

· 新药发现与研究实例简析 ·

新药创制是复杂的智力活动，涉及科学研究、技术创造、产品开发和医疗效果等多维科技活动。每个药物都有自身的研发轨迹，而构建化学结构是最重要的环节，因为它涵盖了药效、药代、安全性和生物药剂学等性质。本栏目以药物化学视角，对有代表性的药物的成功构建，加以剖析和解读。

分子和细胞生物学研究揭示了刺猬信号通路在生命过程的作用和某些癌症的发生机制。但由认识异常的蛋白与受体的作用过渡到新药的创制，小分子抑制剂与受体靶标的成药性，贯穿于研发的全过程。构建维莫德吉的化学结构，是在修改骨架、更换片段、变换基团的分子操作中，提高了生物活性，完善了成药性，最后成为抗基底细胞癌的首创性药物，同时也确证了刺猬信号通路是药物作用的靶标。维莫德吉在药物研究中的地位可用FDA的专家帕兹杜尔的评价加以诠释，他说：“我们对涉及肿瘤的信号通路（如刺猬通路）的理解，使研发治疗特殊疾病的靶向药物成为可能，这种方法变得越来越普遍，并有可能使抗肿瘤药物研发更快。这对可获得更有效、不良反应少的治疗的患者很重要”。

(编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2015-0425

基于构效分析研制的维莫德吉

郭宗儒

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

1 刺猬通路和 SMO 靶标

在动物发育的过程中，刺猬蛋白 (hedgehog, HH) 信号通路是重要的调控因子，某些癌症的发生也与 hedgehog 通路异常有关。刺猬通路名称的起源，是果蝇的刺猬蛋白基因若发生突变，其胚胎呈多毛团状，酷似受惊的刺猬，故而得名。

哺乳动物中存在 3 个 hedgehog 同源基因: *Sonic hedgehog* (*Shh*)、*Indian hedgehog* (*Ihh*) 和 *Desert hedgehog* (*Dhh*)，分别编码 SHH、IHH 和 DHH 蛋白。HH 蛋白由两个结构域组成: 氨基端结构域 (HH-N) 及羧基端结构域 (HH-C)，其中 HH-N 有 HH 蛋白的信号活性，而 HH-C 具有自身蛋白水解酶活性及胆固醇转移酶功能。HH 前体蛋白在内质网中通过自身催化分裂成 HH-N 及 HH-C 两部分，其中 HH-C 共价结合胆固醇分子、并将其转移到 HH-N 的羧基端，随后在酰基转移酶的作用下 HH-N 氨基端的半胱氨酸发生棕榈酰化。HH 蛋白只有通过这些翻译后的修饰过程才能获得完全的功能。HH 信号传递受靶细胞膜上两种受体 Patched (PTCH) 和 Smoothed (SMO) 的控制。受体 PTCH 是由 12 个跨膜区的肽链构成，是

HH 蛋白的受体，却对 HH 信号起负调控作用。受体 SMO 由 7 个跨膜区的单一肽链构成。

在正常情况下，PTCH 抑制 SMO 蛋白活性，从而抑制下游的通路，这时下游的 Gli 蛋白在蛋白酶体内被截断，并以羧基端被截断的形式进入细胞核内，抑制下游靶基因的转录。当 PTCH 和 HH 结合以后，解除对 SMO 的抑制作用，使得全长 Gli 蛋白进入核内，激活下游靶基因转录。若 PTCH 发生突变或缺失，或者 SMO 发生突变，则对 PTCH 的抑制作用不敏感，使基因活化，导致 HH 信号通路失控，使 Gli 持续激活，启动靶基因转录。图 1 是 hedgehog 信号通路的活化和抑制剂作用的示意图。

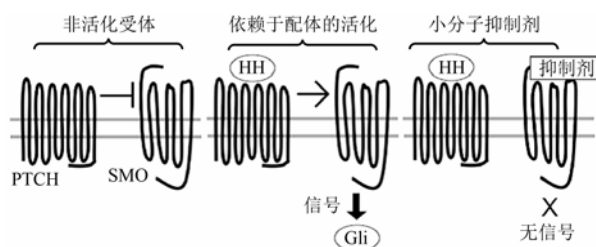
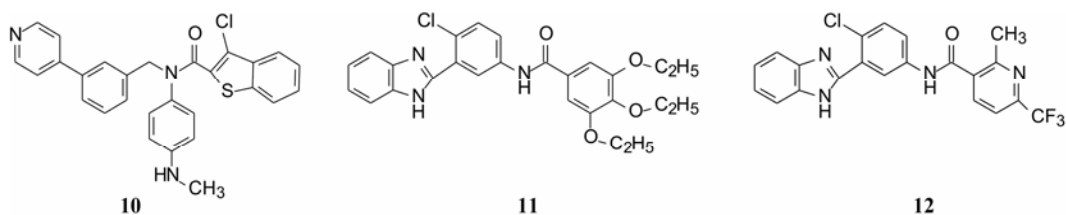


