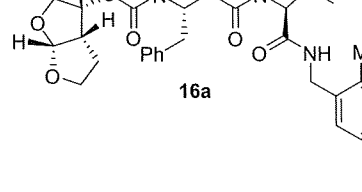
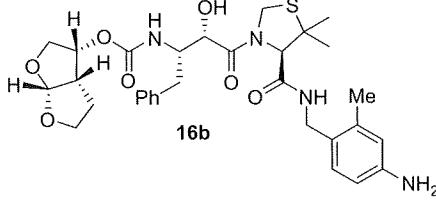
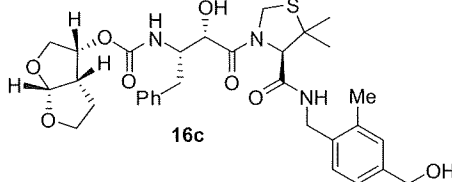
Entry	Inhibitor	$K_i$ (nM)	$IC_{50}^{a,b}$ ( $\mu$ M)
1	 <p><b>3a</b></p>	0.21	0.02
2	 <p><b>14a</b></p>	86.2	nt
3	 <p><b>3b (GRL-0355)</b></p>	0.0052	0.009
4	 <p><b>14b</b></p>	2.6	nt
5	 <p><b>3c</b></p>	0.29	0.013
6	 <p><b>3d</b></p>	0.65	nt
7	 <p><b>3e</b></p>	0.78	nt
8	 <p><b>16a</b></p>	2.03	0.051

Table 1 (continued)

Entry	Inhibitor	$K_i$ (nM)	$IC_{50}^{a,b}$ ( $\mu$ M)
9	 16b	1.01	0.53
10	 16c	0.31	0.23

<sup>a</sup> Values are means of at least three experiments.

<sup>b</sup> Human lymphoid (MT-2) cells were exposed to 100 TCID<sub>50</sub> values of HIV-1<sub>LAI</sub> and cultured in the presence of each PI, and IC<sub>50</sub> values were determined using MTT assay. Darunavir exhibited  $K_i$  = 16 pM, IC<sub>50</sub> = 1.6 nM.

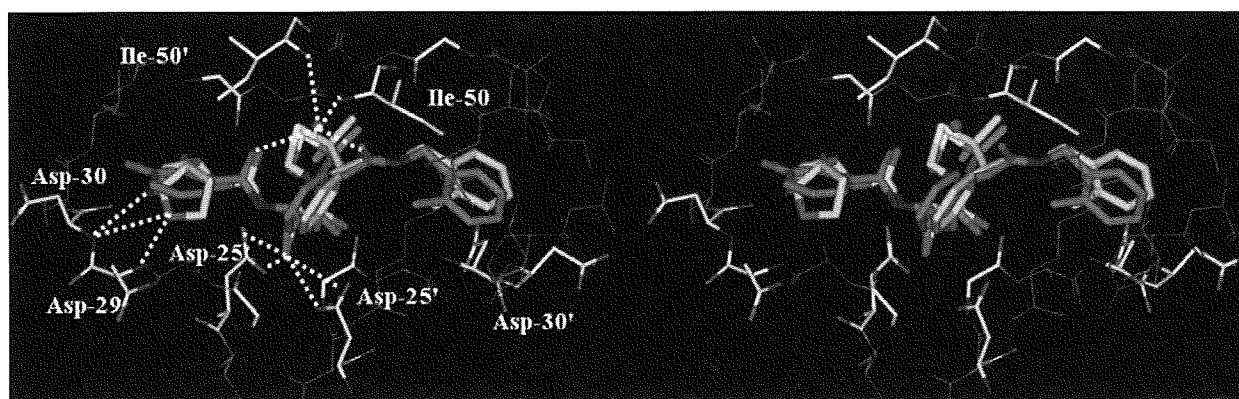


Figure 2. Structure of inhibitor **3b**, modeled into the active site of HIV-1 protease, superimposed on the X-ray crystal structure of KNI-764. Inhibitor **3b** carbons are shown in green and KNI-764 carbons are shown in magenta.

Table 2

Antiviral activity of **3b** (GRL-0355) against multidrug-resistant clinical isolates in PHA-PBMs.

