

• 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多维性质。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。

2015年7月美国FDA批准诺华的复方制剂Entresto上市,治疗慢性心力衰竭,由于能够显著地降低心衰患者的死亡率,被认为是25年来心衰治疗药的重大突破。Entresto是由沙库必曲和缬沙坦组成。沙库必曲作为新分子实体,是以复合制剂被批准面市的,两个主成分针对不同的靶标各司其责和药理作用的互补性,使得Entresto问世具有划时代性。在剂量设计和分子结构上也很有特色:两个成分的治疗剂量恰好是等摩尔比量;与钠离子形成配位键结合以及分子内和分子间的氢键网络,构成了稳定的超分子结合的共晶结构。本文简述了研制沙库必曲的药物化学过程。

(编者按)

DOI:10.16438/j.0513-4870.2016-0567

脑啡肽酶 neprilysin 抑制剂沙库必曲的研制

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)

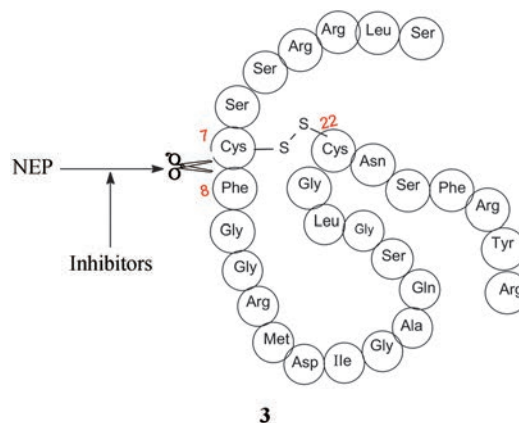
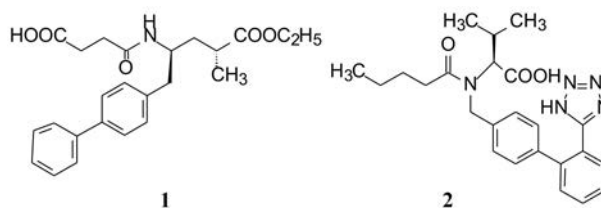
1 引言

2015年7月美国FDA批准诺华的复方制剂Entresto上市,治疗慢性心力衰竭,这个复方制剂是以多种方式作用于心脏的神经内分泌系统,治疗效果与标准疗法比较,显著地降低心衰患者的死亡率,被认为是25年来心衰治疗药的重大突破。Entresto是由沙库必曲(1, sacubitril, 49 mg)和缬沙坦(2, valsartan, 51 mg)组成。沙库必曲的作用靶标是抑制一种中性内切酶(neprilysin),中性内切酶是降解血浆中心房利钠肽(atrial natriuretic factor, ANF)的水解酶,因而沙库必曲使内源性ANF肽维持在一定的水平,保护了心脏的神经内分泌系统,有利于心衰患者;缬沙坦是血管紧张素I受体阻断剂,抑制Ang II的升压作用,阻断患者过于活跃的肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)。复方制剂Entresto中的沙库必曲是以新分子实体(NME)首次上市的,本文简述其研制的药物化学轨迹。

2 心房钠肽——舒张血管的内源肽

心房钠肽(3, ANF, 又称心房钠因子)是由心肌细胞产生的28肽,分泌到外周血中,产生排钠、利尿和舒张血管效应,调整血压、体液容量和电解质平衡。在功能上ANF虽与肾素-血管紧张素系统(RAS)相反,但二者是完全独立的系统,所以构成了Entresto作为针对不同靶标制成复方药物的基础。

静脉滴注ANF可产生持续性降压和排钠作用,但半衰期短,不能口服应用。克服这种局限性的方法是阻断水解ANF的中性内切肽酶(NEP)功能。NEP切断ANF的Cys⁷-Phe⁸肽键而失活,体内实验表明NEP酶抑制剂与滴注低剂量ANF可产生同样的降压效果。本文阐述的就是NEP酶抑制剂的研制过程。



