

# 行政院及所屬各機關出國報告

(出國類別：短期進修)

## 赴美國加州大學舊金山校區醫學中心 短期進修心得報告

服務機關：國防大學國防醫學院  
出國人 職稱：上校教授  
姓名：徐令儀  
出國地區：美國加州大學舊金山校區  
出國期間：91/07/04 - 91/11/04  
報告日期：91/11/12

Jo/  
C09105087

# 行政院及所屬各機關出國報告

(出國類別：短期進修)

## 赴美國加州大學舊金山校區醫學中心 短期進修心得報告

服務機關：國防大學國防醫學院  
出國人 職稱：上校教授  
姓名：徐令儀  
出國地區：美國加州大學舊金山校區  
出國期間：91/07/04 – 91/11/04  
報告日期：91/11/12

## 行政院及所屬各機關出國報告提要

出國報告名稱：

赴美國加州大學舊金山校區醫學中心短期進修心得報告

頁數\_\_12\_\_ 含附件：是 否

出國計畫主辦機關/聯絡人/電話

國防大學國防醫學院/楊素足

出國人員姓名/服務機關/單位/職稱/電話

徐令儀/國防大學國防醫學院藥學系/上校教授/87923199-18870

出國類別：考察 進修 研究 實習 其他

出國期間：91/07/04 – 91/11/04 出國地區：美國加州大學舊金山校區

報告日期：91/11/12

分類號/目：藥學

關鍵詞：輻射防護劑研發，愛滋病新藥的研發

內容摘要：(二百至三百字)

美國加州大學舊金山校區的醫學中心，醫藥研究成果斐然，職對於在此進修擬訂目標為收集研究題材及資料與訪視研究。職所收集研究題材有與建軍備戰有關的題材『輻射防護劑研發』，另有『愛滋病新藥的研發』。此外並在 Prof Benet Lab 進行訪視研究，也參與他們的研討會，看他們做藥物在離體肝細胞的代謝研究，職在此並幫助他們合成一些化合物，以驗證藥物代謝分子化學結構的正確性。

本文電子檔已上傳至出國報告資訊網 (<http://report.gsn.gov.tw>)

# 目次

壹 目的	4
貳 過程	4
參 心得	11
肆 建議	12
伍 附錄	13

## 壹 目的

美國加州大學舊金山校區的醫學中心，醫藥研究成果斐然，該中心曾有三人得到諾貝爾獎，目前有多項研究居世界領導地位。該醫學中心學術活動頻繁，除了經常性的學術演講外，還有來自世界各地醫學中心、著名藥廠、生物技術公司等各地的傑出研究學者的特別演講與研究活動，正由於蓬勃的學術研究環境孕育出世界級的研究成果與傑出人才，此外、醫學圖書館藏書尤其豐富，資料非常完備，因此能申請到此醫學中心進行短期的學習活動，非常高興，對此難得的機會備感珍惜。由於職在國防醫學院多年來從事教學與新藥開發的研究工作，因此對於本次出國短期進修擬訂目標為收集研究題材及資料與訪視研究。

## 貳 過程

自接獲〈九一〉鍊銜第 002649 號奉準出國今後，職隨即參加上出國講習，並辦理出國前準備事宜，準備妥當後即於九十一年七月四日搭乘華航班機直飛美國舊金山，抵達舊金山後幸賴過去同事伍齊元接機並送至住宿處。美國加州大學舊金山校區的醫學中心，醫藥研究成果斐然，尤其是藥學研究領域，更居世界領導地位。該醫學中心學術活動頻繁，經常有來自世界各地大師級的傑出研究學者的特別演講與研究活動，此外、醫學圖書館藏書豐富，

資料完備，因此，職在此能充分收集到一些筆者在台灣未曾找到的研究題材與資料。所收集研究題材有兩大類：一類是與建軍備戰有關的題材『輻射防護劑研發』，另一類是『愛滋病新藥的研發』，前者是因應當前建軍備戰的需要，後者是個人研究興趣。

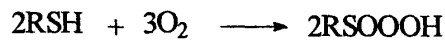
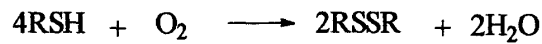
#### 一、 輻射防護劑研發現況

