

201421021A

厚生労働省科学研究費補助金エイズ対策研究事業

多剤耐性HIV変異株に 強力で高い中枢神経系透過性を有する 新規抗HIV薬の開発

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者：満屋 裕明

(独) 国立国際医療研究センター 臨床研究センター

平成27(2015)年3月

厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業

**多剤耐性 HIV 変異株に
強力で高い中枢神経系透過性を有する
新規抗 HIV 薬の開発**

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 満屋 裕明

(独) 国立国際医療研究センター 臨床研究センター

平成 27 (2015) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

エイズ対策研究事業

「多剤耐性 HIV 変異株に強力で高い中枢神経系透過性を有する新規抗 HIV 薬の開発」班

平成 26 年度 班の構成

満屋 裕明 (独) 国立国際医療研究センター 臨床研究センター センター長・理事

岡 慎一 (独) 国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センター センター長

宮川 寿一 熊本大学医学部附属病院 感染免疫診療部 助教

目 次

I. 総括研究報告

多剤耐性 HIV 変異株に強力で高い中枢神経系透過性を有する新規抗 HIV 薬の開発 満屋 裕明	1
---	---

II. 分担研究報告

1. 新薬開発基礎領域	7
満屋 裕明	
2. 臨床部門	10
岡 慎一	
3. 臨床研究分野	12
宮川 寿一	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	14
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	17
-----------------------	----

総括研究報告書

多剤耐性 HIV 変異株に強力で高い中枢神経系透過性を有する
新規抗 HIV 薬の開発

研究総括者 満屋 裕明

(独) 国立国際医療センター・臨床研究センター センター長

研究要旨

多剤併用療法 (ART) は長足の進歩を遂げ、HIV 感染者と AIDS 発症者の余命は飛躍的に伸長した。一方、長期の ART に伴う副作用や薬剤耐性変異株の出現はこれまで以上に大きな問題となった。特に、感染者・発症者の高齢化に伴う HIV 関連神経認知障害 (HAND) や人格障害発現といった HIV 関連中枢神経系 (CNS) 障害への対策は急務である。本研究は、(1) HIV 関連 CNS 障害の診断法の確立 (岡、宮川担当)、(2) HIV の薬剤耐性獲得に高い抵抗性を示し良好な CNS 透過性を有する治療薬の開発 (申請者、宮川担当) を目的とする。

当該年度は fluoride もしくは difluoride を付加することで構造最適化を行い、*in vitro* 血管脳関門 (BBB) 再構築システムを用いて脳血管透過性を評価することにより、高い CNS 移行性が期待され、抗 HIV 活性に優れた複数の新規化合物を同定し、詳細な検討を行なった。また昨年度までに HAND の診断のための日本での共通の心理検査バッテリーを決定したが、当該年度は、その使い方に関する手技の均てん化がなされ、CNS 透過性を有する新規抗 HIV 薬を開発する時の多施設共同臨床試験時に、共通の評価軸で HAND の評価が行えるようになった。更に HAND スクリーニング・診断・管理の推奨ツールである Raise HAND program スクリーニング検査を導入し、自覚症状のない無症候性神経認知障害 (ANI) や軽度神経認知障害 (MND) が疑われる患者を同定した。

研究分担者氏名、所属研究機関及び役職

岡 慎一：(独) 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター、HIV 感染症 センター長

宮川 寿一：国立大学法人熊本大学・感染症内科学、血液内科学 助教

A. 研究目的

ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1) 感染に対する化学療法 (ART) は長足の進歩を遂げ、かつて「死の病」とされた本疾患は「コントロール可能な慢性感染症」と再定義し得る程となった。一方で、長期の ART に伴う副作用や薬剤耐性変異株の出現はこれまで以上に大きな問題となっている。耐性株出現が極めて低いと

されていた darunavir (DRV) に対する耐性株の出現も確認され、何れ大きな課題となる事が予測されている。また、先進工業国の感染・発症者の高齢化に伴う HIV 感染に起因する中枢神経系 (CNS) 障害も重大な問題となっている。取分け HIV 関連神経認知障害 (HAND) や人格障害発現に対する対応は急務である。他方、世界的にも現在 HAND の診断基準はあるものの診断法は確立されていない。CNS 障害の改善が確認されている抗 HIV 剤は AZT のみで、比較的良好な CNS 透過性があるとされる stavudine、indinavir、abacavir の内、abacavir 以外は臨床で使用されなくなっている。脳脊髄液中の HIV (CSF-HIV) は血漿中の HIV とは異なった薬剤耐性パターンを有する事か

ら、多種多様な多剤耐性変異株に強力な阻害作用を示し、良好なCNS透過性を有する新規薬剤の開発が必要である。また本研究で開発される薬剤は、HANDへの治療という観点から重要であるが、世界的にも現在HANDの診断基準はあるものの診断法は確立されていない。このことより昨年度決定した神経心理検査バッテリーを心理士が実施するにあたり、習熟度の差によるばらつきがでないよう検査方法の標準化を行った。また、抗HIV剤の中枢神経系（CNS）移行指数としてCPEスコアが用いられているが、あくまでもこれは薬剤の中枢移行性を4段階に分類した指標であり、各抗HIV剤の中枢移行性に関する定量的な評価が今後必要となる。

本研究では、企業への早期導出を要に応じて図るが、申請者らによる前臨床・早期臨床試験（第1相・2a相）の国内での推進を前提とし、多施設共同臨床試験を実施する為のHANDの診断法の確立、基盤を構築すると共に、既存の抗HIV剤に対して耐性を獲得した変異株に阻害効果を発揮、HIVの薬剤耐性獲得に高い抵抗性をし、かつ良好なCNS透過性を示す安全性の高い治療薬の開発を目的とする。

B. 研究方法

満屋裕明（研究総括者）

研究代表者らは米国Purdue大学の研究グループと共同で、①既存抗HIV剤耐性株に有効で、②耐性発現が著明に遅延、かつ③良好なCNS移行性を有すると期待されるリード化合物を既に複数同定・報告しているが（Miguel & Mitsuya, *Antimicrob Agents Chemother* 57: 6110-6121, 2013）、これら3点について更にデザイン・合成を続けて最適化を進める。

1) CNS移行性評価として、経口投与された化合物の生体膜通過性に影響を与える脂溶性の指標である LogP_{ow} (octanol-water partition coefficients)を測定、また脳毛細血管内皮細胞

