

· 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。

在对受体结构缺乏了解、配体为柔性多肽结构的情况下, 首创性小分子药物的研发难度在托伐普坦完全体现了。从普筛两万多个化合物获得的苗头化合物, 到批准上市的托伐普坦, 骨架结构的多次变换, 取代基的反复验证, 体外活性评价目标的转轨以及体内外活性的协调, 乃至药代和物化性质的优化等, 托伐普坦的成功可谓历经艰辛。文中列举的一百多个结构, 只是有代表性的化合物, 实际状况要复杂得多。常言说新药的创制是在一个混沌空间里的探索过程, 本品是一个实例。 (编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2015-0460

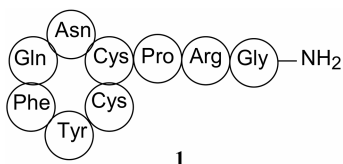
构效关系指导的首创药物托伐普坦

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 作用靶标和研发目标

精氨酸加压素 (**1**, arginine vasopressin, AVP) 是含有精氨酸的九肽, AVP 作为内源性肽作用于血管 V_{1a} 受体引起血管收缩; 也可作用于肾脏 V_2 受体产生抗利尿作用。在生理情况下, AVP 的功能是维持血浆的渗透浓度、血液体积和调节血压。AVP 的 V_2 受体拮抗剂可促进体液的排泄而利尿, 因而是治疗慢性充血性心力衰竭 (CHF) 和低钠血症的利尿药。大家制药研发 V_2 拮抗剂的目标, 是能够口服吸收的小分子药物, 通过排水利尿作为治疗 CHF 和低钠血症的非肽类 AVP 受体拮抗剂。



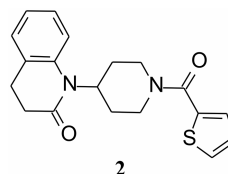
2 活性评价方法

体外评价化合物对 V_{1a} 和 V_2 活性的方法, 是 [3H]-AVP 分别与大鼠肝细胞膜的 V_{1a} 受体和大鼠肾细胞膜的 V_2 受体发生的特异性结合, 被置换出 50% 的受试化合物浓度 (IC_{50}) 为活性指标, IC_{50} 值越小, 化合物

的拮抗作用越强。评价体内活性的方法是用清醒大鼠首先静脉注射一定量 AVP 使血管收缩血压升高, 然后灌胃不同剂量的受试化合物, 在不同的时间点测定血压的变化, 计算比对照组加压素引起的血压降低 50% 的化合物剂量 (ID_{50}) 作为化合物活性的量度。

3 苗头化合物的发现和向先导物的过渡

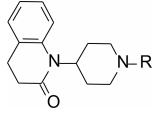
3.1 随机筛选发现苗头化合物 由于 V_{1a} 和 V_2 受体的三维结构尚属未知, 而且也未发现较小的肽化合物有抑制活性, 因而采用随机筛选方法评价公司内的 2 万个化合物样品, 发现数个含有四氢喹啉酮的化合物具有初步活性, 尤其是化合物 **2** 对 V_{1a} 的 IC_{50} 为 $2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对 V_2 的 $IC_{50} > 1000 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。










3.2 噻吩甲酰基的变换 初做结构变换, 最容易想到和做到的是变换噻吩甲酰基, 因为酰化仲胺容易进行合成。将杂环替换噻吩环的结果表明, 化合物 **3~5** 的活性反而降低, 推测是这些杂环的极性比噻

吩强的缘故。而极性弱的苯甲酰化合物 **6** 与 **2** 的活性相近。但苯甲酰基变换成苯乙酰基 (**7**) 或苄基 (**9**) 活性都显著降低。表 1 列出了化合物 **2**~**9** 的结构和活性, 不过这些化合物对 V_2 受体均未显示活性。

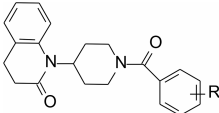
表 1 变换噻吩甲酰片段的化合物结构及其活性



化合物	R	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		化合物	R	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	
		V_1	V_2			V_1	V_2
2		2.5	>100	6		1.9	>50
3		26	>100	7		12	>100
4		37	>100	8	CH ₃	>100	>50
5		11	>100	9		>100	>100