輻射防護劑的研發並未受到世界級大藥廠重視，原因是藥廠無利可圖。而開發輻射防護劑的國家又侷限於擁有核武的大國，如美國、蘇聯、法國、波蘭、韓國與中共，筆者特別注意到中共在這方面的研發工作。中共在這方面的研發單位計有中國醫學科學院軍事醫學科學院放射研究所（北京）、軍事醫學科學院放射研究所（天津）、中國科學院上海藥物研究所等四個單位，研究人員共計三十二名，共合成一百四十七個化合物以進行動物實驗，觀察這些化合物對於受輻射源照射小鼠之防護效果。若依化學結構分類，這些化合物可分類如下：1,2-二硫戊烷叔胺類化合物，異蚤蟻醇及其衍生物，烷基硫代磷酸化合物，類化合物，2-苯基與2-對氯苯基硫代嗎啡及其取代化合物，硫辛酸氨基酯，2,2'-芳亞鱗基)二乙基硫代硫酸鈉，雌二醇-3, 17-取代物，香豆素衍生物等。

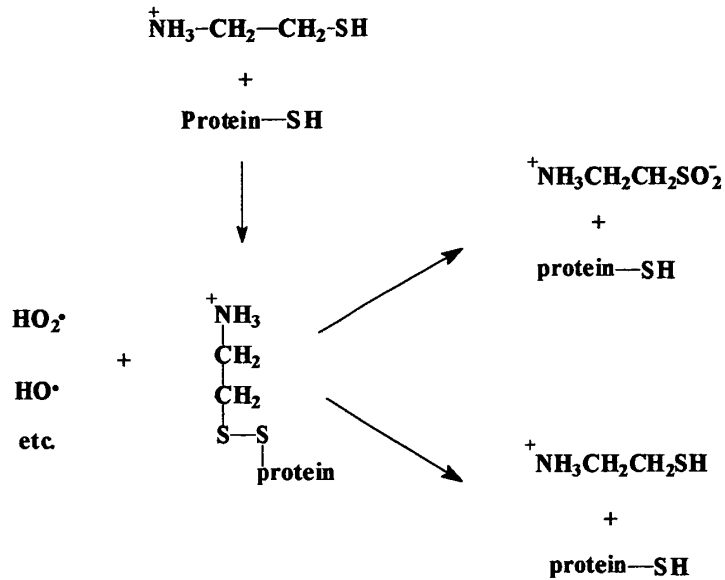
對於輻射防護劑的研，美國學者 Foye 氏對輻射防護劑有廣泛

之研究報導，它們是分子結構中具有 mercaptans， di-， tri-sulfides， phosphorothioates， alcohols， acid hydrazides， imidazoles， benzofurans， amine oxides， 或 thiazolidines 的化學物質。分析這些輻射防護劑分子組成不難發現，多數都是含有硫醇(SH)的化學物質，它們達成輻射防護可能之作用機轉如下：

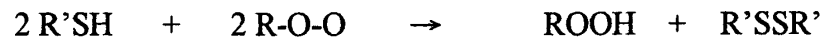
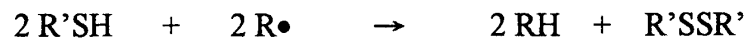
1. 低氧狀態說(Protection by Anoxia or Hypoxia)：輻射傷害在氧分子存在下造成之傷害是比在缺氧狀態下之傷害大 2-3 倍，一些輻射防護劑(RSH)能造成生物體低氧或缺氧狀態。



2. 混合 S—S 鍵說(Mixed Disulfide Hypothesis)：輻射防護劑含 SH 基與生物體之重要分子(Protein-SH)暫時形成雙硫鍵(S—S)，自由基一旦作用，則雙硫原子中之一硫原子受氧化(RSO<sub>2</sub>)，另一硫原子還原成原來 SH 基，即 Protein-SH。若輻射直接作用時，則 S—S 鍵切斷分子回復成原來 SH 基。



3. 傷害分子修復說(Modes of Restoration)：經由輻射之直接或間接作用造成生物體分子 RH 形成自由基(R•)，R•基互相作用形成二體化(R-R)，或與氧作用，衍生成過氧基(R-O-O•)，輻射防護劑(R'SH)直接與自由基(R•)或與過氧基(R-O-O•)作用，並清除之。



4. 生物化學上之休克說(Biochemical Shock)：輻射防護劑在生物體內進行許多干擾生理現象之效應，如降低組織或細胞對氧之需要量，降低對碳水化合物之利用，以抑制 RNA、DNA 合成，目的