图 1 Hedgehog 信号通路的活化和抑制剂作用的示意图



了化合物 **12**, **12** 具有较强的活性 ($IC_{50}=12 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 是个里程碑式的化合物。

4.2 苯并咪唑环的变换—构效关系分析 然而化合物 **12** 在成药性上有两个缺点, 一是较低的代谢稳定性, 用犬和人肝微粒体温孵, 可被氧化代谢, 预测的清除率较高, 分别为 22 和 $9.4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$; 另一缺点是溶解性差, 在 $\text{pH } 6.4$ 的水溶解度仅为 $0.3 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 所以不能成为候选化合物。在结构改造中合成联(苯并咪唑)—氯苯的难度也较大。右边的酰胺片段的合成相对容易, 因而首先对苯并咪唑环加以变换, 以尽快优化出活性骨架。表 2 列出了用各种芳环替换苯并咪唑的结构和活性。

表 2 化合物 **12**、**13**~**31** 的结构和活性

化合物	R	$IC_{50}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	化合物	R	$IC_{50}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
12		12	22		256
13		500	23		450
14		9	24		9 000
15		150	25		550
16		70	26		42
17		170	27		10 000
18		80	28		2 400
19		4 200	29		8 000
20		200	30		1 700
21		140	31		52

分析芳环的变换与活性的关系, 内容如下: ① 与氯苯连键的邻位(即迫位)须有氢键接受体的原子或基团, 如化合物 **12** 的 N^3 原子, **12** 的电子等排体 (**13**) 由于咪唑环缺少氢键接受体因素(咪唑的 N-H 只是氢键给体), 活性下降了 40 倍, **12** 的 N -甲基化合物 **14**, 两个氮原子都是氢键接受体, 活性与 **12** 相同。苯并噻唑 **16** 和喹啉 **31** 也因此有较强的活性。② 邻位

氮原子若碱性弱, 难于形成氢键, 导致活性下降, 例如吡唑并吡啶 **17** 和吲唑 **18** 的碱性弱于咪唑化合物, 活性因此减弱。单环吡唑 **23** 有中等强度活性, 而其异构体 **24** 活性很低, 这是因为 **24** 存在互变异构现象, 降低了接受氢键的能力。但 **24** 经 N -甲基化得到的 **25**, 因阻止了互变异构, 活性与 **23** 相近。③ 单环 2-吡啶化合物 **26** 的活性很高 $IC_{50}=42 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 将氮原子移至 3 或 4 位, **27** 和 **28** 的活性很低, 也是因为缺少邻位氮原子的缘故。2-吡啶基结构小而简单, 是个优选的结构片段。④ 非杂环的苯胺甲酰 **21** 也有中等强度活性, 推测羰基氧为氢键接受体。

在这些优化的分子中, **14** 具有最高的活性 ($IC_{50}=9 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 不过它对 CYP2C9 有中等强度的抑制作用 ($IC_{50}=1.5 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 而且代谢清除率较快, 比化合物 **12** 和 **26** 快 4~6 倍。所以, 成药性的缺陷使化合物 **14** 不能成为候选物。化合物 **31** 因溶解性低影响了吸收和成药性。

4.3 芳胺的变换 在以苯并咪唑为母核的系列化合物中, 结构右侧的芳酰基是取代的烟酸时活性最强, 例如化合物 **26**。下一步探索的是若用结构简约的吡啶替换苯并咪唑(如化合物 **14**), 右侧的构效关系可能发生新的变化。为此合成了以联吡啶—氯苯为母核的化合物 **32**~**42**, 考察右侧酰基变换的构效关系, 表 3 中列

表 3 化合物 **26**、**32**~**42** 的结构和活性

化合物	R	$IC_{50}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	化合物	R	$IC_{50}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
26		42	37		110
32		130	38		1 500
33		3 000	39		1 500
34		600	40		120
35		700	41		40
36		800	42		13