3.3 苯甲酰环上取代基的变换 苯甲酰化合物 **6** 的活性可与苗头物比肩, 继之用取代苯甲酸做优化变换, 合成有代表性的化合物列于表 2 中, 由于原料易得, 合成了相当“整齐”的化合物, 这在难以合成或步骤较多的结构优化中较少遇到。表 2 的化合物构效关系如下: ① 苯环对位取代的活性强于间位, 间位强于邻位, 无论是氯代、硝基、甲基或甲氧基取代, 都遵循这个规律, 提示以后的结构变换都在苯环的对位。② 因 4-甲氧基和 4-甲基的活性强, 进而合成 C_2 ~ C_4 取代的化合物, 对 V_1 受体都处于高活性范

表 2 取代的苯甲酰化合物的结构与活性



化合物	R	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		化合物	R	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	
		V_1	V_2			V_1	V_2
5	H	1.9	>50	19	2-OCH ₃	0.65	36
10	2-Cl	9.9	>100	20	3-OCH ₃	2.6	>100
11	3-Cl	4.4	>100	21	4-OCH ₃	0.49	>100
12	4-Cl	1.2	78	22	4-OC ₂ H ₅	0.21	>100
13	2-CH ₃	8.4	>100	23	4-OC ₃ H _{7-n}	0.32	>100
14	3-CH ₃	1.3	>100	24	4-OC ₄ H _{9-n}	0.42	>100
15	4-CH ₃	0.5	>100	25	4-OC ₆ H _{13-n}	1.5	54
16	2-NO ₂	8.4	>100	26	4-C ₂ H ₅	0.5	80
17	3-NO ₂	3.1	>100	27	4-C ₃ H _{7-n}	0.33	>100
18	4-NO ₂	2.0	>100	28	4-C ₄ H _{9-n}	0.35	83

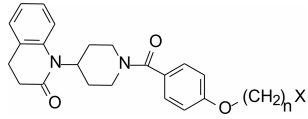
围, 其中 4-乙氧基 (**22**) 和 4-正丙氧基 (**23**) 活性最强。③ 还合成了对位氨基、羟基、酰氧基、羧基、羧酯基、酰胺基、氰基等取代物, 但活性都低于 4-烷氧基化合物。

对 V_{1a} 受体抑制活性高的化合物 **15**、**22**、**23** 和 **27** 进一步做体内实验, 大鼠注射 AVP 后灌胃受试物, 测定血管舒张压的变化, 结果表明这些化合物活性弱, 提示体内对 AVP 的拮抗作用低, 例如 **22** 灌胃 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 抑制加压素的作用只有 75%。分析原因, 可能是化合物的亲脂性过强, 影响了溶解和吸收, 须增加分子的亲水性, 调整化合物的分配性以利于吸收。

3.4 提高溶解性—引入助溶性基团 根据上述的构效关系, 引入助溶基团比较适宜的位置是在苯环的侧链上, 因为链的长短对活性的影响不大。将氨基或酰胺基等极性基团连接到链端, 合成了有代表性的化合物 **29**~**45**, 变换链长以获得最佳活性。表 3 列出了化合物的结构和活性。

分析表 3 化合物的构效关系, 归纳如下: ① 侧链端基为游离氨基的化合物 **29**~**34** 活性随链的碳数增加而提高, C_8 化合物 **34** 对 V_{1a} 受体的活性最强, $IC_{50} = 0.068\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。② 端基为甲酰胺基或乙酰胺基化合物 **35**~**45** 的活性与碳链的变化不明显, **41** 是该系列的活性最强的化合物。③ 相同烷链的氨基化合物 (**29**~**34**) 与酰胺基化合物 (**37**~**42**) 的活性相近, 提示碱性或中性侧链对活性影响的差异较小。④ 酰胺化合物 **45** 的氮原子被甲基化, 氮上无氢, 活性无显著变化, 提示化合物没有同 V_{1a} 受体发生氢键结合作用。