Virus	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)			
	<b>3b</b> (GRL-0355)	APV	ATV	DRV
HIV-1 <sub>ERS104pre</sub> (wild-type: X4)	0.031 ± 0.002	0.045 ± 0.014	0.003 ± 0.003	0.005 ± 0.001
HIV-1 <sub>MDR/C</sub> (X4)	0.061 ± 0.005 (2)	0.346 ± 0.071 (8)	0.045 ± 0.026 (15)	0.010 ± 0.006 (2)
HIV-1 <sub>MDR/G</sub> (X4)	0.029 ± 0.002 (1)	0.392 ± 0.037 (9)	0.029 ± 0.020 (10)	0.019 ± 0.005 (4)
HIV-1 <sub>MDR/TM</sub> (X4)	0.064 ± 0.032 (2)	0.406 ± 0.082 (9)	0.047 ± 0.009 (16)	0.007 ± 0.003 (1)
HIV-1 <sub>MDR/MM</sub> (R5)	0.042 ± 0.001 (1)	0.313 ± 0.022 (7)	0.040 ± 0.002 (13)	0.027 ± 0.008 (5)
HIV-1 <sub>MDR/JSL</sub> (R5)	0.235 ± 0.032 (8)	0.531 ± 0.069 (12)	0.635 ± 0.065 (212)	0.028 ± 0.008 (6)

The amino acid substitutions identified in the protease-encoding region of HIV-1<sub>ERS104pre</sub>, HIV-1<sub>C</sub>, HIV-1<sub>G</sub>, HIV-1<sub>MM</sub>, HIV-1<sub>JSL</sub> compared to the consensus type B sequence cited from the Los Alamos database include L63P; L10I, I15V, K20R, L24I, M36I, M46L, I54V, I62V, L63P, K70Q, V82A, L89M; L10I, V11I, T12E, I15V, L19I, R41K, M46L, L63P, A71T, V82A, L90M; L10I, K14R, R41K, M46L, I54V, L63P, A71V, V82A, L90M; L10I, K43T, M46L, I54V, L63P, A71V, V82A, L90M, Q92K; and L10I, L24I, I33F, E35D, M36I, N37S, M46L, I54V, R57K, I62V, L63P, A71V, G73S, V82A, respectively. HIV-1<sub>ERS104pre</sub> served as a source of wild-type HIV-1. The IC<sub>50</sub> values were determined by using PHA-PBMs as target cells and the inhibition of p24 Gag protein production by each drug was used as an endpoint. The numbers in parentheses represent the fold changes of IC<sub>50</sub> values for each isolate compared to the IC<sub>50</sub> values for wild-type HIV-1<sub>ERS104pre</sub>. All assays were conducted in duplicate, and the data shown represent mean values ( $\pm$  1 standard deviations) derived from the results of two or three independent experiments. Amprenavir = APV; Atazanavir = ATV; Darunavir = DRV.

multidrug-resistant clinical isolates tested. The reason for its impressive potency against multidrug-resistant clinical isolates is possibly due to its ability to make extensive hydrogen-bonds with the protease backbone in the S2 subsite and its ability to fill in the hydrophobic pockets in the S1'–S2' subsites effectively.

In conclusion, incorporation of stereochemically defined and conformationally constrained cyclic ethers into the allophenyl-norstatine resulted in a series of potent protease inhibitors. The promising inhibitors **3b** and **3c** are currently being subjected to further in-depth biological studies. Design and synthesis of new



classes of inhibitors based upon above molecular insight are currently ongoing in our laboratories.

### Acknowledgement

The financial support of this work is provided by the National Institute of Health (GM 83356).