（サル由来）、血管周皮細胞および星状神経膠細胞（ラット由来）を用いた*in vitro* BBB再構築システム（Nakagawa & Niwa, *Cell Mol Neurobiol* 27: 687-694, 2007）を用いて、各候補化合物のBBB透過性の評価を進める。

2) 検討中の化合物の抗HIV-1活性評価：抗HIV-1活性の評価には実験室内野生株であるHIV-1_{LAI}株およびヒトT細胞由来MT2細胞を用いたMTTアッセイ法を用いた。また有望な化合物についてはMT4細胞やPBMCを用いたp24アッセイにより臨床分離株や多剤耐性株に対する抗ウイルス活性を検討し、更に試験管内で耐性変異株の誘導を試み、誘導された耐性株においてウイルス学・遺伝子学的解析や結晶解析による耐性発現メカニズムの解析を行う。

3) 新規化合物が示す抗HIV効果の作用機序の解明：新規化合物がHIV野生株及び多剤耐性変異株のプロテアーゼに、どのような相互作用形式で結合しているのかをX線結晶構造解析を用いて分子・原子レベルで解明する。得られた三次元構造及び相互作用形式を既存の薬剤と比較して、薬剤耐性HIV変異株に効果を発揮する為に重要となる相互作用部位を明らかにする。

（倫理面への配慮）

本プロジェクトにおいて開発予定の良好なCNS移行性を有すると期待される化合物の臨床試験導入に際して、まず動物実験などでその安全性を十分に確認する。動物実験においては、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」に準拠し実施する。

岡慎一（研究分担者）

昨年度決定した神経心理検査バッテリーを使用するには、心理士が使い方に習熟する必要がある。このため、複数回の研修会を開催し、コアバッテリーの習熟を促した。

（倫理面への配慮）

今年度の研究では、倫理的な問題はない。

宮川寿一 (研究分担者)

EACS と BHIVA ガイドラインに基づき、アジア太平洋および中東地域の HAND 諮問委員会によって提唱された HAND スクリーニング・診断・管理の推奨ツールであり、検査実施時間が 15 分程度である Raise HAND program スクリーニング検査を用い、自覚症状のない無症候性神経認知障害 (ANI) や軽度神経認知障害 (MND) が疑われる患者を同定し、全国 18 施設の心理士による検討会及び、琉球大学の富永教授の監修を経て、作成された HAND 診断のための神経心理コアバッテリーを用いて HAND の確定診断を行う。また、CNS 移行性評価として LogPow の測定や前述した *in vitro* BBB 再構築システムを用いる事により、各抗 HIV 剤の BBB 透過性の評価を進める。

(倫理面への配慮)

今年度の研究では、倫理的な問題はない。

C. 研究結果

満屋裕明 (研究総括者)

フッ素原子を付加する事により化合物の安定性や脂溶性が向上するとされており、この知見を鍵とした合成展開を行う事で複数の化合物を新たに合成し詳細な検討を行った結果、前述したように多剤耐性 HIV-1 株に有効でかつ良好な CNS 移行性を発揮すると考えられる *bis*-THF-difluoride 構造を有するリード化合物群、GRL-048, -050 を新たに同定・報告した (Miguel & Mitsuya. *Antimicrob Agents Chemother* 57: 6110-6121, 2013)。現時点で AIDS 脳症の第一選択とされる AZT, IDV の、*in vitro* BBB 再構築システムで測定した脳血管透過係数(Papp)がそれぞれ 22.7, 36.7 cm^6/s (Papp が 20 以上ならば試験化合物は容易に脳内に移行、2 以上 10 未満でごくわずかに脳内に移行する)、また DRV の Papp 値が 9.9 cm^6/s であったのに対し、これら 2 化合物の Papp 値は 47.8 ~ 61.8 cm^6/s であり、非常に良好な CNS 移行性を有

し得ることが示唆された。更に、構造上 fluorinated もしくは difluorinated の化合物であり、既存薬の抗 HIV-1 活性を凌ぐウイルス増殖抑制効果および低い細胞毒性を示す 5 種類の CNS 標的化合物群 (GRL-083, -084, -085, -086, -087) を新たに同定、これら化合物の BBB 透過性は Papp 値が 37.3 ~ 77.1 cm^6/s と、既存抗 HIV 剤において優れた脳内移行性を示すとされる AZT, ABC, IDV より良好であった。更に構造解析の結果、これら化合物に付加されたフッ素原子は、CNS 移行性を向上させるだけではなく、化合物の HIV-1 プロテアーゼ活性中心部位への結合をより強固にする事が示唆された (Amano, Mitsuya, *et.al.* 投稿準備中)。これらの結果は新規に合成した化合物群が HAND の有望な予防/治療薬候補と成り得る可能性を示す。

岡慎一 (研究分担者)

以下の 3 回、全国規模での研修会を実施した。

第 1 回目：2014 年 4 月 20 日 (東京)

参加施設数 13 施設、参加人数 24 名

内容: コアバッテリーの最終確認と実施順の決定および習熟のための研修。

第 2 回目：2014 年 5 月 24 日 (福岡)

参加施設数 8 施設、参加人数 13 名

内容: 大阪以西の西日本の施設をカバーするためのコアバッテリーの研修会。

第 3 回目：2014 年 6 月 28 日 (東京)

参加施設数 4 施設、参加人数 10 名

内容: 名古屋以東の中部および東日本の施設をカバーするためのコアバッテリーの研修会。

宮川寿一 (研究分担者)

Raise HAND program スクリーニング検査を用い、自覚症状のない無症候性神経認知障害 (ANI) や軽度神経認知障害 (MND) が疑われる患者を同定し、特徴的な異常所見を解析し、服薬支援や生活支援などの介入を行った。今後は分担者の岡らにより作成された HAND 診断のための神経心理コアバッテリーを用いて HAND の確定

診断を行う。

核酸系逆転写阻害剤(NRTI)である AZT, ABC, 3TC, TDF, 非核酸系逆転写酵素阻害剤である EFV プロテアーゼ阻害剤(PI)である IDV, SQV, APV, ATV, LPV, DRV, インテグラーゼ阻害剤である RAL を用いて *in vitro* BBB 再構築システムにおける脳血管移行係数 (apparent permeability coefficient ; Papp) を測定し、各薬剤の CNS 移行性を定量的に評価した。

D. 考察

満屋裕明 (研究総括者)