是延緩有絲分裂之進行，讓細胞有足夠時間進行核酸修復，另外亦發現生物體釋放大量內生性 thiols 物質如 Glutathione 以除去自由基。

由以上輻射防護作用機轉可知，化學物質中的硫醇(SH)基團，實在是輻射防護劑能夠發揮清除自由基功能之重要因子，因此，未來開展輻射防護劑的研發工作可由製備含硫醇(SH)基團的化合物著手。

## 二、愛滋病新藥的研發現況

美國疾病防治中心發表報告指出 1997 年有八千萬名美國人感染愛滋病；2001 年底有九千五百萬名美國人感染愛滋病，同時，1997 年有八千萬名非洲人感染者，但至已 2001 年底已有二十八萬五千人受到感染，相對於非洲，美國愛滋病感染人數緩慢上升，控制得宜，這些都要歸功於教育與研究。除了美國政府外，並有許多非利益團體經常宣導愛滋病對生命的危害，並指導民眾遠離感染源。在本人短期研究時間及遇到多次非利益團體舉辦的宣導愛滋病活動，活動方式是邀請民眾遊行，並有影歌名人參與，藉此募集款項，參與民眾也樂於捐獻。除了教育外，美國政府挹注大量研究經費於愛滋病相關研究。

現有治療 HIV 感染的藥物可分為核甘類反轉錄酵素抑制劑

(nucleoside analogues reverse transcriptase inhibitors)、非核甘類反轉錄  
酵素抑制劑 (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors)及蛋白酵  
素抑制劑 (protease inhibitors)等三大類。第一類藥物是核甘類反轉錄  
酵素抑制劑，有 zidovudine、didanosine、zalcitabine、lamivudine、  
stavudine 和 abacavir 等，它們進入標的細胞後，必須經由細胞內的磷  
酸酵素作用，成為三磷酸代謝物，才成為具活性的藥物。第二類藥物  
非核甘類反轉錄酵素抑制劑則包括 nevirapine、delavirdine、efavirenz，  
與核甘類似物的不同處在於這些藥物本身便是有活性的，不需經過磷  
酸化；非競爭性的直接與反轉錄酵素結合。蛋白酵素抑制劑於 1995  
年上市，可抑制病毒的蛋白酵素而產生不具感染力的病毒。現有的藥  
物包括 saquinavir、indinavir、ritonavir、nelfinavir、amprenavir。目前  
治療 AIDS 的藥物仍侷限作用於 HIV 之反轉錄酵素和蛋白酵素，由於  
這些酵素的突變，造成抗藥性病毒快速的產生。因此，運用兩個或更  
多藥物同時針對一個或兩個病毒酵素的合併療法可延緩抗藥性的發  
生。當然，能抑制病毒的其他酵素，對於治療 HIV 感染的合併療法  
將更有助益。而加州大學舊金山校區的醫學中心就是從事第一個新酵  
素抑制劑，整合酵素抑制劑，臨床研究的世界第一個科研機構。整合  
酵素的機能是將經過反轉錄酵素作用而生成的病毒雙股去氧核糖核  
酸接入宿主 DNA 鏈中，過程有二，第一步是三端處理過程

(3'-processing) 或稱雙核甘酸切除過程 (dinucleotide cleavage) ，先將病毒 DNA 鏈其中一股 3' 末端兩個核甘酸 GT 剪除，裸露出尾端 CA-3'-OH。第二步是整合作用 (integration) 或稱鏈移轉 (strand transfer) ，是將前一步修飾過之病毒 DNA 鏈移轉接入宿主 DNA 鏈中，作用機轉是利用修飾過的病毒 DNA 鏈尾端之 CA-3'-OH 對宿主 DNA 鏈中磷酸雙酯鍵進行親核性取代反應。

整合酵素可以做為一個新穎的目標，供藥物設計研究，其理由有下列幾點。第一，HIV-1 整合酵素是病毒複製所必須的酵素。第二，此酵素僅存於 HIV 病毒，宿主細胞並無此酵素。第三，此酵素可經由 DNA 重組技術大量製造。第四，具備快速和靈敏的分析方法，可測試整合酵素抑制劑的活性。第五、此酵素之晶體和 NMR 的結構已大致瞭解可做為藥物設計方向。事實上除了加州大學舊金山校區的醫學中心從事整合酵素抑制劑的臨床研究外，日本 Shionogi & Co. Ltd 與 Merck Co. Ltd 也分別研發出整合酵素抑制劑 S-1360 與 L-870,810，目前正在進行臨床研究，初步研究顯示，這些整合酵素抑制劑的抑制效果頗佳，且與其他 HIV-1 抑制劑併用效果更好。由於本人在國防醫學院多年來從事於愛滋病新藥的研發工作年，也發現一些 coumarin 衍生物具有抑制整合酵素的結果，因此也被邀請演講(講稿如附件)，講完後反應良好，達到學術交流目的。