3 项目启动时的研发状态

1993年 Ciba-Geigy 公司(今为诺华)在开始研发时已经有数个候选化合物处于临床研究阶段,例如 sinorphan (**4**)、SCH-42495 (**5**)、SCH-34826 (**6**) 和 UK-69578 (**7**) 等,但临床治疗降压效果一般,这些候选物均未成功上市,原因可能是药效作用不强或药代不合理。分析这些 NEP 抑制剂的结构,都存在有羧基 (**4** 和 **5** 是羧酸的前药) 或硫醚基,这些基团的功能是与 NEP 的 Zn 辅基配位结合。同时在相隔一定距离存在疏水性片段,可能与酶的疏水腔发生疏水-疏水相互作用。

4 活性评价

为了评价化合物对 NEP 抑制活性,用合成的戊二酰-丙氨酰-丙氨酰-苯丙氨酰-2-萘胺 (GAAP) 为底物,通过测定剩余 GAAP 的浓度,作为评价受试化合物抑制 NEP 的能力,用已知抑制剂 thiorphan (**8**, $IC_{50} = 4.8 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 或 phosphoramidon (**9**, $IC_{50} = 27.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 作为阳性对照药。

5 可口服吸收但不进入细胞内的磷(膦)酸酯类前药

肾脏和血管中分布有较多的 NEP 酶,对许多内源性肽(例如脑啡肽、ANF 等)有水解失活作用,通过与活性中心的辅基锌离子螯合水解特定的肽键而迅速失活。ANF 有较低分布容积,提示抑制剂最好存在于细胞外,减少进入细胞发生脱靶作用。

磷(膦)酸基易于同锌离子发生螯合作用,但化合物带有游离的负电荷不易被机体吸收,血管紧张素转化酶 (ACE) 也是经锌离子介导的肽酶,ACE 抑制剂与锌离子螯合的基团有巯基、羧基或磷酸基,例如上市的 ACE 抑制剂西那普利 (**10**, ceranapril) 和福辛普利 (**11**, fosinopril) 是以有机膦酸酯代替羧酸酯而延长了作用时间,本项目因而设计了含有可与锌离子螯合的含磷

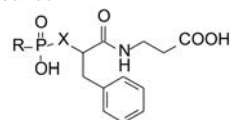
(膦) 酸基的化合物。

6 探索含磷酸基的基本骨架

6.1 初始的 α -磷酸基苯丙酰胺骨架 化学结构设计的构想是:分子中含有氨基酸片段,有磷酸基团与辅基 Zn 结合,亲脂链与酶的疏水腔发生疏水-疏水相互作用。基于这些因素的配置,合成的有代表性的苯丙酰胺基丙酸类化合物列于表 1 中。

Table 1 Activity of phosphono-containing phenylpropionamido-propionic acid compounds

Compd.	X	R	$IC_{50}/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$
			(GAAP as substrate)
12	CH ₂	OH	207
13	CH ₂	O(CH ₂) ₂ Ph	>1 000
14	O	(CH ₂) ₂ Ph	>1 000
15	O	(CH ₂) ₄ Ph	>1 000
16	O	CH ₂ NHCO ₂ CH ₂ Ph	>1 000
9	Phosphoramidon		27.1



表中数据提示,只有化合物 **12** 呈现中等强度活性,活性低于阳性对照 7 倍, **13**~**16** 的活性很差。原因可能是 ① 磷(膦)酸基被两个较大疏水基团包夹,位阻效应不利于同锌发生配位结合;② 疏水链不适宜的位置而未进入酶疏水腔;③ 缺乏 α -氨基,不能提供氢键给体,导致结合力弱。

6.2 引入 α -氨基和调整链长 为了使 α -氨基具有氢键给体作用,在氨基与磷酸基之间用 CH₂ 隔开,以避免氨基与磷酸基直接相连的共轭效应而减弱氢键给体效应,合成的有代表性化合物列于表 2。