### References and notes

- Sepkowitz, K. A. *N. Eng. J. Med.* **2001**, *344*, 1764–1772.
- Kohl, N. E.; Emini, E. A.; Schleif, W. A.; Davis, L. J.; Heimbach, J. C.; Dixon, R. A. F.; Scolnick, E. M.; Sigal, I. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1988**, *85*, 4686–4690.
- (a) Pillay, D.; Bhaskaran, K.; Jurriaans, S.; Prins, M.; Masquelier, B.; Dabis, F.; Gifford, R.; Nielsen, C.; Pedersen, C.; Balotta, C.; Rezza, G.; Ortiz, M.; de Mendoza, C.; Kücherer, C.; Poggensee, G.; Gill, J.; Porter, K. *AIDS* **2006**, *20*, 21–28; (b) Grabar, S.; Pradier, C.; Le Corfec, E.; Lancar, R.; Allavena, C.; Bentata, M.; Berleureau, P.; Dupont, C.; Fabbro-Peray, P.; Poizot-Martin, I.; Costagliola, D. *AIDS* **2000**, *14*, 141–149.
- Wainberg, M. A.; Friedland, G. *JAMA* **1998**, *279*, 1977–1983.
- (a) Ghosh, A. K.; Kincaid, J. F.; Cho, W.; Walters, D. E.; Krishnan, K.; Hussain, K. A.; Koo, Y.; Cho, H.; Rudall, C.; Holland, L.; Buthod, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 687–690; (b) Koh, Y.; Maeda, K.; Ogata, H.; Bilcer, G.; Devasamudram, T.; Kincaid, J. F.; Boross, P.; Wang, Y.-F.; Tie, Y.; Volarath, P.; Gaddis, L.; Louis, J. M.; Harrison, R. W.; Weber, I. T.; Ghosh, A. K.; Mitsuya, H. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 3123–3129; (c) Ghosh, A. K.; Pretzer, E.; Cho, H.; Hussain, K. A.; Duzgunes, N. *Antiviral Res.* **2002**, *54*, 29–36.
- Yoshimura, K.; Kato, R.; Kavlick, M. F.; Nguyen, A.; Maroun, V.; Maeda, K.; Hussain, K. A.; Ghosh, A. K.; Gulnik, S. V.; Erickson, J. W.; Mitsuya, H. *J. Virol.* **2002**, *76*, 1349–1358.
- Ghosh, A. K.; Sridhar, P. R.; Leshchenko, S.; Hussain, A. K.; Li, J.; Kovalevsky, A. Y.; Walters, D. E.; Wedekind, J. K.; Grum-Tokars, V.; Das, D.; Koh, Y.; Maeda, K.; Gatanaga, H.; Weber, I. T.; Mitsuya, H. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5252.
- Koh, Y.; Das, D.; Leshchenko, S.; Nakata, H.; Ogata-Aoki, H.; Amano, M.; Nakayama, M.; Ghosh, A. K.; Mitsuya, H. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 997–1006.
- (a) FDA approved Darunavir on June 23, 2006; FDA approved new HIV treatment for patients who do not respond to existing drugs. Please see: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2006/ucm108676.htm> (b) On October 21, 2008, FDA granted traditional approval to Prezista (darunavir), co-administered with ritonavir and with other antiretroviral agents, for the treatment of HIV-1 infection in treatment-experienced adult patients. In addition to the traditional approval, a new dosing regimen for treatment-naïve patients was approved.
- Ghosh, A. K.; Chapsal, B. D.; Weber, I. T.; Mitsuya, H. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 78–86.
- Ghosh, A. K.; Ramu Sridhar, P.; Kumaragurubaran, N.; Koh, Y.; Weber, I. T.; Mitsuya, H. *ChemMedChem* **2006**, *1*, 939–950.
- Mimoto, T.; Terashima, K.; Nojima, S.; Takaku, H.; Nakayama, M.; Shintani, M.; Yamaoka, T.; Hayashi, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 281–293.
- Yoshimura, K.; Kato, R.; Yusa, K.; Kavlick, M. F.; Maroun, V.; Nguyen, A.; Mimoto, T.; Ueno, T.; Shintani, M.; Falloon, J.; Masur, H.; Hayashi, H.; Erickson, J.; Mitsuya, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1999**, *96*, 8675–8680.
- Ghosh, A. K.; Thompson, W. J.; Holloway, M. K.; McKee, S. P.; Duong, T. T.; Lee, H. Y.; Munson, P. M.; Smith, A. M.; Wai, J. M.; Darke, P. L.; Zugay, J.; Emini, E. A.; Schleif, W. A.; Huff, J. R.; Anderson, P. S. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2300–2310.
- Ohmoto, K.; Okuma, M.; Yamamoto, T.; Kijima, H.; Sekioka, T.; Kitagawa, K.; Yamamoto, S.; Tanaka, K.; Kawabata, K.; Sakata, A., et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *9*, 1307–1323.
- Ikunaka, M.; Matsumoto, J.; Nishimoto, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 1201–1208.
- Iwona Kudyba, L.; Raczko, J.; Jurczak, J. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2844–2850.
- Ghosh, A. K.; Duong, T. T.; McKee, S. P. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2781–2784.
- (a) Ghosh, A. K.; Leshchenko, S.; Noetzel, M. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7822–7829; (b) Ghosh, A. K.; Gemma, S.; Takayama, J.; Baldrige, A.; Leshchenko-Yashchuk, S.; Miller, H. B.; Wang, Y.-F.; Kovalevsky, A. Y.; Koh, Y.; Weber, I. T.; Mitsuya, H. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3703–3713; (c) Ghosh, A. K.; Gemma, S.; Baldrige, A.; Wang, Y.-F.; Kovalevsky, A. Y.; Koh, Y.; Weber, I. T.; Mitsuya, H. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 6021–6033.
- Toth, M. V.; Marshall, G. R. A. *Int. J. Pep. Protein Res.* **1990**, *36*, 544–550.
- Vega, S.; Kang, L.-W.; Velazquez-Campoy, A.; Kiso, Y.; Amzel, L. M.; Freire, E. *Proteins* **2004**, *55*, 594–602.
- Kovalevski, A. Y.; Louis, J. M.; Aniana, A.; Ghosh, A. K.; Weber, I. T. *J. Mol. Biol.* **2008**, *384*, 178–192.