感染・発症者の生活の質(QOL)のみならず生命予後の悪化につながる HAND などの CNS 障害に有効な HIV 新薬が開発されれば、日本と世界の感染・発症者に大きな福音をもたらすのみならず、医療分野における日本の成長戦略の一つとして大きく期待される。研究代表者らは米国研究グループとの共同研究で既に種々の耐性株に有効で、耐性株の出現が著しく遅延し、かつ良好な CNS 透過性を有するリード化合物の開発・同定に成功し、更に構造最適化を進め有望な化合物を複数同定しており、今後はこれら候補化合物の HIV 感染ヒト末梢単核球移植重症免疫不全 (hPBMC-NOJ) マウスで生体内での抗 HIV 活性を検討すると共に、マウス脳内への移行性についても検討する。

岡慎一 (研究分担者)

従来、施設ごとの HAND の罹患率などにも大きな相違があったが、これは、診断法が異なっていることに起因していた。多施設共同臨床試験の効果判定に用いるためには、最低限の診断のためのコアとなるバッテリーを決めておく必要があり、その意味で、本研究の成果の意義は大きいといえる。

この様な背景のもと、昨年度全国統一のコアバッテリーを決定、今年度その使用方法の標準化を行ったことで、HAND 克服を目指す治療薬による多施設共同臨床試験実施に向けた基本的

な準備が整ったといえる。

宮川寿一 (研究分担者)

本邦ではエイズ拠点病院をはじめ HIV 診療を行っている多くの施設において、心理士はエイズ予防財団等からの派遣などによりパートタイムで勤務している状況であり、神経心理検査を行う時間は限られており、短時間で施行可能な HAND スクリーニング検査の確立が強く望まれている。我々は Raise HAND program スクリーニング検査を用い、自覚症状のない無症候性神経認知障害 (ANI) や軽度神経認知障害 (MND) が疑われる患者を同定し、特徴的な異常所見を解析し、服薬支援や生活支援などの介入が可能であった。また、臨床使用されている各抗 HIV 剤の CNS 移行性を網羅的に定量化して評価することは、HAND 症例に対して、最適な治療薬選択 (オーダーメイド治療) に貢献しうるものと考えられた。

E. 結論

満屋裕明 (研究総括者)

本研究では強力な抗 HIV-1 活性と良好な CNS 移行性を発揮する新規抗 HIV 剤のデザイン・合成・評価を進めた。今後も最適化を継続し、動物実験および臨床試験に移行し得る化合物の開発を進める。

今後も結晶構造解析等の研究手法を用いて薬剤の構造の最適化を継続し、動物実験および臨床試験に移行し得る化合物の開発を進める。

岡慎一 (研究分担者)

HAND の診断のための日本共通の心理検査バッテリーを決定、使用方法の標準化を行った。本研究班による2年間で、日本における HAND 診断のための共通の神経心理検査バッテリーが決定し、その利用方法に関する研修により手技の均てん化が図られた。これにより、中枢神経系透過性を有する新規抗 HIV 薬を開発する時の多施設共同臨床試験時に、共通の物差しで HAND の評価が行えるようになった。

宮川寿一（研究分担者）

今年度の研究で HAND スクリーニング・診断・管理の推奨ツールである Raise HAND program スクリーニング検査を導入し、自覚症状のない無症候性神経認知障害(ANI)や軽度神経認知障害(MND) が疑われる患者を同定した。また、LogP_{ow} (octanol-water partition coefficients)の測定と脳毛細血管内皮細胞（サル由来）、血管周皮細胞および星状神経膠細胞（ラット由来）を用いた *in vitro* BBB（脳血管関門）再構築システムを用いて、脳血管移行係数を測定し、既存の抗 HIV 薬と各候補化合物の BBB 透過性を同定した。今後は、cART の薬剤組み合わせで脳血管移行係数を同定し、同一の薬剤組み合わせで加療を受けている患者の HAND の割合と対比することで、HAND 症例に対して、最適な治療薬選択（オーダーメイド治療）を導入可能になると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

各研究分担者の頁参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

新薬開発基礎領域

研究代表者 満屋 裕明

(独) 国立国際医療研究センター・臨床研究センター センター長

研究協力者 天野 将之

熊本大学大学院生命科学研究部・血液内科学分野

研究要旨：本研究の目的として、①良好な CNS 移行性、すなわち良好な blood-brain barrier (BBB: 脳血管関門) 透過性を有し②薬剤耐性株に強力な活性を有し③耐性出現が遅延し④毒性の低い (安全性が高い) 治療薬開発を主眼とする。研究代表者らは米国研究グループとの共同研究で、*bis*-THF-difluoride といった新規構造を有する抗 HIV 化合物群、GRL-048, -050 を新たに同定、*in vitro* での脳血管関門 (BBB) 再構築システムを用いて、同化合物群が DRV を含む既存の抗 HIV-1 剤群と比較して著しく良好な BBB 透過性を有し得る事を見出した。更に研究代表者らは既に種々の耐性株に強い増殖阻害作用を示し、かつ良好な CNS 透過性を有する複数のリード化合物 (GRL-083, -084, -085, -086, -087) の開発・同定に成功しており、今後前臨床・早期臨床試験の国内での推進を図る。

A. 研究目的

cART の進歩により感染者余命が延長した事による今日の問題点として HIV 関連神経認知障害 (HAND) があり、その対応が求められている。HAND の病因に関しては、HIV 感染による神経細胞への直接の毒性および長期感染に伴う中枢神経系 (CNS) での慢性的な炎症が主体である。この事より本研究の目的として、①良好な CNS 移行性、すなわち良好な blood-brain barrier (BBB: 脳血管関門) 透過性を有し②薬剤耐性株に強力な活性を有し③耐性出現が遅延し④毒性の低い (安全性が高い)、治療薬開発を主眼とする。本研究では、企業への早期導出を要に応じて図るが、申請者らによる前臨床・早期臨床試験(第 1 相・2a 相)の国内での推進を前提とする。

B. 研究方法

研究代表者らは米国Purdue大学の研究グループ

と共同で、①既存抗HIV剤耐性株に有効で、②耐性発現が著明に遅延、かつ③良好なCNS移行性を有すると期待されるリード化合物を既に複数同定・報告しているが (Miguel & Mitsuya. *Antimicrob Agents Chemother* 57: 6110-6121, 2013)、これら3点について更にデザイン・合成を続けて最適化を進める。

1) CNS移行性評価として、経口投与された化合物の生体膜通過性に影響を与える脂溶性の指標である LogP_{ow} (octanol-water partition coefficients) を測定、また脳毛細血管内皮細胞 (サル由来)、血管周皮細胞および星状神経膠細胞 (ラット由来) を用いた *in vitro* BBB再構築システム (Nakagawa & Niwa, *Cell Mol Neurobiol* 27: 687-694, 2007) を用いて、各候補化合物のBBB透過性の評価を進める。
2) 検討中の化合物の抗HIV-1活性評価：抗HIV-1活性の評価には実験室内野生株である HIV-1_{LAI} 株およびヒトT細胞由来MT2細胞を用いたMTTアッ