### 三、訪視研究

除了參與研發治療 HIV 感染的藥物外，Prof Benet Lab 是做藥物代謝的，藥物代謝發展頗快，目前在此我也參加他們的 meeting，看他們做離體的 liver perfusion 藥物代謝研究，及藥物在 hepatocyte 的代謝研究，我在此幫他們合成一些化合物，以驗證 metabolite 分子的正確性。

### 參心得

醫藥科學研究最重要的是研發經費，其次是主持研究人員的素質。美國加州大學舊金山校區的醫學中心研發經費充裕，主持研究人員的素質頂尖，是美國十大醫學科研中心之一，經常有世界級的研究成果發表，也因此吸引世界各地優秀科研人員前往學術交流與學習，益發增強此醫學中心研發能力。良性的循環，造成此醫學中心發展成世界級的研究機構。又由於本醫學中心醫學圖書館藏書豐富，資料完備，筆者在此見到許多第一手資料，例如美國 Walter Reed Army Institute 研究輻射防護劑的報告資料，並收集許多研究題材如『輻射防護劑研發』與『愛滋病新藥的研發』均可作為日後教學與研究的資料。非常感激 National Defense Medical Center 提供了研究津貼使得這次的短期進修得以實現。加州大學舊金山校區醫學中心式的特有學術

文化及邏輯思考對我影響頗深，此次的學習之旅對我在台灣的研究工作有很珍貴及明確的幫助。

#### 肆 建議


綜觀加州大學舊金山校區的醫學中心有充裕的研發經費，吸引了高素質的研究人員，而高素質的研究人員，研發出世界級的研究成果。如此良性的循環方能使舊金山醫學中心發展成世界級的研究機構。因此，研發經費實是發展成尖端科技所必需，故建議政府能提供充足研發經費，設定重點研發題目，招募高素質的研究人員，使台灣的科技水準更上層樓。

#### 伍 附件

**Chemical Modification of 4-Hydroxycoumarin Dimer and Tetramer and Pyrimidine Acyclic Nucleotide and Their HIV-1 Integrase Inhibitory Activity**

Ling-Yih Hsu, Ph.D

School of Pharmacy  
National Defense Medical Center  
Taipei, Taiwan, Rep of China




---

---

---

---

---

---

---

---

**Content**

- ♦ Introduction
- ♦ Chemical Modification of 4-Hydroxycoumarin Dimer and Their HIV-1 Integrase Inhibitory Activity
- ♦ Chemical Modification of 4-Hydroxycoumarin Tetramer and Their HIV-1 Integrase Inhibitory Activity
- ♦ Chemical Modification of Pyrimidine Acyclic Nucleotide and Their HIV-1 Integrase Inhibitory Activity
- ♦ Conclusion

---

---

---

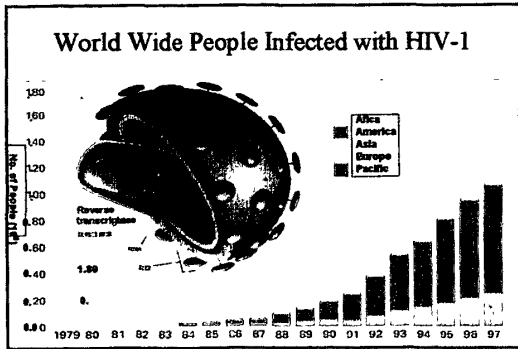
---

---

---

---

---




---

---

---

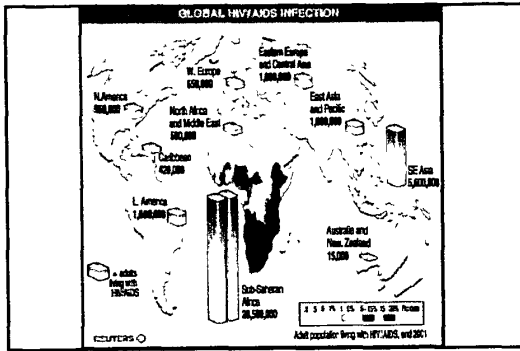
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