## Design of HIV-1 Protease Inhibitors with Pyrrolidinones and Oxazolidinones as Novel P1'-Ligands To Enhance Backbone-Binding Interactions with Protease: Synthesis, Biological Evaluation, and Protein–Ligand X-ray Studies<sup>∞</sup>

Arun K. Ghosh,<sup>\*,†</sup> Sofiya Leshchenko-Yashchuk,<sup>‡</sup> David D. Anderson,<sup>‡</sup> Abigail Baldrige,<sup>‡</sup> Marcus Noetzel,<sup>‡</sup> Heather B. Miller,<sup>‡</sup> Yunfeng Tie,<sup>‡</sup> Yuan-Fang Wang,<sup>‡</sup> Yasuhiro Koh,<sup>‡</sup> Irene T. Weber,<sup>‡</sup> and Hiroaki Mitsuya<sup>||,⊥</sup>

Departments of Chemistry and Medicinal Chemistry, Purdue University, West Lafayette, Indiana 47907, Department of Biology, Molecular Basis of Disease, Georgia State University, Atlanta, Georgia 30303, Departments of Hematology and Infectious Diseases, Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto 860-8556, Japan, and Experimental Retrovirology Section, HIV and AIDS Malignancy Branch, National Cancer Institute, Bethesda, Maryland 20892

Received March 10, 2009

Structure-based design, synthesis, and biological evaluation of a series of novel HIV-1 protease inhibitors are described. In an effort to enhance interactions with protease backbone atoms, we have incorporated stereochemically defined methyl-2-pyrrolidinone and methyl oxazolidinone as the P1'-ligands. These ligands are designed to interact with Gly-27' carbonyl and Arg-8 side chain in the S1'-subsite of the HIV protease. We have investigated the potential of these ligands in combination with our previously developed bis-tetrahydrofuran (bis-THF) and cyclopentanyltetrahydrofuran (Cp-THF) as the P2-ligands. Inhibitor **19b** with a (*R*)-aminomethyl-2-pyrrolidinone and a Cp-THF was shown to be the most potent compound. This inhibitor maintained near full potency against multi-PI-resistant clinical HIV-1 variants. A high resolution protein–ligand X-ray crystal structure of **19b**-bound HIV-1 protease revealed that the P1'-pyrrolidinone heterocycle and the P2-Cp-ligand are involved in several critical interactions with the backbone atoms in the S1' and S2 subsites of HIV-1 protease.

### Introduction

Advances in the treatment of HIV/AIDS with HIV-1 protease inhibitors in combination with reverse transcriptase inhibitors have been widely documented.<sup>1</sup> The combination therapy, also known as highly active antiretroviral therapy (HAART), blocks critical viral replication at two different stages of the replication cycle.<sup>2</sup> The HAART regimens have resulted in dramatic reduction of blood plasma viral load levels, increased CD4<sup>+</sup> lymphocyte counts, and improved life expectancy and significantly reduced HIV/AIDS-related mortality in the developed world.<sup>3</sup> Despite these important advances, effective long-term suppression of HIV infection with HAART regimens is a complex issue in medicine for a number of reasons. These include drug side effects, poor penetration into protected HIV reservoir sites, poor oral bioavailability, and interactions between drugs.<sup>4</sup> Perhaps one of the most daunting problems in future management of HIV is the emergence of drug-resistant HIV-1 variants and the transmission of these viral strains.<sup>5,6</sup> Thus, development of antiretroviral therapy with broad-spectrum activity and minimal drug side effects is critical for an effective management of current and future HIV/AIDS treatment. We recently reported the design and development of a number of exceedingly potent nonpeptidic HIV-1 protease inhibitors (PIs) **1–3** (Figure 1).<sup>7–9</sup> One of those PIs is darunavir (**1**, TMC-