表 2 的构效关系提示,① α 碳连接的苯基(化合物

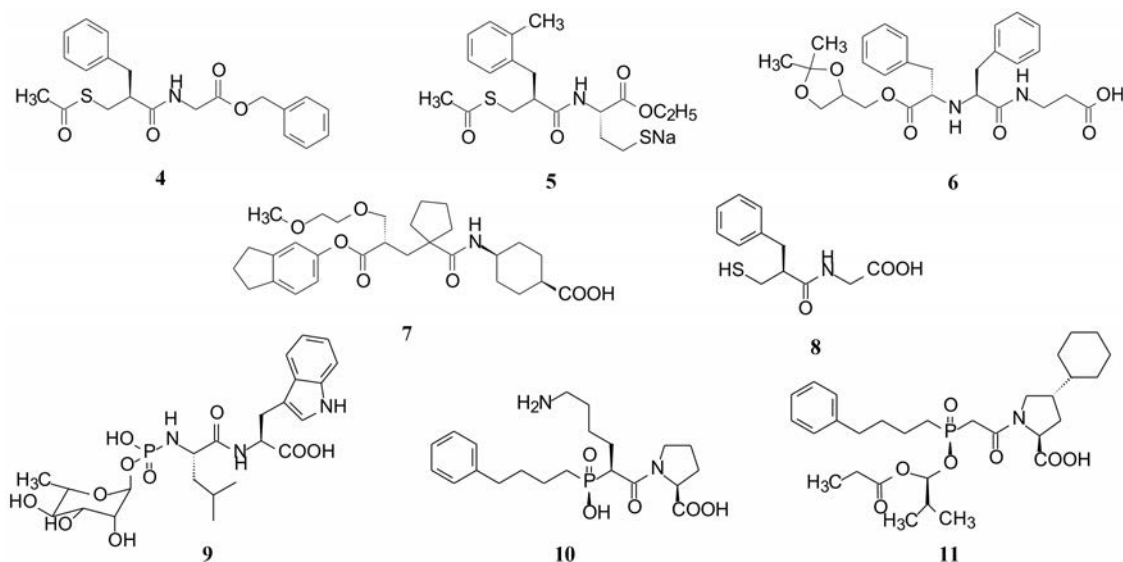


Table 2 Structures and activity of compounds with α -*N*-phosphonomethyl amino skeleton

Compd.	R ₁	R ₂	R ₃	X	R ₄	Configuration (*)	IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹ (GAAP as substrate)
17	H	H	H	CH ₂ CH ₂	H	S	1 150
18	H	H	Ph	CH ₂ CH ₂	H	S	1.9
19	H	H	Ph	CH ₂ CH ₂	H	R	1 800
20	H	H	Ph	CH ₂ CH ₂	H	R,S	4
21	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	Ph	CH ₂ CH ₂	H	S	>1 000
22	CH ₃	H	Ph	CH ₂ CH ₂	H	R,S	301
23	CH ₂ Ph	H	Ph	CH ₂ CH ₂	H	S	1 000
24	H	H	Ph	CH ₂ CH ₂	C ₂ H ₅	R,S	120
25	H	H	Ph	CH ₂ CH ₂ CH ₂	H	S	11
26	H	H	Ph	<i>p</i> -C ₆ H ₄	H	S	10
27	H	H	Ph	CH ₂	H	R,S	5
28	H	H	Ph	<i>s</i> -CH(CH ₃)	H	R,S	3
29	H	H	Ph	<i>s</i> -CH(Ph)	H	S	2
30	H	H	<i>p</i> -F-Ph	CH ₂ CH ₂	H	S	14
8	Thiorphan(R,S)						4.8
9	Phosphoramidon						27

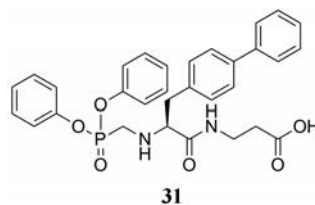
17) 变换为联苯甲基 (18), 体外抑制 NEP 活性提高 600 倍; ② α 碳的 *S* 构型为优映体, *R* 构型 (19) 没有活性, *R,S*-混旋体 (20) 仍有强活性, 说明抑制剂在这个位置需有足够显著的立体选择性以与疏水腔结合; ③ 磷酸基被不同程度的酯化, 体外活性显著减弱, 基团尺寸越大减弱的越多 (例如化合物 21~23), 提示该处存在位阻效应, 影响磷酸基与 Zn 发生的螯合作用 (形成一齿或二齿螯合); ④ 变换羧基与 α 碳连接链的距离 (加长或缩短如 25~27) 或间隔基上的取代 (28 和 29) 对活性影响不大, 说明该处的构效关系比较宽松。