表 3 为提高溶解性合成的化合物结构和活性



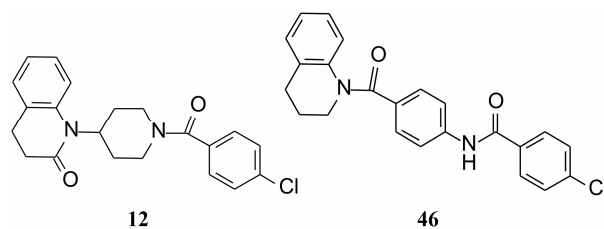
化合物	n	X	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹		体内抑制率%	灌胃给药剂量 /μmol·L ⁻¹ ·kg ⁻¹	体内活性 ID ₅₀ /μmol·L ⁻¹ ·kg ⁻¹
			V ₁	V ₂			
29	2	NH ₂	2.0	>100	-	-	-
30	3	NH ₂	0.75	>100	-	-	-
31	4	NH ₂	0.33	>100	31	23	-
32	5	NH ₂	0.28	>100	0	22	-
33	6	NH ₂	0.10	>100	-	-	-
34	8	NH ₂	0.068	44	0	20	-
35	3	NHCHO	0.24	>100	50	23	-
36	4	NHCHO	0.25	>100	80	23	7.7
37	2	NHCOCH ₃	0.42	>100	93	22	4.4
38	3	NHCOCH ₃	0.44	>100	78	22	5.3
39	4	NHCOCH ₃	0.21	>100	81	21	4.7
40	5	NHCOCH ₃	0.16	>100	72	20	10
41	6	NHCOCH ₃	0.12	>100	0	19	-
42	8	NHCOCH ₃	0.30	>100	-	-	-
43	3	NHCOC ₂ H ₅	0.78	>100	73	21	8.6
44	3	NHCO ₂ CH ₃	0.36	>100	-	-	-
45	3	N(CH ₃)COCH ₃	0.54	>100	-	-	-

以上合成的化合物体外活性多数显示对 V_{1a} 受体的抑制作用, 只有少数化合物对 V₂ 有中等强度的作用。含游离氨基的化合物 30~32 体外抑制 V_{1a} 受体活性很强, 但大鼠实验并未显示抑制加压素的增高血压作用, 但被酰化的化合物 37~39 体内活性有所提高, 不过距离既定目标相差甚远 (Ogawa H, Yamamura Y, Miyamoto H, et al. Orally active, non-peptide vasopressin VI antagonists. A novel series of 1-(1-substituted 4-piperidyl)-3,4-dihydro-2(1H)-quinolinone. J Med Chem, 1993, 36: 2011-2017)。

4 针对 V₂ 受体的新结构

4.1 骨架变换的探索

研发至此, 继续坚持上述的路径难以实现对 V₂ 受体的拮抗作用, 须另辟蹊径。为此回到初始合成的化合物 12, 由于 12 对 V₂ 受体有弱抑制活性 (IC₅₀ = 78 μmol·L⁻¹)。研发者考虑到两个因素促使他们对 12 的结构改造转轨到新的方向。一是认为哌啶环作为饱和环状结构有多变的构象体, 可能不利于同 V₂ 受体结合, 因而试图用刚性的苯环替换哌啶以期化合物有稳固的结构骨架; 另一是结构中的两个酰胺的连接方向“不顺”, 呈.....CONH.....NHCO.....样的配置与天然肽链的连接方向不同, 因而拟将骨架的连接方式变成.....NHCO.....NHCO....., 这样, 就将化合物 12 的结构变换成 46。



4.2 新结构类型—先导化合物的发现

由四氢喹啉酮-哌啶类化合物 (如 12) 变换为苯甲酰四氢喹啉骨架的相应化合物 46, 对 V₁ 和 V₂ 受体的抑制活性发生了质的飞跃, 首次获得了对 V₂ 活性超越了 V₁ 受体的分子, 而且活性很高, IC₅₀ = 1.9 μmol·L⁻¹, 从而将 46 作为先导化合物进行优化。在化学结构的层面上, 这类化合物是由 3 个模块经两个酰胺连接在一起, 对于基团变换和位置的变迁的化学合成也是容易实现的。

4.3 末端苯环取代基的结构优化和构效关系

在进行末端苯环取代基变换之时, 要考察中间苯环的 1,4-位连接是否是最佳位置配置, 因而合成了 1,3 和 1,2 连接的相应化合物, 发现对 V₂ 受体的活性几乎降低了 2 个数量级, 提示对位连接是优势骨架, 因而末端苯环的取代基变换都是按 1,4 连接配置的。表 4 列出了这些化合物的结构及其活性。