セイ法を用いた。また有望な化合物については MT4細胞やPBMCを用いたp24アッセイにより臨床分離株や多剤耐性株に対する抗ウイルス活性を検討し、更に試験管内で耐性変異株の誘導を試み、誘導された耐性株においてウイルス学・遺伝子学的解析や結晶解析による耐性発現メカニズムの解析を行う。

(倫理面への配慮) 本プロジェクトにおいて開発予定の良好な CNS 移行性を有すると期待される化合物の臨床試験導入に際して、まず動物実験などでその安全性を十分に確認する。動物実験においては、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」に準拠し実施する。

C. 研究結果

フッ素原子を付加する事により化合物の安定性や脂溶性が向上するとされており、この知見を鍵とした合成展開を行う事で複数の化合物を新たに合成し詳細な検討を行った結果、前述したように多剤耐性 HIV-1 株に有効かつ良好な CNS 移行性を発揮すると考えられる *bis*-THF-difluoride 構造を有するリード化合物群、GRL-048, -050 を新たに同定・報告した (Miguel & Mitsuya. *Antimicrob Agents Chemother* 57: 6110-6121, 2013)。現時点で AIDS 脳症の第一選択とされる AZT, IDV の、*in vitro* BBB 再構築システムで測定した脳血管透過係数(Papp)がそれぞれ 22.7, 36.7 cm^{-6}/s (Papp が 20 以上ならば試験化合物は容易に脳内に移行、2 以上 10 未満でごくわずかに脳内に移行する)、また DRV の Papp 値が 9.9 cm^{-6}/s であったのに対し、これら 2 化合物の Papp 値は 47.8~61.8 cm^{-6}/s であり、非常に良好な CNS 移行性を有し得ることが示唆された。更に、構造上 fluorinated もしくは difluorinated な化合物であり、既存薬の抗 HIV-1

活性を凌ぐウイルス増殖抑制効果および低い細胞毒性を示す 5 種類の CNS 標的化合物群 (GRL-083, -084, -085, -086, -087) を新たに同定、これら化合物の BBB 透過性は Papp 値が 37.3 ~ 77.1 cm^{-6}/s と、既存抗 HIV 剤において優れた脳内移行性を示すとされる AZT, ABC, IDV より良好であった。更に構造解析の結果、これら化合物に付加されたフッ素原子は、CNS 移行性を向上させるだけではなく、化合物の HIV-1 プロテアーゼ活性中心部位への結合をより強固にする事が示唆された (Amano, Mitsuya, *et.al.* 投稿準備中)。これらの結果は新規に合成した化合物群が HAND の有望な予防/治療薬候補と成り得る可能性を示す。

D. 考察

感染・発症者の生活の質(QOL)のみならず生命予後の悪化につながる HAND などの CNS 障害に有効な HIV 新薬が開発されれば、日本と世界の感染・発症者に大きな福音をもたらすのみならず、医療分野における日本の成長戦略の一つとして大きく期待される。研究代表者らは米国研究グループとの共同研究で既に種々の耐性株に有効で、耐性株の出現が著しく遅延し、かつ良好な CNS 透過性を有するリード化合物の開発・同定に成功し、更に構造最適化を進め有望な化合物を複数同定しており、今後はこれら候補化合物の HIV 感染ヒト末梢単核球移植重症免疫不全 (hPBMC-NOJ) マウスで生体内での抗 HIV 活性を検討すると共に、マウス脳内への移行性についても検討する。

E. 結論

本研究では強力な抗 HIV-1 活性と良好な CNS 移行性を発揮する新規抗 HIV 剤のデザイン・合成・評価を進めた。今後も最適化を継続し、動物実験および臨床試験に移行し得る化合物の開発を進める。

F. 研究発表

- 1) Ghosh, AK., Yashchuk, S., Mizuno, A., Chakraborty, N., Agniswamy, J., Wang, YF., Aoki, M., Gomez, PMS., Amano, M., Weber, IT. and Mitsuya, H. Design of gem-Difluoro-bis-Tetrahydrofuran as P2 Ligand for HIV-1 Protease Inhibitors to Improve Brain Penetration: Synthesis, X-ray Studies, and Biological Evaluation. *ChemMedChem*. 10, 107-115, 2015.
- 2) Yedidi, RS., Garimella, H., Aoki, M., Aoki, H., Desai, DV., Chang, SB., Davis, DA., Fyvie, WS., Kaufman, JD., Smith, DW., Das, D., Wingfield, PT., Maeda, K., Ghosh, AK., and Mitsuya, H. Conserved hydrogen-bonding network of P2 bis-tetrahydrofuran containing HIV-1 protease inhibitors (PI) with protease active site amino acid-backbone aid in their activity against PI-resistant HIV. *Antimicrob. Agents Chemother.* 58(7): 3679-3688, 2014.
- 3) Hayashi, H., Takamune, N., Nirasawa, T., Aoki, M., Morishita, Y., Das, D., Koh, Y., Ghosh, AK., Misumi, S. and Mitsuya, H. Dimerization of HIV-1 protease occurs through two steps relating to the mechanism of protease dimerization inhibition by darunavir. *Proc Natl Acad Sci*, 111: 12234-12239, 2014.
- 4) Muftuoglu, Y., Sohl, CD., Mislak, AC., Mitsuya, H., Sarafianos, SG. and Anderson, KS. Probing the molecular mechanism of action of the HIV-1 reverse transcriptase inhibitor 4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) using pre-steady-state kinetics. *Antiviral Res.* 106: 1-4, 2014.
- 5) Michailidis, E., Huber, AD., Ryan, EM., Ong, YT., Leslie, MD., Matzek, KB., Singh, K., Marchand, B., Hagedorn, AN., Kirby, KA., Rohan, LC., Kodama, EN., Mitsuya, H., Parniak MA., and Sarafianos SG. 4'-Ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) Inhibits HIV-1 Reverse Transcriptase with Multiple Mechanisms, *J Biol Chem.* 289: 24533-24548, 2014.
- 6) Ghosh, AK., Schiltz, GE., Rusere, LN., Osswald, HL., Walters, DE., Amano, M. and Mitsuya H. Design and synthesis of potent macrocyclic HIV-1 protease inhibitors involving P1-P2 ligands. *Org Biomol Chem.* 12: 6842-6854, 2014.
- 7) Tabata, N., Yamamuro, M., Sugiyama, S., Mizobe, M., Takashio, S., Tsujita, K., Yamamoto, E., Tanaka, T., Kojima, S., Kaikita, K., Tayama, S., Hokimoto, S., Syudo, C., Miyakawa, T., Mitsuya, H. and Ogawa, H. A case of human immunodeficiency virus-related heart failure resembling dilated cardiomyopathy but accompanied by high cardiac output. *JC Cases.* 10: 167-170, 2014.
- 8) Yoshida, R., Nakayama, H., Takahashi, N., Nagata, M., Tanaka, T., Nakamoto, M., Sato, H., Miyakawa, T., Mitsuya, H. and Shinohara, M. A case of AIDS-associated oral Kaposi's sarcoma of the tongue. *JOMSMP.* 26: 170-174, 2014.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