化合物 18 不仅对 NEP 抑制活性高而且选择性强, 例如在 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对血管紧张素转化酶、嗜热菌蛋白酶、内皮素转化酶和基质溶解因子等酶系都没有脱靶作用。

6.3 化合物 18 的药代动力学和前药设计 清醒大鼠静脉注射 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 化合物 18, 半体内方法在不同的时间间隔取血样, 测定 GAAP 量以评价血浆中游离 18 的浓度, 结果表明, 在给药后至少 4 h 内 18 仍有较高的血药浓度, 高于 IC₅₀ 值 2~3 数量级。

然而化合物 18 含有 3 个可离解的酸性基团, 难以穿越细胞膜, 所以大鼠灌胃的生物利用度低, 只有 3%。为增进口服吸收, 合成了一系列可水解的酯性前药, 包括磷酸基或羧基的酸性基团部分或全部酯化, 发现化合物 31 大鼠灌胃 30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 4 h 后血浆中的 31 具有相当高的水平, 与活性代谢物 18 的 IC₅₀ 之比为 225 (灌胃 4 h 后血浆中药物浓度超过 IC₅₀ 值 200 倍)。而羧

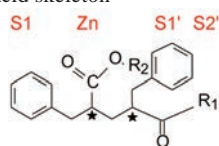
基同时被乙酯化的比值为 160, 提示全部酯化对吸收未必有利 (也因此后述的沙库必曲中两个羧基只有一个被乙酯化)。31 是个有希望的候选化合物 (De Lombaert S, Erion MD, Tan J, et al. *N*-Phosphonomethyl dipeptides and their phosphonate prodrugs, a new generation of neutral endopeptidase (NEP, EC 3.4.24.1) inhibitors. *J Med Chem*, 1994, 37: 498-511)。



7 另一研究路径—骨架为二苄基羧酸的化合物

7.1 延长脑啡肽镇痛作用的中性内切酶作用 中性内切酶 (NEP) 高表达于中枢神经和肾脏, 可水解 Met-脑啡肽, 通过剪切 Gly³-Phe⁴ 肽键, 使脑啡肽的镇痛作用失活。NEP 也可水解其他内源性肽如缓激肽、P 物质和神经降压肽等, 通过研究抑制 NEP 对脑啡肽的水解作用, 旨在研发具有选择性的长效镇痛药物。所以, 评价这类化合物的体外抑制 NEP 活性是用 Met-脑啡肽 (Met-ENK) 作底物。

7.2 连接氨基酸的 2,4-二苄基戊二酸化合物 作为模拟二肽类分子, 合成了系列的氨基酸的 2,4-二苄基戊二酸化合物, 将天然的氨基酸或 β 氨基酸的 1 位羧基酯化, 得到的化合物及其抑制脑啡肽的活性列于表 3。

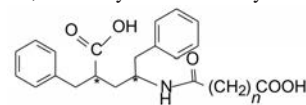
Table 3 SAR of compounds with 2,4-dibenzyl glutaric acid skeleton