**Global estimates**

- ♦ Updated: Dec 04, 2001 As of December 2001, an estimated 40 million people are living with HIV/AIDS. These include 2.7 million children under fifteen years of age living with HIV/AIDS and 17.6 million women.
- ♦ A total of 5 million people are thought to have been newly infected with HIV during 2001, including 1.8 million women and 800,000 children under 15 years of age.
- ♦ The total number of AIDS deaths in 2001 was 3 million. Around 580,000 children under 15 years of age and 1.1 million women died of AIDS during 2001.
- ♦ Since the beginning of the epidemic, more than 20 million people have died of AIDS

---

---

---

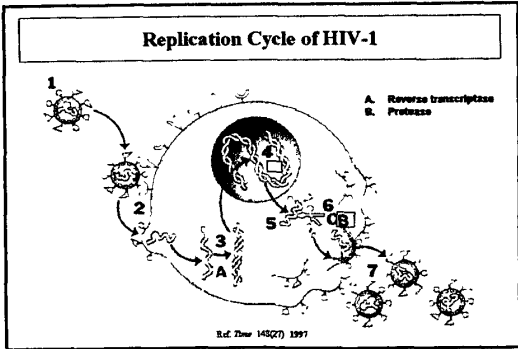
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

Nucleoside/Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors			
Brand Name	Generic Name	Abbreviation	Pharmaceutical Company
Retrovir	zidovudine	AZT or ZDV	GlaxoSmithKline
EpiVir	lamivudine	3TC	GlaxoSmithKline
Combivir	zidovudine + lamivudine	AZT + 3TC	GlaxoSmithKline
Ziagen	abacavir	ABC	GlaxoSmithKline
Tybitr	abacavir + zidovudine + lamivudine	ABC + AZT + 3TC	GlaxoSmithKline
HyVid	zalcitabine	ddC	Roche Laboratories
Videx	didanosine	ddI	Bristol-Myers Squibb
Videx	Didanosine delayed-release capsules	ddI	Bristol-Myers Squibb
Zerit	stavudine	d4T	Bristol-Myers Squibb
Viread	tenofovir	HE(FOC) PMFA	Gilead Sciences
Coviracil	emtricitabine	FTC	Triangule Pharmaceuticals
Emtriva	emtricitabine	FTC	Triangule Pharmaceuticals

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs)			
Brand Name	Generic Name	Abbreviation	Pharmaceutical Company
Viramune	nevirapine	NVP	Boehringer Ingelheim
Rescriptor	delavirdine	DLV	Pfizer
Sustiva	efavirenz	EFV	Bristol-Myers Squibb
(+)-calanolide A	capravirine	CPV	Pfizer

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

Protease Inhibitors (PIs)			
Brand Name	Generic Name	Abbreviation	Pharmaceutical Company
Intrase	Saquinavir (Hard Gel Cap)	SQV	Roche Laboratories
Fortovase	Saquinavir (Soft Gel Cap)	SQV	Roche Laboratories
Norvir	ritonavir	RTV	Abbott Laboratories
Crixivan	indinavir	IDV	Merck & Co
Viracept	zalcitabine	NFV	Pfizer
Agenerase	amprenavir	APV	GlaxoSmithKline
Kaletra	lopinavir + ritonavir	LPV	Abbott Laboratories
GW-433908			GlaxoSmithKline
Opresnavir		TPV	Boehringer Ingelheim
atazanavir			Bristol-Myers Squibb

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



✦ But these AIDS drugs aren't perfect. They showed side effects.

✦ Worst of all, the AIDS virus is rapidly developing resistance to the drugs by mutating into forms that can't be defeated.

---

---

---

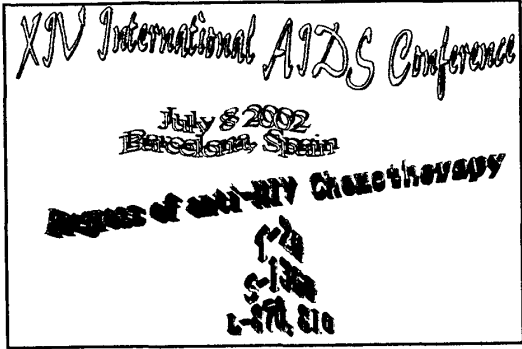
---

---

---

---

---



---

---

---

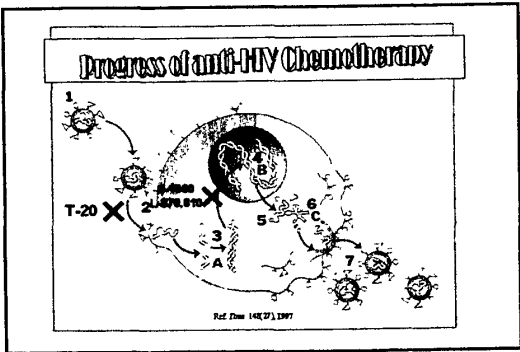
---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