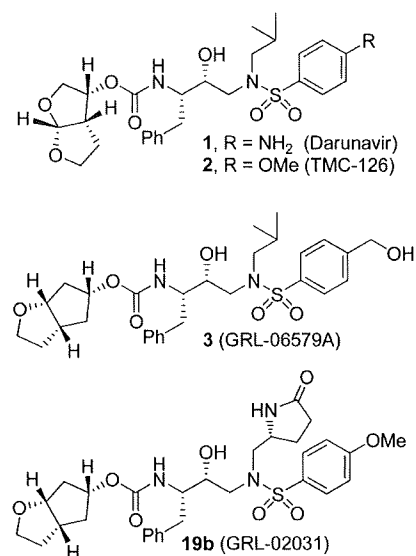


Figure 1. Structures of inhibitors **1–3** and **19b**.

114), which was approved by the FDA in 2006 for the treatment of HIV/AIDS patients who are harboring drug-resistant HIV and do not respond to other therapies.<sup>10</sup> More recently, darunavir has received full approval for all HIV/AIDS patients.<sup>11</sup>

To combat drug resistance, our structure-based design strategies are to maximize the protease active-site interactions with the inhibitor and particularly to promote extensive hydrogen bonding with the protein backbone atoms.<sup>12</sup> It is evident that active site backbone conformation of mutant proteases is only minimally distorted compared to that of the wild-type HIV-1 protease.<sup>13,14</sup> Therefore, the “backbone binding” strategy may be important to combat drug resistance.<sup>12</sup> Using high resolution protein–ligand X-ray structures of **1**- and **3**-bound HIV-1

<sup>∞</sup> The PDB accession code for **19b**-bound HIV-1 protease X-ray structure is 3H5B.

\* To whom correspondence should be addressed. Phone: (765) 494-5323. Fax: (765) 496-1612. E-mail: akghosh@purdue.edu.

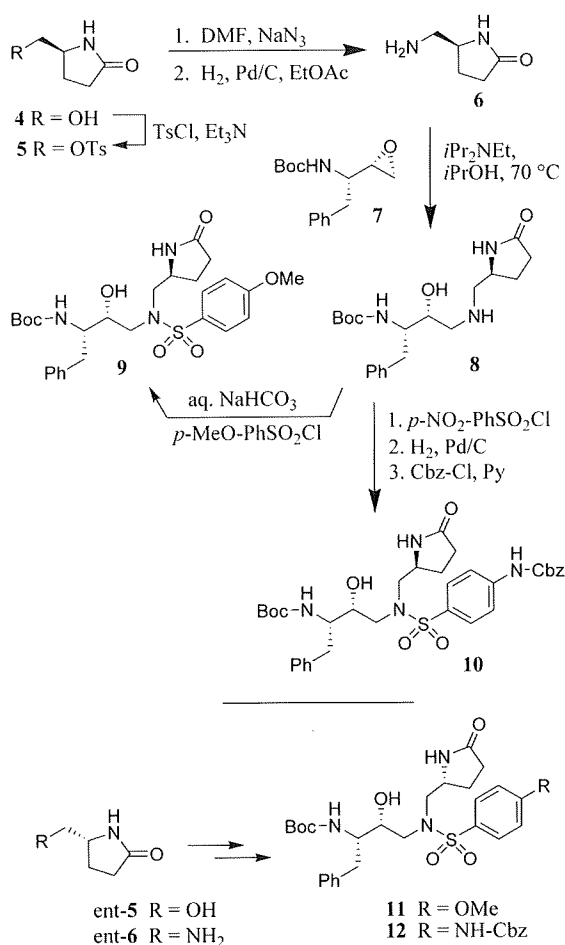
<sup>†</sup> Purdue University.

<sup>‡</sup> Georgia State University.

<sup>‡</sup> Kumamoto University School of Medicine.

<sup>||</sup> National Cancer Institute.