新薬開発臨床領域

研究分担者 岡 慎一

(独) 国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センター センター長

研究要旨 昨年度までの研究により、HAND の診断のための日本での共通の心理検査バッテリーが決定できた。本年度は、その使い方に関する手技の均てん化がなされた。これにより、中枢神経系透過性を有する新規抗 HIV 薬を開発する時の多施設共同臨床試験時に、共通の物差しで HAND の評価が行えるようになった。

A. 研究目的

感染者の予後の改善に伴う感染者の高齢化に伴い、HIV 関連認知症 (HAND) の問題は、今後大きくなることが予想される。本研究で開発される薬剤は、HAND への治療という観点から重要であるが、世界的にも現在 HAND の診断基準はあるものの診断法は確立されていない。今年度の目的は、昨年度決定した神経心理検査バッテリーを心理士が実施するにあたり、習熟度の差によるばらつきがでないよう検査方法の標準化をすることにある。

B. 研究方法

昨年度決定した神経心理検査バッテリーを使用するには、心理士が使い方に習熟する必要がある。このため、複数回の研修会を開催し、コアバッテリーの習熟を促した。

(倫理面への配慮)

今年度の研究では、倫理的な問題はない。

C. 研究結果

以下の3回、全国規模での研修会を実施した。

第1回目：2014年4月20日（東京）

参加施設数 13 施設、参加人数 24 名

内容：コアバッテリーの最終確認と実施順の決定および習熟のための研修。

第2回目：2014年5月24日（福岡）

参加施設数 8 施設、参加人数 13 名

内容：大阪以西の西日本の施設をカバーするためのコアバッテリーの研修会。

第3回目：2014年6月28日（東京）

参加施設数 4 施設、参加人数 10 名

内容：名古屋以東の中部および東日本の施設をカバーするためのコアバッテリーの研修会。

D. 考察

従来、施設ごとの HAND の罹患率などにも大きな相違があったが、これは、診断法が異なっていることに起因していた。多施設共同臨床試験の効果判定に用いるためには、最低限の診断のためのコアとなるバッテリーを決めておく必要があり、その意味で、本研究の成果の意義は大きいといえる。

この様な背景のもと、昨年度全国統一のコアバッテリーを決定、今年度その使用方法の標準化を行ったことで、HAND 克服を目指す治療薬による多施設共同臨床試験実施に向けた基本的な準備が整ったといえる。

E. 結論

HAND の診断のための日本共通の心理検査バッテリーを決定、使用方法の標準化を行った。

本研究班による2年間で、日本におけるHAND診断のための共通の神経心理検査バッテリーが決定し、その利用方法に関する研修により手技の均てん化が図られた。これにより、中枢神経系透過性を有する新規抗HIV薬を開発する時の多施設共同臨床試験時に、共通の物差しでHANDの評価が行えるようになった。

F. 研究発表

1. Hamada Y, Nagata N, Nishijima T, Shinbo T, Asayama N, Kishida Y, Sekine K, Tanaka S, Aoki T, Watanabe K, Akiyama J, Igari T, Mizokami M, Uemura N, and Oka S. Impact of HIV Infection on Colorectal Tumors, Prospective Colonoscopic Study in Asia. *JAIDS* 65 (3): 312-317, 2014.
2. Matsunaga A, Hishima T, Tanaka N, Yamazaki M, Mochizuki M, Tanuma J, Oka S, Ishizaka Y, Shimura M and Hagiwara S. DNA methylation profiling can classify HIV-associated lymphomas. *AIDS* 28(4):503-510, 2014.
3. Watanabe K, Aoki T, Nagata N, Tanuma J, Kikuchi Y, Oka S and Gatanaga H. Clinical significance of high anti-Entamoeba histolytica antibody titer in asymptomatic HIV-1-infected individuals. *J Infect Dis* 209 (11): 1801-1807, 2014.
4. Nishijima T, Shimbo T, Komatsu H, Hamada Y, Gatanaga H, and Oka S. Cumulative exposure of ritonavir-boosted atazanavir is associated with cholelithiasis formation in patients with HIV-1 infection. *J Antimicrob Chemothera* 67 (5): 1385-1389, 2014.
5. Kinai E, Nishijima T, Mizushima D, Watanabe K, Aoki T, Honda H, Yazaki H, Genka I, Tanuma J, Teruya K, Tsukada K, Gatanaga H, Kikuchi Y, and Oka S. Prevalence and risk factors of bone mineral density abnormalities in Japanese HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retrovirol* 30 (6): 553-559, 2014.
6. Tanuma J, Quang VM, Joya A, Hachiya A, Watanabe K, Gatanaga H, Chau NVV, Chinh NT, and Oka S. Low prevalence of drug resistant HIV-1 transmission while antiretroviral therapy was scaling up in Southern Vietnam in 2008-2012. *JAIDS* 66 (4): 358-364, 2014.
7. Tsuchiya K, Hayashida T, Hamada A, Kato S, Oka S, and Gatanaga H. Low raltegravir concentration in cerebrospinal fluid in patients with ABCG2 genetic variants. *JAIDS* 66 (5): 484-486, 2014.
8. Nishijima T, Kawasaki Y, Tanaka N, Tanuma J, Tsukada K, Teruya K, Kikuchi Y, Gatanaga H, and Oka S. Long-term tenofovir exposure consistently deteriorates renal function in HIV-1-infected patients with low body weight: results from 10 years of observational cohort. *AIDS* 28(13): 1903-1910, 2014.
9. Nishijima T, Tsuchiya K, Tanaka N, Joya A, Hamada Y, Mizushima D, Aoki T, Watanabe K, Kinai E, Honda H, Yazaki H, Tanuma J, Tsukada K, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S, and Gatanaga H. Single nucleotide polymorphisms in UDP-glucuronosyltransferase 1A-3'untranslated region are associated with atazanavir-induced nephrolithiasis in patients with HIV-1 infection: A pharmacogenetic study. *J Antimicrob Chemothera* 69 (12) 3320-3328, 2014.
10. Nishijima T, Gatanaga H, Teruya K, Tajima T, Kikuchi Y, Hasuo K, Oka S. Brain magnetic resonance imaging screening is not useful for HIV-1-infected patients without neurological symptoms. *AIDS Res Hum Retrovirus* 30 (10): 970-974, 2014.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