Compd.	R ₁	R ₂	IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹ (Met-ENK as substrate)	Compd.	R ₁	R ₂	IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹ (Met-ENK as substrate)
32	Gly(<i>S,S</i>)	H	4	42	<i>S</i> -benzyl-Cys(<i>S,S</i>)	H	4
33	β -Ala(<i>RS,RS</i>)	H	18	43	 (<i>RS,RS</i>)	H	1 000
34	β -Ala(<i>S,S</i>)	H	8	44	 (<i>S,S</i>)	H	5
35	β -Ala(<i>R,R</i>)	H	>1 000	45	HN~CN (<i>S,S</i>)	H	>1 000
36	Gaba(<i>RS,RS</i>)	H	57	46	HN~OH	H	1 000
37	Gaba-ONa(<i>S,S</i>)	Na	1.4	47	β -Ala (<i>RS,RS</i>)	C ₂ H ₅	>1 000
38	Leu(<i>S,S</i>)	H	40	48	 (<i>RS,RS</i>)	Na	90
39	Phe-ONa(<i>S,S</i>)	Na	29	49	 (<i>S,S</i>)	H	800
40	Trp-ONa(<i>S,S</i>)	Na	74	50	 (<i>S,S</i>)	H	38
41	Homo-Phe(<i>S,S</i>)	H	5	51	 (<i>S,S</i>)	Na	20
8	Thiorphan		3	9	Phosphoramidon		0.6

分析表3的结构与活性关系,可得到如下信息:①改变氨基酸的链长,由甘氨酸(32)到 β 丙氨酸(34)到 γ 氨基丁酸(37)都具有高活性,提示对应于酶的S2'位置可容纳一定长度的柔性链,C₂~C₄的活性没有显著变化。②S2'处羧基是重要的,换成氰基(45)或羟基(46)活性降低至少100倍。③邻氨基苯甲酸(43)模拟构象限制的 β -丙氨酸,失去了活性,说明羧基与氨基呈顺式构型不利于结合。邻氨基苯乙酸(44)模拟构象限制的 γ -氨基丁酸,仍有高活性,提示该柔性键有利于形成活性构象。④连接两个苄基的手性碳以*S,S*-构型为优映体(34),其对映体*R,R*的活性很低(35),提示该处的疏水-疏水相互作用具有较强的立体选择性。⑤将两个苄基换成苯乙基,或苄基的苯环换成环己甲基,活性都显著降低(表3未列出),进一步提示两个苄基对于呈现活性的重要性。

7.3 反向酰胺化合物的活性 上述化合物34有很强的体外抑制脑啡肽酶的活性,进而设计合成了将酰胺键以相反的连接方式连接的化合物,考察氢键给体的位置变化对活性的影响,这样母核由原来的二苄基戊二酸变成二苄基氨基丁酸,表4列出了目标化合物的活性。

由表4可以看出,反向酰胺化合物仍然保持了抑制脑啡肽酶的活性,其中54的活性略强于34,而且手性碳的构型仍以*S,S*的活性最强(Ksander GM,

Table 4 SAR of 2,4-dibenzyl-4-amino-butylamide compounds

Compd.	<i>n</i>	Configuration (*)	Enkephalinase IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹
52	1	(<i>RS,RS</i>)	62
53	2	(<i>RS,RS</i>)	9
54	2	(<i>S,S</i>)	2
55	3	(<i>RS,RS</i>)	12
34	-		8

Diefenbacher CG, Yuan AM, et al. Enkephalinase inhibitors. 1. 2, 4 - Dibenzylglutaric acid derivatives. J Med Chem, 1989, 32: 2519-2526).

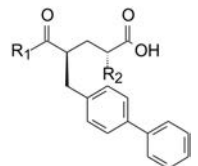
8 联苯戊二酰胺化合物

8.1 2,4位亲脂链不对称的化合物 脑啡肽酶和neprilysin虽然都是内源性肽的水解酶,但两个酶的抑制剂的选择性表现是不同的,例如thiorphan(8)和phosphoramidon(9)对二者都有较强的活性(作为先导化合物这是个优点,但作为药物就可能因为脱靶作用而呈现不良反应),然而上节讨论的二苄基戊二酸和氨基丁酸化合物34和54虽然对脑啡肽酶有强效抑制活性,但对neprilysin的活性很弱,IC₅₀分别为1 200 nmol·L⁻¹和4 000 nmol·L⁻¹。