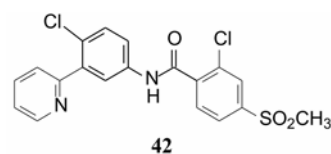
出化合物的结构和活性。

构效关系的要点总结如下: ① 右侧吡啶环上的氮原子并非必需。将化合物 **26** 吡啶环上的 2'-甲基和 4'-三氟甲基去除, 无取代的 2-吡啶甲酸 (**33**)、烟酸 (**34**) 和异烟酸 (**35**) 的活性虽然下降, 但与苯甲酸化合物 **36** 的活性相近, 提示该氮原子没有参与受体的结合作用。② 芳环 2-位取代基的贡献是显著的。2-甲基或 2-氯取代可提高活性, 推测可能有两个因素起作用: 甲基或氯原子的亲脂性, 有助于化合物与受体的疏水腔发生疏水-疏水相互作用; 也可能是 2-位基团的阻迫效应使芳环与酰胺平面的夹角增大, 致使稳固的芳环-酰胺近于正交的构象有利于同受体的结合 (根据对剑桥数据库的统计, 苯甲酰胺的苯基与酰胺的平面夹角为 30°/150°, 2-氯苯甲酰胺的夹角为 60°/120°)。2-氯苯甲酰胺化合物 **37** 的 $IC_{50} = 110 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 比无取代的苯甲酰胺活性提高 7 倍。若将氯原子移到 3-或 4-位, 解除了阻迫效应, 活性显著下降, 提示氯在 2 位的重要性。③ 芳环上引入吸电子基团如甲磺酰基, 可提高活性, 而且 4-位优于 3-位取代, 如化合物 **41** 比 **40** 的活性高 2 倍。④ 将 2-氯和 4-甲磺酰基的优势取代集合于苯甲酸上, 合成的化合物 **42** 具有很高的活性 ($IC_{50} = 13 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

5 高活性化合物的综合比较—候选物的确定

由联(苯并咪唑)-苯胺-烟酰胺为骨架的起始化合物, 优化成联 2-吡啶-苯胺-2-氯苯甲酰胺类化合物, 主要是以对细胞内 hedgehog 通路的 SMO 受体的抑制活性作为评价标准的, 其间虽然也考虑到化合物

的代谢稳定性、对 CYP 的抑制作用, 以及溶解性能等性质, 但并没有对活性较高的化合物在成药性上作系统的比较。下一步是对高活性化合物作药代和物化性质的比较, 表 4 列出了 6 个高活性化合物的一些代谢参数和物化性质, 可以看出化合物 **42** 具有明显的优势: 很高的抑制 SMO 受体的活性, 在哺乳动物体内有较低的清除率, 以及水溶性较好等 (Robarge KD, Brunton SA, Castanedo GM, et al. GDC-0449-a potent inhibitor of the hedgehog pathway. Bioorg Med Chem Lett, 2009, 19: 5576–5581)。



进一步还用移植依赖于 hedgehog 通路的髓母细胞瘤的裸鼠评价了化合物 **26**、**41** 和 **42** 的抑瘤作用, 也表明化合物 **42** 有显著作用。化合物 **41** 与 **42** 的区别是后者的端基有 2-氯取代, 二者活性和药代性质相近, **41** 的分配系数 $\log P$ 值更适宜, 但溶解度显著低于 **42**, 2-氯取代提高溶解性的原因可能是邻位效应阻止了苯环与酰胺共面性, 降低了分子间的晶格能。Genetech 公司确定化合物 **42** 作为候选物, 定名为维莫德吉 (vismodegib) 进入临床研究, 于 2012 年经 FDA 批准成为首创的抗基底细胞癌药物, 用于不能手术或放疗的局部晚期皮肤基底细胞癌患者和肿瘤已转移的患者。

表 4 有代表性化合物的活性、药代和物化性质的比较

化合物	结构式	IC_{50} /nmol·L ⁻¹	人肝清除率 (微粒体) /mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹	大鼠清除率 (整体) /mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹	犬清除率 (整体) /mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹	Clog P	溶解度 pH 6.4 /μg·mL ⁻¹
12		12	9.4	3.0	124	3.9	0.3
18		80	7.6	99.3	未测	3.8	未测
26		42	0.6	4.5	1.9	3.7	1.8
31		52	7.4	10.7	7.4	4.1	0.1
41		40	5.9	1.2	1.4	3.2	0.5
42		13	4.5	3.7	0.4	4.0	9.5