新薬開発臨床領域

研究分担者 宮川 寿一

熊本大学医学部附属病院 感染免疫診療部 助教

研究要旨 今年度の研究では、HAND スクリーニング・診断・管理の推奨ツールである Raise HAND program スクリーニング検査を導入し、自覚症状のない無症候性神経認知障害(ANI)や軽度神経認知障害(MND) が疑われる患者を同定した。また、LogPow (octanol-water partition coefficients)の測定と脳毛細血管内皮細胞 (サル由来)、血管周皮細胞および星状神経膠細胞 (ラット由来) を用いた *in vitro* BBB (脳血管関門) 再構築システムを用いて、既存の各抗 HIV 薬の脳血管移行係数を測定し、今後の各候補化合物の BBB 透過性を定量的に測定した。

A. 研究目的

抗 HIV 薬の多剤併用療法 (cART) により HIV 感染者の長期生存が可能になったが、HIV 関連神経認知疾患 (HAND) を発症した患者は QOL や社会活動性の低下を来し、服薬アドヒアランス低下の結果、耐性 HIV ウイルスを誘導するなど大きな問題となっている。患者の長期生存に伴う患者の高齢化とともに、症状の顕在化により大きな問題となると考えられる。一方で、HAND のスクリーニング法は本邦で確立したものがなく、多くの施設で常勤の心理士がいない状況で、短時間で施行可能で、かつ精度の高い HAND スクリーニング検査の確立が切望されている。また、抗 HIV 剤の中枢神経系 (CNS) 移行指数として CPE スコアが用いられているが、あくまでもこれは薬剤の中枢移行性を 4 段階に分類した指標であり、各抗 HIV 剤の中枢移行性に関する定量的な評価が今後必要となる。

B. 研究方法

EACS と BHIVA ガイドラインに基づき、アジア太平洋および中東地域の HAND 諮問委員会によって提唱された HAND スクリーニング・診断・

管理の推奨ツールであり、検査実施時間が 15 分程度である Raise HAND program スクリーニング検査を用い、自覚症状のない無症候性神経認知障害(ANI)や軽度神経認知障害(MND) が疑われる患者を同定し、全国 18 施設の心理士による検討会及び、琉球大学の富永教授の監修を経て、作成された HAND 診断のための神経心理コアバッテリーを用いて HAND の確定診断を行う。また、CNS 移行性評価として、経口投与された化合物の生体膜通過性に影響を与える脂溶性の指標である LogPow (octanol-water partition coefficients) を測定、また脳毛細血管内皮細胞 (サル由来)、血管周皮細胞および星状神経膠細胞 (ラット由来) を用いた *in vitro* BBB (脳血管関門) 再構築システム (Nakagawa, 2007) を用いて、各候補化合物の BBB 透過性の評価を進める。

(倫理面への配慮)

今年度の研究では、倫理的な問題はない。

C. 研究結果

Raise HAND program スクリーニング検査を用い、自覚症状のない無症候性神経認知障害 (ANI)や軽度神経認知障害(MND) が疑われる患

者を同定し、特徴的な異常所見を解析し、服薬支援や生活支援などの介入を行った。今後は分担者の岡らにより作成された HAND 診断のための神経心理コアバッテリーを用いて HAND の確定診断を行う。

核酸系逆転写阻害剤(NRTI)である AZT, ABC, 3TC, TDF, 非核酸系逆転写酵素阻害剤である EFV プロテアーゼ阻害剤(PI)である IDV, SQV, APV, ATV, LPV, DRV, インテグラーゼ阻害剤である RAL を用いて *in vitro* BBB 再構築システムにおける脳血管移行係数 (apparent permeability coefficient ; Papp) を測定し、各薬剤の CNS 移行性を定量的に評価するとともに、新規薬剤に関する評価も行った。

D. 考察

本邦ではエイズ拠点病院をはじめ HIV 診療を行っている多くの施設において、心理士はエイズ予防財団等からの派遣などによりパートタイムで勤務している状況であり、神経心理検査を行う時間は限られており、短時間で施行可能な HAND スクリーニング検査の確立が強く望まれている。我々は Raise HAND program スクリーニング検査を用い、自覚症状のない無症候性神経認知障害 (ANI) や軽度神経認知障害 (MND) が疑われる患者を同定し、特徴的な異常所見を解析し、服薬支援や生活支援などの介入が可能であった。また、臨床使用されている各抗 HIV 剤の CNS 移行性を網羅的に定量化して評価することは、HAND 症例に対して、最適な治療薬選択 (オーダーメイド治療) に貢献しうるものと考えられた。

E. 結論

今年度の研究で HAND スクリーニング・診断・管理の推奨ツールである Raise HAND program スクリーニング検査を導入し、自覚症状のない無症候性神経認知障害 (ANI) や軽度神経認知障害 (MND) が疑われる患者を同定した。また、LogPow (octanol-water partition coefficients) の