**T-20 (pentafuside, enfuvirtide )**

- ◆ The first fusion inhibitor, developed by Trimeris Pharmaceuticals and Roche.
- ◆ T-20 is currently being tested in phase II/III trials evaluating safety and efficacy
- ◆ The drug must be taken by subcutaneous injection (90 mg dose to be injected through a single injection twice daily)
- ◆ T-20 may be injected into the thigh, arm or abdomen

---

---

---

---

---

---

---

---

**S-1360**

- ◆ The first HIV-1 integrase inhibitor with low molecular weight for oral use, synthesized by Shionogi & Co. Ltd. and is under clinical development in the United States
- ◆ Acts at the first stage of the integration process
- ◆ S-1360 showed potent in vitro integrase inhibition with an IC50 of 20 nM. The EC50, EC90, and CC50 values of S-1360 in MTT assay (MT-4 cells infected with IIB) were 200 nM, 740 nM, and 12,000 nM.
- ◆ S-1360 was synergistic in vitro in combination with various NRTIs, NNRTIs and PIs.

---

---

---

---

---

---

---

---

**L-870,810**

- ◆ Developed by Merck Co from a class of compounds called diketones.
- ◆ Acts at the second stage of the integration process
- ◆ Appears highly potent against HIV-1, with an IC95 of 102 nM, compared to an IC95 of approximately 12,000 nM for the Shionogi/Glaxo SmithKline integrase inhibitor.
- ◆ Phase I studies in healthy volunteers have begun.

---

---

---

---

---

---

---

---

**Reasons of HIV1-IN as Potential Target for Antiviral Therapeutic Agents**

1. The integration process is essential for the replication of HIV.
2. The enzyme appears to be absent in the mammalian host.

---

---

---

---

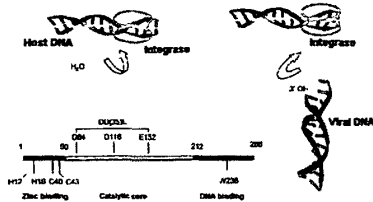
---

---

---

---

**Reaction Mechanism on the DNA Integration of HIV-1 Integrase**



HIV-1 IN (shown as dimer) contains one active site that can carry out two different reactions. Both reactions are nucleophilic substitution type 2, S<sub>N</sub>2. In the first reaction, IN uses a water molecule as a nucleophile (2° processing) and in the second reaction, the viral DNA is used as a nucleophile (integration)