分析表 4 中化合物的构效关系, 概括如下: ① 4-Cl 被 4-OCH₃ 取代, 活性 (指对 V₂ 受体的活性, 下

同) 基本未变, 但延长烷氧基的碳链, 活性显著下降 (例如化合物 **48** 和 **49**)。这与前述烷氧链长对 V_1 受体无显著影响是不同的。② R 在 2-或 3-位取代比 4-位取代的活性高 (化合物 **54** 的 2-OCH₃ 例外), 可能是处于 4-位的 R 基团有位阻效应而不利于结合。③ 2-甲基化合物 **55** 是优选的化合物之一, 2,4-二氯和 2,4-二甲基化合物 (分别为 **62** 和 **63**) 的活性也很高, 可能是 2-位基团的邻位阻迫效应, 使构象处于稳定的有利状态, 并避开了 4-R 的不利因素。④ 活性最强的是 3,5-二氯化物 (**64**), $IC_{50}=0.082 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

4.4 末端苯环的变换 在新型骨架下因为分子形状的改变, 会影响在受体部位的分子取向和结合模式, 因而需要探求末端苯环是否仍是最佳结构, 为此合成了化合物 **65**~**72**, 考察将苯环变换成烷基、芳烷基或杂芳基对活性的影响。表 5 列出了化合物的结构和活性。

前已述及的 R=苯基的化合物 **52** 有中等强度活性, $IC_{50}=0.98 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 变换成烷基 (**65**~**67**) 导致

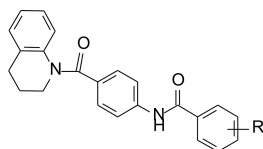
活性降低。苯环被苄基代替, 化合物 **68** 的活性未变, 而苯乙基、吡啶环、咪唑环和噻吩环的置换都使活性显著下降, 所以, 末端苯环不宜改变。

4.5 四氢喹啉环的变换 优化至此, 构成分子骨架的结构片段只剩下另一末端即四氢喹啉环的变换了。在四氢喹啉环的杂环中再加入一个杂原子或扩环成七或八元环, 末端苯环作 2-位取代, 合成的化合物结构与活性列于表 6 中。

由于前述的末端苯环上 2-甲基取代可提高抑制 V_2 受体的活性 (如化合物 **55**), 故本系列合成的化合物大都含有 2-甲基的取代, 更换成氯 (**76**) 或无取代的化合物 (**77**) 也是为了佐证 2-甲基的必要性。

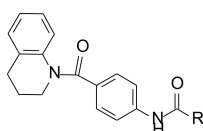
表 6 化合物的构效关系总结如下: ① 杂环上再引入一个杂原子如化合物 **73** 和 **74**, 导致活性降低, 可能是增加了环的极性缘故。② 扩环成七元环如化合物 **75** 和 **76**, 不仅显著提高了对 V_2 的抑制活性, 而且也对 V_{1a} 呈现强抑制活性。③ 苯并二氮草 **80** 和苯并氮杂环辛烷 **82** 对 V_2 有选择性抑制活性。

表 4 化合物 **46**~**64** 的结构与活性



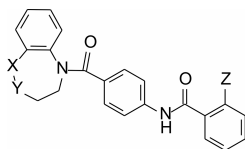
化合物	R	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		化合物	R	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	
		V_1	V_2			V_1	V_2
46	4-Cl	5.1	1.9	56	2-NO ₂	2.7	0.53
47	4-OCH ₃	2.2	1.8	57	3-Cl	6.4	0.20
48	4-OC ₂ H ₅	14	>100	58	3-OCH ₃	2.8	0.40
49	4-OC ₄ H ₉	>100	>100	59	3-CH ₃	3.1	0.80
50	4-CH ₃	10	1.4	60	3-NO ₂	16	0.76
51	4-NO ₂	>100	6.5	61	3,4-(CH ₃) ₂	>100	1.20
52	H	1.6	0.98	62	2,4-(CH ₃) ₂	3.3	0.21
53	2-Cl	1.6	0.42	63	2,4-Cl ₂	>100	0.25
54	2-OCH ₃	1.8	2.1	64	3,5-Cl ₂	9.4	0.082
55	2-CH ₃	1.4	0.20				

表 5 化合物 **65**~**72** 的结构及其活性



化合物	R	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		化合物	R	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	
		V_1	V_2			V_1	V_2
65	CH ₃	74	>100	69	CH ₂ CH ₂ Ph	2.3	6.1
66	<i>n</i> -C ₃ H ₇	4.3	7.1	70	3-吡啶基	11	7.6
67	<i>i</i> -C ₃ H ₇	2.4	8.1	71	2-咪唑基	4.0	6.4
68	CH ₂ Ph	3.2	1.0	72	3-噻吩基	1.7	1.7