借鉴前述的氨基磷酸化合物的结构中的联苯甲基

具有较强的活性贡献,因而将该片段引入到戊二酸系列中,以ANF为底物评价对酶的抑制活性。表5列出了含有一个联苯甲基的戊二酸酰胺的化合物。

Table 5 SAR of glutaramide compounds containing biphenyl-methyl group



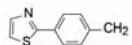
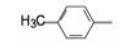
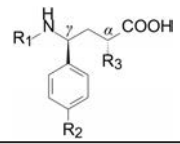
Compd.	R ₁	R ₂	IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹ (ANF as substrate)
34	-	-	54
56	HO ₂ CCH(OH)CH ₂ NH	3,4-(OCH ₃) ₂ -Ph-CH ₂	11
57	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH	<i>n</i> -Bu	66
58	HO ₂ CCH(OH)CH ₂ NH	<i>n</i> -Bu	21
59	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH	OPh	44
60	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH	OPh(erythro)	>1 000
61	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH	OCH ₃	42
62	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH	OCH ₃ (erythro)	>1 000
63	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH		19
64	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	54
65	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH		155
66	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH	H	41

表5中的化合物是固定联苯甲基不变,变换R₁的不同氨基酸和R₂的基团,分析构效关系如下:①R₁由β丙氨酸换成异丝氨酸,活性提高大约3~5倍;②固定联苯甲基和β丙氨酸不变,变换R₂基团成烷基、烷氧基、芳烷基或芳氧基,对活性影响不显著,但无取代的H活性降低4倍;③手性碳原子的构型很重要,如成对的化合物**59**与**60**、**61**与**62**的活性比较,差向异构体几乎失去了活性。

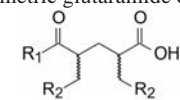
Table 7 Asymmetric amino-butylamide compounds













Compd.	Configuration <i>α,γ</i>	R ₁	R ₂	R ₃	IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹ (ANF as substrate)
74	<i>R,S</i>	CO(CH ₂) ₂ COOH	Ph	CH ₃	5
75	<i>S,R</i>	CO(CH ₂) ₂ COOH	Ph	CH ₃	190
76	<i>R,R</i>	CO(CH ₂) ₂ COOH	Ph	CH ₃	700
77	<i>S,S</i>	CO(CH ₂) ₂ COOH	Ph	CH ₃	27
78		CO(CH ₂) ₃ COOH	Ph	CH ₃	90
79		CO(CH ₂) ₄ COOH	Ph	CH ₃	324
80		COCH ₂ COOH	Ph	CH ₃	92
81		CO(CH ₂) ₂ COOH	Ph	OCH ₃	49
82		CO(CH ₂) ₃ COOH	Ph	H	99
83		CO(CH ₂) ₂ COOH	H	CH ₂ Ph	4 000

8.2 2,4位亲脂链相同的化合物 对称性的戊二酰β丙氨酸的骨架上当2,4位是二苄基时(化合物**34**),抑制活性很弱,但换成联苯甲基(**67**)或吡咯苯甲基(**68**)活性显著提高,不过,换成其他取代苯,活性也较弱。

Table 6 SAR of symmetric glutaramide compounds



Compd.	R ₁	R ₂	IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹ (ANF as substrate)
34	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH		1 200
67	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH		49
68	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH		36
69	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH		>1 000
70	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH		489
71	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ NH		203
72	HOOC 		515
73	HOOC 		52% @ 10 μmol·L ⁻¹

8.3 氨基丁酰胺类化合物 上一节合成的含有双苄基的γ氨基丁酸与氨基酸形成酰胺的化合物,例如**54**的活性很强,IC₅₀值为2 nmol·L⁻¹,设想若含有联苯基的不对称化合物会有较强的活性。根据表5和表6的构效关系,可以演绎出α碳连接烷基或芳烷基对活性影响不大,而γ位置的联苯甲基则是最佳的抑制基团,因而设计的化合物是R₁为丙二酰、丁二酰、丁酰和戊二酰基,R₂为苄基,R₃为甲基或甲氧基(小尺寸原则),化合物列于表7中。

表中数据显示,活性最强的是化合物**74**,IC₅₀值5 nmol·L⁻¹,4个立体异构体中以*αR,γS*活性最强,*αS,γS*(**77**)的活性其次,γ位为*R*构型的化合物(**75**和**76**)活性显著减弱。*α*位换成甲氧基(**81**)与甲基活性相当,