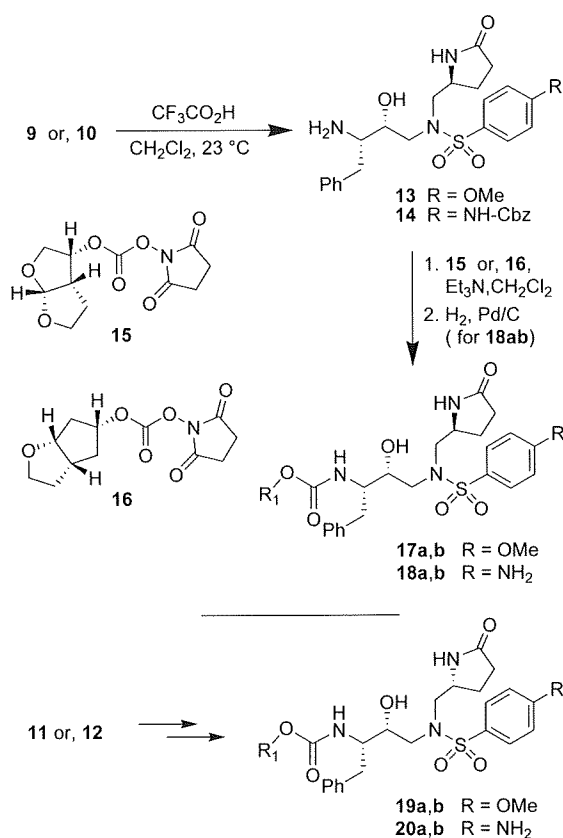
<sup>⊥</sup> Abbreviations: HIV, human immunodeficiency virus; bis-THF, bis-tetrahydrofuran; Cp-THF, cyclopentanyltetrahydrofuran; PI, protease inhibitor; HAART, highly active antiretroviral therapy; APV, amprenavir; DRV, darunavir; SQV, saquinavir; IDV, indinavir; LPV, lopinavir; RTV, ritonavir.

**Scheme 1.** Synthesis of Lactam Containing Sulfonamide Isosteres

protease, we have shown that these PIs were engaged in extensive hydrogen bonding interactions with the backbone atoms throughout the active site cavity from the S2 to S2' regions.<sup>9,15</sup> To further enhance "backbone binding" interactions, we became interested in designing an appropriately functionalized P1'-ligand that could interact with the backbone atoms, particularly with the Gly-27' and Arg-8 in the S1'-subsite. This enhancement of "backbone binding" interaction may lead to inhibitors with improved drug-resistance profiles. Herein, we report the design, synthesis, and biological evaluation of a series of potent HIV-1 protease inhibitors that incorporated structure-based designed stereochemically defined lactam and oxazolidinone derivatives as the P1'-ligands in combination with the bis-THF or Cp-THF as the P2-ligands. Inhibitor **19b** incorporating a (*R*)-5-aminomethyl-2-pyrrolidinone as the P1'-ligand and Cp-THF as the P2-ligand is the most potent PI in the series. Interestingly, this PI has retained full potency against a range of multidrug-resistant HIV-1 variants. The protein-ligand X-ray structure of **19b**-bound HIV-1 protease revealed important molecular insight into the ligand-binding site interactions.

### Chemistry

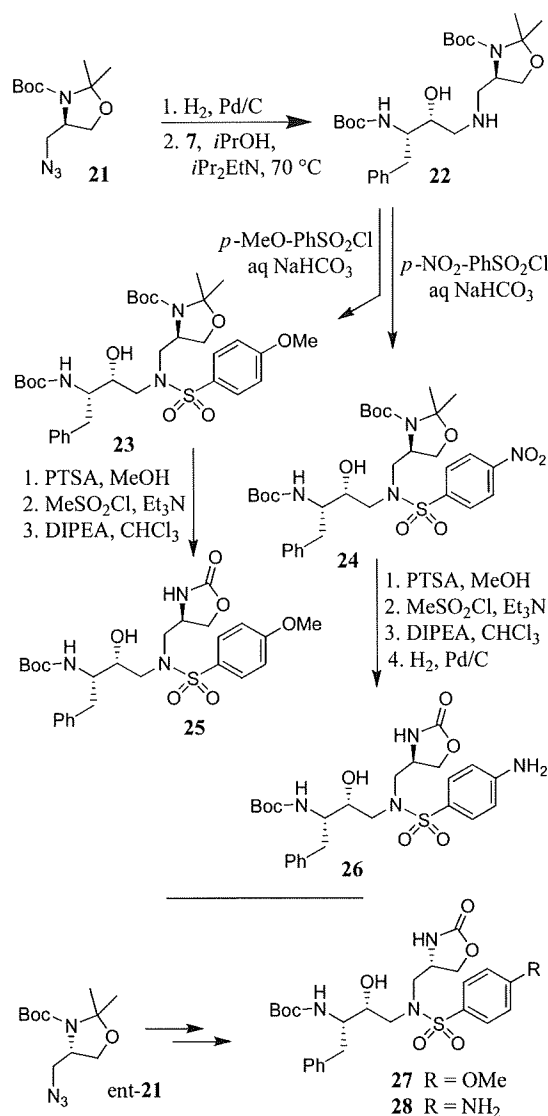
The optically active synthesis of the requisite 5-aminomethyl-2-pyrrolidinone for P1'-ligands and their conversion to respective sulfonamide isostere are shown in Scheme 1. Commercially available 5-(*S*)-hydroxymethyl-2-pyrrolidinone **4** was reacted with tosyl chloride and triethylamine to provide tosylate **5**. Displacement of the tosylate with sodium azide in DMF at 55 °C for 9 h provided the azide derivative in 92% yield over two