測定と脳毛細血管内皮細胞 (サル由来)、血管周皮細胞および星状神経膠細胞 (ラット由来) を用いた *in vitro* BBB (脳血管関門) 再構築システムを用いて、脳血管移行係数を測定し、既存の抗 HIV 薬と各候補化合物の BBB 透過性を同定した。今後は、cART の薬剤組み合わせで脳血管移行係数を同定し、同一の薬剤組み合わせで加療を受けている患者の HAND の割合と対比することで、HAND 症例に対して、最適な治療薬選択 (オーダーメイド治療) を導入可能になると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tabata, N., Yamamuro, M., Sugiyama, S., Mizobe, M., Takashio, S., Tsujita, K., Yamamoto, E., Tanaka, T., Kojima, S., Kaikita, K., Tayama, S., Hokimoto, S., Syudo, C., Miyakawa, T., Mitsuya, H. and Ogawa, H. A case of human immunodeficiency virus-related heart failure resembling dilated cardiomyopathy but accompanied by high cardiac output. *JC Cases*. 10: 167-170, 2014.
- 2) Yoshida, R., Nakayama, H., Takahashi, N., Nagata, M., Tanaka, T., Nakamoto, M., Sato, H., Miyakawa, T., Mitsuya, H. and Shinohara, M. A case of AIDS-associated oral Kaposi's sarcoma of the tongue. *JOMSMP*. 26: 170-174, 2014.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ghosh, AK., Yashchuk, S., Mizuno, A., Chakraborty, N., Agniswamy, J., Wang, YF., Aoki, M., Gomez, PMS., Amano, M., Weber, IT. and <u>Mitsuya, H.</u>	Design of gem-Difluoro-bis-Tetrahydrofuran as P2 Ligand for HIV-1 Protease Inhibitors to Improve Brain Penetration: Synthesis, X-ray Studies, and Biological Evaluation.	<i>ChemMedChem.</i>	10	107-115	2015
Yedidi, RS., Garimella, H., Aoki, M., Aoki, H., Desai, DV., Chang, SB., Davis, DA., Fyvie, WS., Kaufman, JD., Smith, DW., Das, D., Wingfield, PT., Maeda, K., Ghosh, AK., and <u>Mitsuya, H.</u>	A conserved hydrogen-bonding network of P2 bis-tetrahydrofuran containing HIV-1 protease inhibitors (PIs) with a protease active-site amino acid backbone aids in their activity against PI-resistant HIV.	<i>Antimicrob. Agents Chemother.</i>	58(7)	3679-3688	2014
Hayashi, H., Takamune, N., Nirasawa, T., Aoki, M., Morishita, Y., Das, D., Koh, Y., Ghosh, AK., Misumi, S. and <u>Mitsuya, H.</u>	Dimerization of HIV-1 protease occurs through two steps relating to the mechanism of protease dimerization inhibition by darunavir.	<i>Proc Natl Acad Sci</i>	111	12234-12239	2014
Muftuoglu, Y., Sohl, CD., Mislak, AC., <u>Mitsuya, H.</u> , Sarafianos, SG. and Anderson, KS.	Probing the molecular mechanism of action of the HIV-1 reverse transcriptase inhibitor 4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) using pre-steady-state kinetics.	<i>Antiviral Res.</i>	106	1-4	2014
Michailidis, E., Huber, AD., Ryan, EM., Ong, YT., Leslie, MD., Matzek, KB., Singh, K., Marchand, B., Hagedorn, AN., Kirby, KA., Rohan, LC., Kodama, EN., <u>Mitsuya, H.</u> , Parniak MA., and Sarafianos SG.	4'-Ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) Inhibits HIV-1 Reverse Transcriptase with Multiple Mechanisms.	<i>J Biol Chem.</i>	289	24533-24548	2014
Ghosh, AK., Schiltz, GE., Rusere, LN., Osswald, HL., Walters, DE., Amano, M. and <u>Mitsuya H.</u>	Design and synthesis of potent macrocyclic HIV-1 protease inhibitors involving P1-P2 ligands.	<i>Org Biomol Chem.</i>	12	6842-6854	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tabata, N., Yamamuro, M., Sugiyama, S., Mizobe, M., Takashio, S., Tsujita, K., Yamamoto, E., Tanaka, T., Kojima, S., Kaikita, K., Tayama, S., Hokimoto, S., Syudo, C., <u>Miyakawa, T.</u> , <u>Mitsuya, H.</u> and Ogawa, H.	A case of human immunodeficiency virus-related heart failure resembling dilated cardiomyopathy but accompanied by high cardiac output.	<i>JC Cases.</i>	10	167-170	2014
Yoshida, R., Nakayama, H., Takahashi, N., Nagata, M., Tanaka, T., Nakamoto, M., Sato, H., <u>Miyakawa, T.</u> , <u>Mitsuya, H.</u> and Shinohara, M.	A case of AIDS-associated oral Kaposi's sarcoma of the tongue.	<i>JOMSMP.</i>	26	170-174	2014
Hamada Y, Nagata N, Nishijima T, Shinbo T, Asayama N, Kishida Y, Sekine K, Tanaka S, Aoki T, Watanabe K, Akiyama J, Igari T, Mizokami M, Uemura N, and <u>Oka S.</u>	Impact of HIV Infection on Colorectal Tumors, Prospective Colonoscopic Study in Asia.	<i>JAIDS</i>	65(3)	312-317	2014
Matsunaga A, Hishima T, Tanaka N, Yamazaki M, Mochizuki M, Tanuma J, <u>Oka S.</u> , Ishizaka Y, Shimura M and Hagiwara S.	DNA methylation profiling can classify HIV-associated lymphomas.	<i>AIDS</i>	28(4)	503-510	2014
Watanabe K, Aoki T, Nagata N, Tanuma J, Kikuchi Y, <u>Oka S</u> and Gatanaga H.	Clinical significance of high anti-Entamoeba histolytica antibody titer in asymptomatic HIV-1-infected individuals. <i>J Infect Dis</i>	<i>J Infect Dis</i>	209(11)	1801-1807	2014
Nishijima T, Shimbo T, Komatsu H, Hamada Y, Gatanaga H, and <u>Oka S.</u>	Cumulative exposure of ritonavir-boosted atazanavir is associated with cholelithiasis formation in patients with HIV-1 infection.	<i>J Antimicrob Chemothera</i>	67(5)	1385-1389	2014
Kinai E, Nishijima T, Mizushima D, Watanabe K, Aoki T, Honda H, Yazaki H, Genka I, Tanuma J, Teruya K, <u>Tsukada K.</u> , Gatanaga H, Kikuchi Y, and <u>Oka S.</u>	Long-Term Use of Protease Inhibitors Is Associated with Bone Mineral Density Loss	<i>AIDS Res Hum Retrovirol</i>	30(6)	553-559	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tanuma J, Quang VM, Joya A, Hachiya A, Watanabe K, Gatanaga H, Chau NVV, Chinh NT, and <u>Oka S.</u>	Low prevalence of drug resistant HIV-1 transmission while antiretroviral therapy was scaling up in Southern Vietnam in 2008-2012.	<i>JAIDS</i>	66(4)	358-364	2014
Tsuchiya K, Hayashida T, Hamada A, Kato S, <u>Oka S.</u> and Gatanaga H.	Low raltegravir concentration in cerebrospinal fluid in patients with ABCG2 genetic variants.	<i>JAIDS</i>	66(5)	484-486	2014
Nishijima T, Kawasaki Y, Tanaka N, Tanuma J, <u>Tsukada K.</u> Teruya K, Kikuchi Y, Gatanaga H, and <u>Oka S.</u>	Long-term tenofovir exposure consistently deteriorates renal function in HIV-1-infected patients with low body weight: results from 10 years of observational cohort.	<i>AIDS</i>	28(13)	1903-1910,	2014
Nishijima T, Tsuchiya K, Tanaka N, Joya A, Hamada Y, Mizushima D, Aoki T, Watanabe K, Kinai E, Honda H, Yazaki H, Tanuma J, <u>Tsukada K.</u> Teruya K, Kikuchi Y, <u>Oka S.</u> and Gatanaga H.	Single nucleotide polymorphisms in UDP-glucuronosyltransferase 1A-3'untranslated region are associated with atazanavir-induced nephrolithiasis in patients with HIV-1 infection: A pharmacogenetic study.	<i>J Antimicrob Chemothera</i>	69(12)	3320-3328	2014
Nishijima T, Gatanaga H, Teruya K, Tajima T, Kikuchi Y, Hasuo K, <u>Oka S.</u>	Brain magnetic resonance imaging screening is not useful for HIV-1-infected patients without neurological symptoms.	<i>AIDS Res Hum Retrovirus</i>	30(10)	970-974	2014