表 6 化合物 73~82 的结构及其活性



化合物	-X-Y	Z	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹		化合物	-X-Y	Z	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹	
			V ₁	V ₂				V ₁	V ₂
73	-O-	CH ₃	7.7	4.1	78	-OCH ₂ -	CH ₃	1.2	0.11
74	-N(CH ₃)-	CH ₃	5.1	0.40	79	-CH ₂ O-	CH ₃	0.63	0.30
75	-CH ₂ CH ₂ -	CH ₃	0.056	0.018	80	-N(CH ₃)CH ₂ -	CH ₃	0.38	0.014
76	-CH ₂ CH ₂ -	Cl	0.045	0.029	81	-CH ₂ N(CH ₃)-	CH ₃	1.8	0.17
77	-CH ₂ CH ₂ -	H	0.095	0.070	82	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	CH ₃	0.41	0.028

值得提及的是化合物 **81** 虽然抑制 V₂ 受体的活性不是很高 (IC₅₀ = 0.17 μmol·L⁻¹), 但大鼠灌胃 100 mg·kg⁻¹ 显示有利尿作用, 给药后 4 h 内的排尿量比对照组增加了 5~6 倍, 利尿作用显著。分析原因可能是 **81** 含有碱性氮原子, 提高了受试物的生物利用度。这个发现促使研究者在母核上引入碱性基团。

5 里程碑式化合物—莫扎伐普坦上市

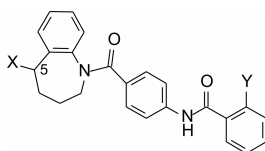
5.1 苯并氮草片段的优化 基于合成化学的考虑, 以化合物 **75** 为新的起点, 在苯并氮草的 5 位引入不同的烷胺基, 同时变换末端苯环的 2-位取代基, 以双位点变换优化结构, 合成了化合物 **83~106**, 化学结构和体外活性列于表 7。

分析表 7 中化合物的构效关系可概括如下: ① 在

苯并氮草的 5 位引入二甲胺基, 化合物 **83~87** 保持对 V₂ 受体强抑制活性, 也降低了对 V₁ 的抑制, 因而提高了化合物的选择性。② 末端苯环固定为 2-甲基取代, 母核苯并氮草 5 位变换为伯胺、仲胺或各种取代的叔胺, 提示对 V₂ 受体的活性影响较小, 大都仍保持较高的活性。然而哌啶环取代 (**97**) 的活性较低, 可能是环状结构位阻较大的缘故。③ 5 位为乙酰氨基化合物 **99** 活性较低, 但脲基 (化合物 **100**) 的活性很高, 推测碱性不是活性的决定因素。④ 5 位为羟基的化合物 **98** 活性很高, 也佐证了碱性不是呈现高活性所必需。

用这个系列的高活性化合物灌胃大鼠, 体内评价抑制加压素增加利尿的作用, 发现 5 位胺基简单取

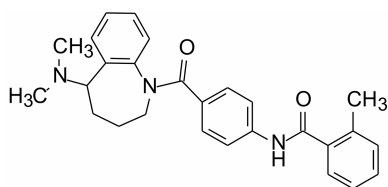
表 7 化合物 83~106 的结构和活性



化合物	X	Y	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹		化合物	X	Y	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹	
			V ₁	V ₂				V ₁	V ₂
83	N(CH ₃) ₂	H	3.0	0.027	95		2-CH ₃	2.3	0.058
84	N(CH ₃) ₂	2-CH ₃	1.4	0.012	96	NH ₂	2-CH ₃	0.39	0.032
85	N(CH ₃) ₂	3-CH ₃	2.4	0.014	97		2-Cl	2.8	0.14
86	N(CH ₃) ₂	4-CH ₃	26	0.044	98	OH	2-CH ₃	0.14	0.029
87	N(CH ₃) ₂	2-Cl	3.0	0.027	99		2-CH ₃	3.2	0.15
88	NHCH ₃	2-CH ₃	0.72	0.024	100		2-CH ₃	2.8	0.096
89	NHC ₂ H ₅	2-CH ₃	1.6	0.029	101	N(CH ₃) ₂	3,5-Cl ₂	2.6	0.020
90		2-CH ₃	0.89	0.050	102	N(CH ₃) ₂	2,4-Cl ₂	1.3	0.013
91		2-CH ₃	1.2	0.022	103	N(CH ₃) ₂	2-OCH ₃	1.0	0.077
92		2-CH ₃	0.98	0.029	104	N(CH ₃) ₂	2-NO ₂	2.6	0.071
93		2-CH ₃	3.2	0.025	105	N(CH ₃) ₂	2-NH ₂	1.9	0.19
94		2-CH ₃	0.29	0.013	106	N(CH ₃) ₂	2-NHAc	16	0.64