**Scheme 2.** Synthesis of Lactam Containing PIs

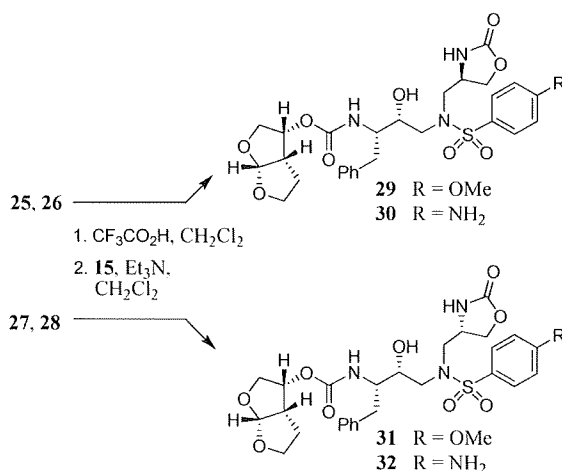
steps. Catalytic hydrogenation of the azide over 10% Pd-C in ethyl acetate afforded optically active amine **6** in quantitative yield. 5-(*R*)-Hydroxymethyl-2-pyrrolidinone (*ent*-**5**) was similarly converted to optically active amine *ent*-**6** in comparable yield. Amine **6** was reacted with commercially available epoxide **7** in the presence of *i*-Pr<sub>2</sub>NEt (DIPEA) in 2-propanol at 70 °C for 36 h to provide epoxide-opened product **8** in 85% yield.<sup>16</sup> Amine **8** was converted to *p*-methoxybenzenesulfonamide derivative **9** by reaction with *p*-methoxybenzenesulfonyl chloride in the presence of aqueous NaHCO<sub>3</sub> in quantitative yield. Treatment of amine **8** with *p*-nitrobenzenesulfonyl chloride afforded the corresponding nitrosulfonamide. Catalytic hydrogenation over 10% Pd-C gave the corresponding aniline derivative, which was reacted with benzyl chloroformate in the presence of pyridine to furnish Cbz-derivative **10** in 63% yield for three steps. Enantiomeric amine (*ent*-**6**) was converted to the respective methoxy and Cbz-derived **11** and **12** by analogous procedures.

The synthesis of various PIs incorporating methylpyrrolidinones as the P1'-ligand is shown in Scheme 2. Exposure of Boc-derivatives **9** and **10** to 30% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> at 23 °C for 40 min resulted in the respective amines **13** and **14**. Alkoxy-carbonylation of amine **13** with activated mixed carbonates **15**<sup>16</sup> and **16**<sup>9</sup> in the presence of Et<sub>3</sub>N in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> furnished inhibitors **17a** and **17b** in 98% and 87% yields, respectively.<sup>17</sup> Alkoxy-carbonylation of amine **14** with activated carbonates **15** and **16** afforded the corresponding Cbz-protected urethanes. Removal of the Cbz-group by catalytic hydrogenation over 10% Pd-C in ethyl acetate provided inhibitor **18a** and **18b** in 58% and 62% yields, respectively. Sulfonamide derivatives **11** and **12** containing enantiomeric P1'-ligands were converted to inhibitors **19a,b** and **20a,b** by following analogous procedures.