---

---

---

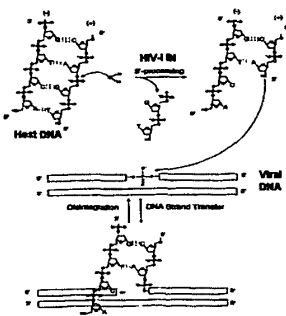
---

---

---

---

---




---

---

---

---

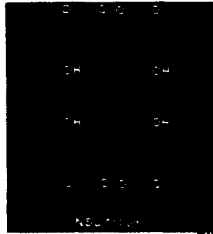
---

---

---

---

## 4-hydroxycoumarin



IC <sub>50</sub> (μ M)	
3'-processing	strand transfer
1.5 ± 0.5	0.8 ± 0.3

Pommier et al  
Ref *J Med Chem.* 1997, 40, 242-249

---

---

---

---

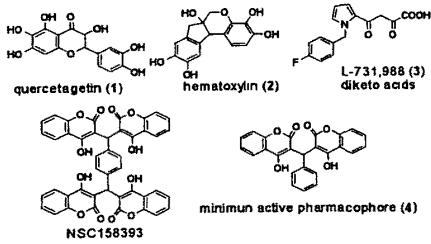
---

---

---

---

## Some Known HIV1-IN Inhibitors




---

---

---

---

---

---

---

---




---

---

---

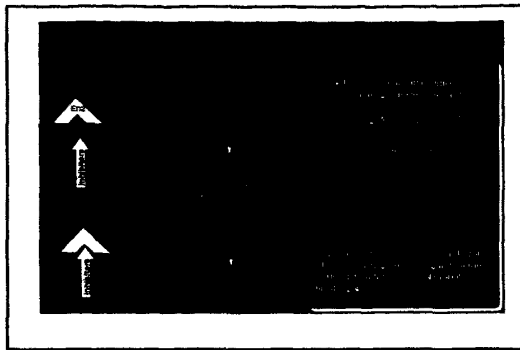
---

---

---

---

---




---

---

---

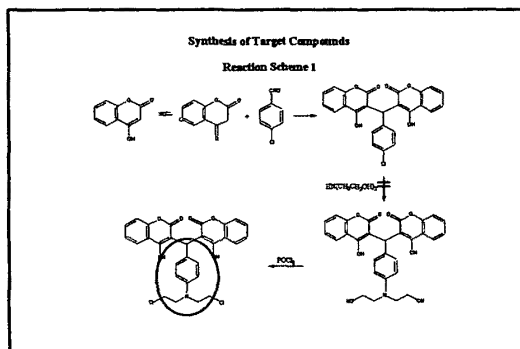
---

---

---

---

---




---

---

---

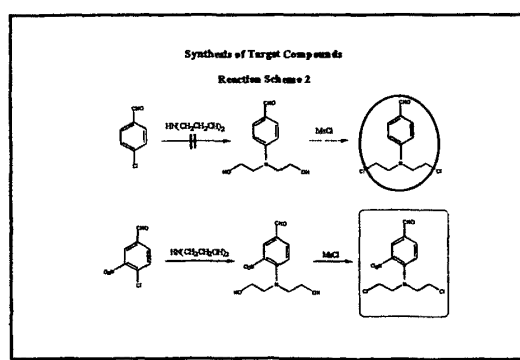
---

---

---

---

---




---

---

---

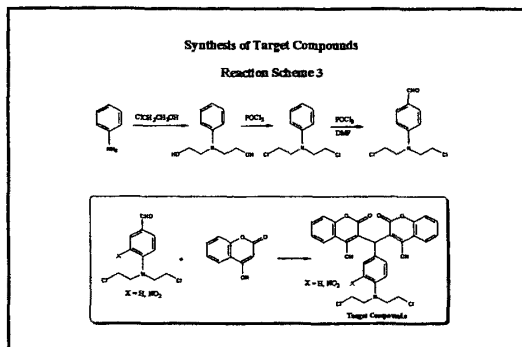
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

**Table 1 HIV-integrase inhibitory activity**

Entry	Compounds	3'-Processing (µM)	Strand transfer (µM)
1	4	43.0*	nd
2	5	27.4	15.0
3	13	6.6	12.0
4	14	8.5	4.0
5	NSC158393*	1.1 (1.5)*	0.4 (0.8)*

---

---

---

---

---

---

---

---

**Summary**

- ♦ 4-Hydroxycoumarin dimer bearing aniline mustard moiety has been prepared successfully
- ♦ Introduction of aniline mustard to coumarin dimer failed to significantly affect inhibitory potency.
- ♦ This indicates nucleophiles may not be properly situated in the coumarin-IN complex binding site or a probably non-nucleophile or hydrophobic region exists at the coumarin-IN complex binding site.