VIP

Design of *gem*-Difluoro-*bis*-Tetrahydrofuran as P2 Ligand for HIV-1 Protease Inhibitors to Improve Brain Penetration: Synthesis, X-ray Studies, and Biological Evaluation

Arun K. Ghosh,^{*[a]} Sofiya Yashchuk,^[a] Akira Mizuno,^[a] Nilanjana Chakraborty,^[a] Johnson Agniswamy,^[b] Yuan-Fang Wang,^[b] Manabu Aoki,^[c] Pedro Miguel Salcedo Gomez,^[c] Masayuki Amano,^[c] Irene T. Weber,^[b] and Hiroaki Mitsuya^[c, d, e]

The structure-based design, synthesis, biological evaluation, and X-ray structural studies of fluorine-containing HIV-1 protease inhibitors are described. The synthesis of both enantiomers of the *gem*-difluoro-*bis*-THF ligands was carried out in a stereoselective manner using a Reformatskii–Claisen reaction as the key step. Optically active ligands were converted into protease inhibitors. Two of these inhibitors, (3*R*,3*aS*,6*aS*)-4,4-difluorohexahydrofuro[2,3-*b*]furan-3-yl(2*S*,3*R*)-3-hydroxy-4-((*N*-isobutyl-4-methoxyphenyl)sulfonamido)-1-phenylbutan-2-yl carbamate (**3**) and (3*R*,3*aS*,6*aS*)-4,4-difluorohexahydrofuro[2,3-*b*]furan-3-yl(2*S*,3*R*)-3-hydroxy-4-((*N*-isobutyl-4-aminophenyl)sulfonamido)phenylbutan-2-yl carbamate (**4**), exhibited HIV-1 protease inhibitory K_i values in the picomolar range. Both **3** and **4**

showed very potent antiviral activity, with respective EC_{50} values of 0.8 and 3.1 nM against the laboratory strain HIV-1_{LAI}. The two inhibitors exhibited better lipophilicity profiles than darunavir, and also showed much improved blood–brain barrier permeability in an in vitro model. A high-resolution X-ray structure of inhibitor **4** in complex with HIV-1 protease was determined, revealing that the fluorinated ligand makes extensive interactions with the S2 subsite of HIV-1 protease, including hydrogen bonding interactions with the protease backbone atoms. Moreover, both fluorine atoms on the *bis*-THF ligand formed strong interactions with the flap Gly48 carbonyl oxygen atom.

Introduction

The introduction of fluorine in bioactive molecules is an important strategy in medicinal chemistry.^[1,2] Fluorine can improve metabolic stability, membrane permeability, and protein–ligand interactions.^[3,4] There are numerous approved drugs that contain fluorine atoms. In our continuing interest in the design and synthesis of nonpeptide HIV-1 protease inhibitors (PIs) with clinical potential, we reported a number of exceptionally potent HIV-1 PIs that incorporate a variety of novel ligands and scaffolds targeting the active site HIV-1 protease backbones.^[5,6]

This molecular design strategy resulted in inhibitors that maintain robust activity against HIV-1 variants resistant to the currently approved HIV-1 PIs. One of these inhibitors is darunavir (**1**, DRV, Figure 1), which has been used clinically worldwide as a first-line therapy for the treatment of HIV/AIDS.^[7–9] For darunavir, we incorporated a structure-based-designed and stereochemically defined P2 ligand, (3*R*,3*aS*,6*aR*)-*bis*-tetrahydrofurany-

[a] Prof. Dr. A. K. Ghosh, S. Yashchuk, A. Mizuno, N. Chakraborty
Departments of Chemistry and Medicinal Chemistry
Purdue University, West Lafayette, IN 47907 (USA)
E-mail: akghosh@purdue.edu

[b] J. Agniswamy, Y.-F. Wang, Prof. I. T. Weber
Department of Biology, Molecular Basis of Disease
Georgia State University, Atlanta, GA 30303 (USA)

[c] M. Aoki, P. M. S. Gomez, M. Amano, Dr. H. Mitsuya
Departments of Hematology and Infectious Diseases
Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto 860-8556 (Japan)

[d] Dr. H. Mitsuya
Experimental Retrovirology Section, HIV and AIDS Malignancy Branch
National Cancer Institute, Bethesda, MD 20892 (USA)

[e] Dr. H. Mitsuya
Center for Clinical Sciences, National Center for Global Health and Medicine, Shinjuku, Tokyo 162-8655 (Japan)

Supporting information for this article is available on the WWW under <http://dx.doi.org/10.1002/cmdc.201402358>.

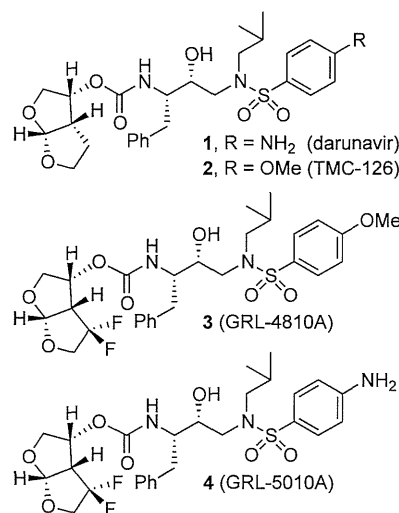


Figure 1. Structure of darunavir (**1**) and PIs **2–4**.