The synthesis of sulfonamide isosteres incorporating methyl-oxazolidinone as the P1'-ligand is shown in Scheme 3. Optically

**Scheme 3.** Synthesis of Sulfonamide Isosteres with P1'-Oxazolidinone

active dimethyloxazolidines **21** and *ent*-**21** were prepared by following the procedure described by Dondini and co-workers.<sup>18</sup> Reduction of these azides by catalytic hydrogenation in methanol afforded the respective amine. Reaction of **21**-derived amine with epoxide **7** in the presence of *i*-Pr<sub>2</sub>NEt in 2-propanol afforded amine **22** in 41% yield. Reaction of amine **22** with *p*-methoxybenzenesulfonyl chloride or *p*-nitrobenzenesulfonyl chloride as described previously afforded sulfonamide derivatives **23** and **24** in 80% and 92% yields, respectively. The isopropylidene functionality in **23** and **24** was converted to the corresponding oxazolidinone derivative in a three-step sequence involving (1) treatment of **23** by a catalytic amount of *p*-toluenesulfonic acid (PTSA) in methanol, resulting in the removal of the isopropylidene group, (2) reaction of the resulting Boc-amino alcohol with mesyl chloride in the presence of triethylamine to provide the corresponding mesylate, and (3) treatment of the resulting mesylate with *i*-Pr<sub>2</sub>NEt in chloroform at reflux. This has provided oxazolidinone **25** in 45% yield over three steps. The nitrosulfonamide derivative **24** was similarly converted to the corresponding oxazolidinone. Catalytic hydrogenation of the resulting nitro derivative with 10% Pd–C in methanol provided aniline derivative **26** in 37% overall yield

**Scheme 4.** Synthesis of Oxazolidinone-Derived PIs

over four steps. Enantiomeric azide *ent*-**21** was converted to oxazolidinone derivatives **27** and **28** by following analogous procedures.

The synthesis of inhibitors containing oxazolidinone as P1'-ligand and bis-THF as the P2-ligand is shown in Scheme 4. Treatment of oxazolidinones **25**–**28** with 30% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> at 23 °C afforded the corresponding amines. Reaction of the resulting amines with activated mixed carbonate **15** in the presence of Et<sub>3</sub>N in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> afforded the target inhibitors **29**–**32** in excellent yields (80–90%). The structures of these inhibitors are shown in Table 1.

## Results and Discussion

Our examination of the X-ray structure of **1**-bound HIV-1 protease and its respective modeling initially suggested that a methyl-2-pyrrolidinone may interact well with residues in the S1'-site.<sup>15</sup> As shown in Table 1, our first set of inhibitors contain a (*R*)-hydroxyethylamine sulfonamide isostere with either the bis-THF or Cp-THF as the P2-ligand and *p*-methoxysulfonamide or *p*-aminosulfonamide as the P2'-ligand. The enzyme inhibitory potency of these PIs was evaluated according to the procedure reported by Toth and Marshall.<sup>19</sup> Inhibitor **17a** with (*S*)-methyl-2-pyrrolidinone displayed an enzyme *K*<sub>i</sub> of 1 nM. Inhibitor **17b** with a Cp-THF showed a 3-fold improvement of potency. Antiviral activity of these inhibitors was determined in MT-2 human T-lymphoid cells exposed to HIV-1<sub>LAI</sub>. Interestingly, both inhibitors have shown dramatic reduction in antiviral activity. Inhibitors **17a** and **17b** have shown IC<sub>50</sub> values of 0.48 and 0.23 μM, respectively. However, these inhibitors are significantly less potent compared to inhibitors with an isobutyl group as the P1'-ligand.<sup>7c,9</sup> Incorporation of *p*-aminosulfonamide (PIs **18a** and **18b**) as the P2'-ligand led to a drop in enzyme inhibitory as well as antiviral potency. Inhibitor **19a** containing (*R*)-methyl-2-pyrrolidinone as the P1'-ligand has shown 10-fold enhancement of enzyme *K*<sub>i</sub> over the (*S*)-isomer **17a**. It showed a slight improvement in antiviral activity compared to inhibitor **17a**. Inhibitor **19b** with (*R*)-methyl-2-pyrrolidinone as the P1'-ligand and Cp-THF as the P2-ligand resulted in the most potent inhibitor in the series. It has shown an enzymatic *K*<sub>i</sub> of 99 pM and a 10-fold improvement (IC<sub>50</sub> = 0.026 μM) in antiviral activity relative to epimeric (*S*)-pyrrolidinone derivative **17b**, suggesting an important role for the P1'-ring stereochemistry. Indeed, an X-ray structure of **19b**-bound HIV-1 protease revealed that the pyrrolidinone carbonyl and the NH functionalities were positioned to hydrogen-bond with residues in the S1'-site. Interestingly, the combination of P1'-methylpyrrolidi-