代的化合物的利尿活性与离体的抑制 V_2 受体相平行。然而化合物 **92**~**94** 的体外抑制 V_2 受体的活性很高, 体内活性却较差。

5.2 选择性 V_2 受体拮抗剂—莫扎伐普坦 化合物 **84** 的体内实验呈现最强的口服利尿作用, 灌胃 $3.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 2 h 内排尿量比对照组增加了 3 倍 ($\text{ED}_3=3.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 多种实验动物模型证明 **84** 是 V_2 受体选择性拮抗剂, 从而大冢制药命名化合物 **84** 为莫扎伐普坦 (mozavaptan) 作为候选化合物进入开发阶段, 经临床研究证明莫扎伐普坦适于治疗抗利尿激素分泌失调综合征 (SIADH) 所引起的低钠血症, 于 2006 年在日本上市 (Ogawa H, Yamashita H, Kondo K, et al. Orally active, nonpeptide vasopressin V_2 receptor antagonists: a novel series of 1-[4-(benzoylamino)benzoyl]-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzazepines and related compounds. *J Med Chem*, 1996, 39: 3547–3555)。



莫扎伐普坦 (**84**)

6 以莫扎伐普坦为先导物的继续优化

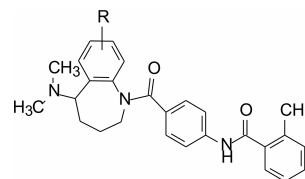
6.1 苯并氮草苯环上的取代 由于苯并氮草在 5 位作二甲胺基取代, 对提高口服生物利用度和体内活性方面有突破性进展, 并以莫扎伐普坦 (**84**) 的上市成为里程碑式的标志。但优化的空间仍然存在。继续优化结构的位点是并合氮草的苯环和中央的苯环, 这两个位置还没有作系统的研究。

以莫扎伐普坦为先导结构进行优化, 首先是在苯环的 6、7、8、9 位分别做氯原子取代 (避免极性原子和基团), 得到化合物 **107**、**108**、**109** 和 **110**, 其化学结构及其体内活性列于表 8 中。

表 8 的数据表明, 莫扎伐普坦的苯并氮草的 6、8 或 9 位引入氯原子, 对 V_2 受体的抑制作用降低 5~16 倍, 体内抑制加压素的抗利尿作用也弱于莫扎伐普坦, 但 7-氯代莫扎伐普坦 (**108**) 却完全不同, 它的体外活性与莫扎伐普坦相当, 体内活性却非凡的强。

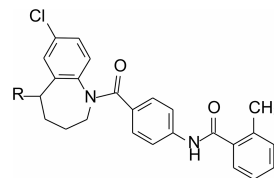
6.2 苯并氮草的 5 位再优化 前面的研究表明, 5 位的胺基体积的大小对与 V_2 受体的结合有重要影响, 为了考察 7-位连接了氯原子之后母核 5 位基团对活性的影响, 合成了化合物 **111**~**116**, 其结构与体内活性列于表 9。

表 8 化合物 **84**、**107**~**110** 的结构和体内活性。*大鼠灌胃受试物 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 2 h 内的排尿量, 空白对照组平均尿量 1.1 mL ; ** ED_3 定义为大鼠灌胃受试物 2 h 内的排尿量比对照组增加 3 倍时的剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)



化合物	R	$\text{IC}_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		排尿量* /mL	$\text{ED}_3^{**}/$ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (po)
		V_1	V_2		
莫扎伐普坦	H	1.4	0.012	12.3	3.8
107	6-Cl	1.7	0.19	1.6	未测 (尿量少)
108	7-Cl	0.19	0.025	14.6	1.5
109	8-Cl	1.2	0.063	3.4	未测 (尿量少)
110	9-Cl	0.54	0.14	2.4	未测 (尿量少)