---

---

---

---

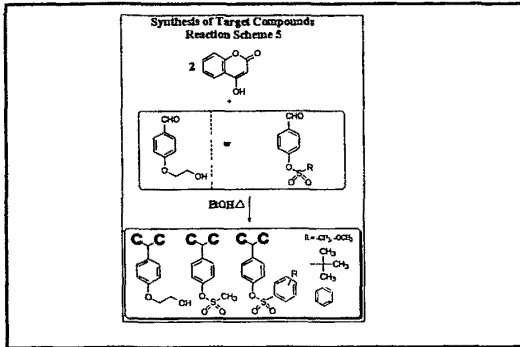
---

---

---

---






---

---

---

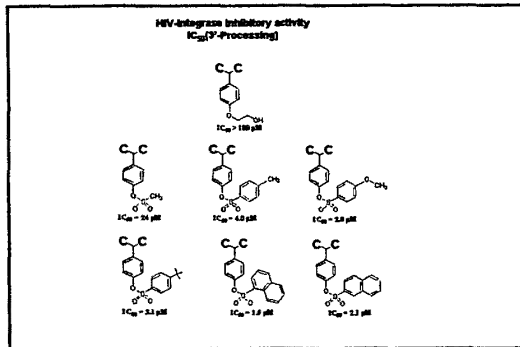
---

---

---

---

---




---

---

---

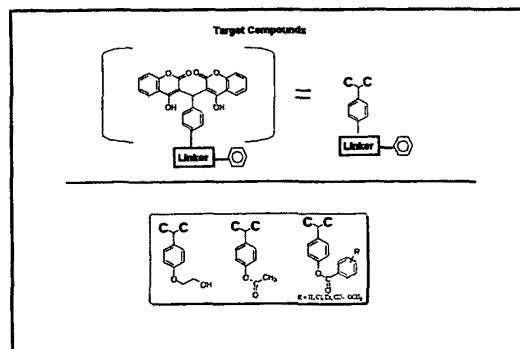
---

---

---

---

---




---

---

---

---

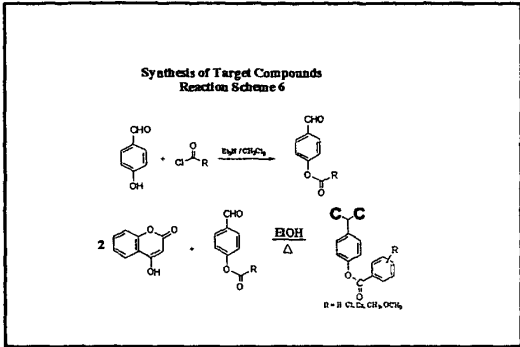
---

---

---

---






---

---

---

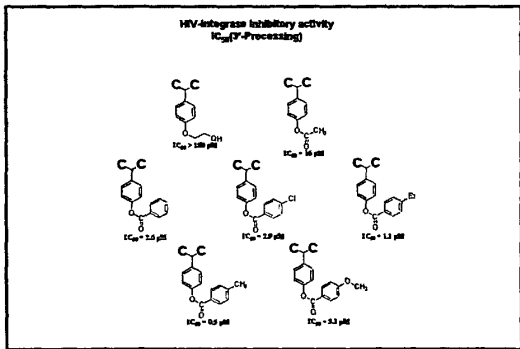
---

---

---

---

---




---

---

---

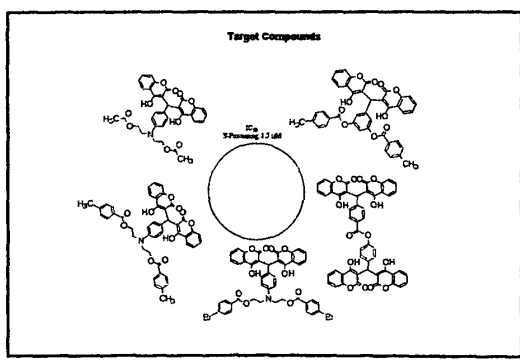
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

## Conclusions

- ♦ Current anti-HIV drugs inhibit the performance of two enzymes *i.e.* reverse transcriptase and protease. Integrase inhibitors will give doctors new weapons against HIV.
- ♦ A systematically chemically modified coumarin dimer and tetramer analogues have been synthesized.
- ♦ Several modified novel compounds were potent against HIV-1 IN with  $IC_{50}$  0.5  $\mu$ M.
- ♦ Compounds with an aryl-substituted linker possessed potent inhibitory activity.
- ♦ A benzyloxy- or sulfonyloxy-linker seemed necessary for the inhibitory activity.
- ♦ This S.A.R are useful in future studies concerned with the development of potent new HIV-1 IN inhibitors.

---

---

---

---

---

---

---

---

## Acknowledgements

- |  |  |
|--|--|
| ♦ Pili Chih-Min Mao  | ♦ Dr. Jean-Francois Mouscadet                                    |
| ♦ Chi-Tsan Liu   | ♦ Dr. Herve Leh.   |
| ♦ National Science Council<br>Founding                       | ♦ Dr. Christian Auclair  |
| ♦ National Defense Medical<br>Center, Taipei, Taiwan,<br>ROC | ♦ CNRS UMR8532, Institut<br>Gustave Roussy, Villejuif,<br>France |

Prof. L. Z. Benet

---

---

---

---

---

---

---

---