表 9 优化 5 位取代基的化合物结构和体内活性



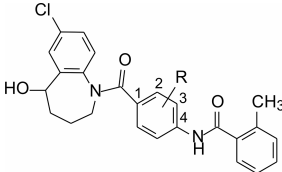
化合物	R	$\text{IC}_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		排尿量 /mL	$\text{ED}_3/$ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (po)
		V_1	V_2		
108	$\text{N}(\text{CH}_3)_2$	0.19	0.025	14.6	1.5
111	NHCH_3	0.064	0.007	15.5	1.4
112	$\text{NHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	0.045	0.018	15.4	3.3
113	$\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	0.35	0.097	太少	未测
114	OH	0.017	0.003	7.2	未测
115	OCH_3	0.034	0.005	6.3	未测
116	$\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	0.053	0.009	7.6	未测

表 9 中所列的体外抑制 V_2 活性, 表明 5-甲胺基 (化合物 **111**) 的活性强于二甲胺 (**108**) 3.6 倍, 变换为烯丙基 (**112**) 尤其是 *N*-甲基烯丙基化合物 (**113**) 则活性下降。然而 5-羟基或 5-羟氧基的体外活性很高, 尤其是化合物 **114** 的 $\text{IC}_{50}=0.003 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。不过, 口服体内活性达不到莫扎伐普坦水平。

6.3 终极的优化—托伐普坦的诞生和上市 为了消除 7-氯-5-羟基化合物 **114** 的体内活性的差距, 提高口服的活性, 进行优化的位点只有未经变换的中央苯环上的取代了。为了提高体内吸收和生物利用度, 在极性基团较多的化合物 **114** 结构中加入疏水性基团, 以平衡化合物的亲脂-亲水性, 合成了表 10 列出的化合物。

表 10 的数据显示, 化合物 **117** (2-Cl) 和 **119** (2- CH_3) 体外抑制 V_2 受体的活性与 **114** 相当, 但对 V_1

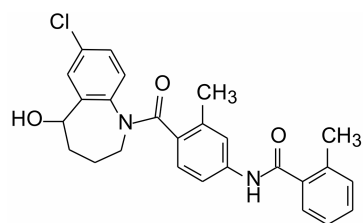
表 10 化合物 117~121 的结构和体内外活性



化合物	R	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹		排尿量 /mL	ED ₃ / mg·kg ⁻¹ (po)
		V ₁	V ₂		
114	H	0.017	0.003	7.2	未测
117	2-Cl	0.29	0.008	16.8	1.6
118	3-Cl	0.031	0.028	3.0	未测
119	2-CH ₃	0.58	0.003	17.3	0.54
120	2-OCH ₃	0.039	0.013	15.2	1.4
121	3-OCH ₃	0.007	0.005	3.5	未测

受体的抑制作用很弱,因而这两个化合物的选择性比 114 强。化合物 120 对 V₁ 和 V₂ 受体的作用都很强,选择性低的原因推测甲氧基是氢键的接受体, V₁ 受体的结合需要形成氢键的结合。

化合物 119 不仅对 V₂ 的选择性高,而且大鼠灌胃的体内拮抗加压素的抗利尿作用也很强,提示有良好的药代动力学性质, ED₃ 的剂量为 0.54 mg·kg⁻¹, 是体内活性最强的化合物。进而分别用转染人 V₂ 和 V₁ 受体 HeLa 细胞实验,表明 119 有很强的选择性抑



托伐普坦 (119)

制人 V₂ 受体的活性。119 分子中含有一个手性碳原子,经拆分成 R 和 S 异构体,分别评价了对人 V₂ 和 V₁ 受体的活性,结果表明消旋体与光学异构体没有差异,因而使用消旋体。通过安全性实验和药代动力学研究,确定了化合物 119 进入临床研究,定名为托伐普坦 (tolvaptan)。经临床研究证明托伐普坦可用于治疗由充血性心衰、肝硬化以及抗利尿激素分泌不足综合征导致的低钠血症,遂于 2009 年经美国 FDA 批准上市,成为第一个选择性抑制加压素 V₂ 受体的药物 (Kondo K, Ogawa H, Yamashita H, et al. 7-Chloro-5-hydroxy-1-[2-methyl-4-(2-methylbenzoylamino)benzoyl]-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepine (OPC-41061): a potent, orally active nonpeptide arginine vasopressin V₂ receptor antagonist. *Bioorg Med Chem*, 1999, 7: 1743-1754)。