无取代的 **H (82)** 活性较弱。R₁ 片段以丁二酰基活性最强, 增加一碳 (戊二酰) 或减少一碳 (丙二酰) 都使活性下降。

9 不同结构类型的体外活性比较

以上不同结构类型的化合物对中性内切酶 (NEP) 的抑制活性分别用不同的肽类底物进行了评价, 即戊二酰-Ala-Ala-Phe-酰萘胺 (GAAP)、Leu-脑啡肽 (Leu ENK) 和心房利钠肽 (ANF), NEP 对这 3 个底物的催化作用 K_{cat}/K_m 分别为 37、56、18。

为了在不同结构类型中选择最佳的化合物, 挑选前述高活性的化合物作进一步比较, 这些化合物是 **8**、**18**、**34**、**66** 和 **74**。

Table 8 Inhibitory activities of high active compounds on NEP by various substrates measurement

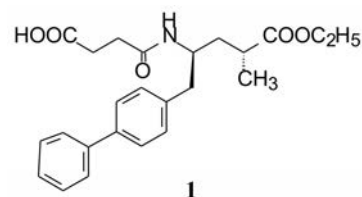
Compd.	IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹		
	GAAP	Leu ENK	ANF
8	4.8	1.5	8.3
18	1.6	0.81	2.0
34	5.0	0.74	5.3
66	1 200	9.0	not test
74	155	0.7	not test

表 8 的数据显示, 含巯基的 thiorphan (**8**)、胺基磷酸化合物 **18** 和二羧酸类化合物 **74** 用 3 种不同底物测定对 NEP 的抑制活性 (IC₅₀ 值) 是相似的, 虽然用 Leu-脑啡肽的模型活性略偏高, 但这 3 个化合物的体外活性具有体内的预测性。然而化合物 **34** 和 **66** 在 GAAP 和 Leu-ENK 为底物测定的活性相差很大, 就难以预测体内活性, 这可能是由于 **34** 和 **66** 的动力学性质不同的缘故。

10 前药—药代动力学性质

化合物 **74** 在体内外模型评价中显示较高抑制活性, 但由于结构中含有两个羧基, 极性过强不易吸收, 因而制成单酯性前药 **1**, 以钠盐形式在大鼠、犬和猴

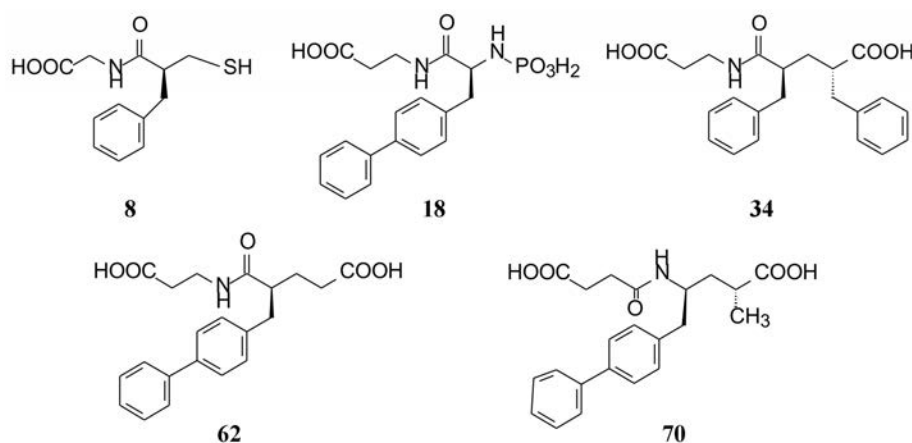
评价药代动力学性质。化合物 **1** 以剂量 30 mg·kg⁻¹ 灌胃大鼠和猴或十二指肠给药麻醉犬, 测定血液中水解成原药 **74** (未与蛋白结合的游离形式) 的浓度, 在 1~6 h 内生成的化合物 **74** 的浓度分别为 0.64~0.05 μmol·L⁻¹ (大鼠)、2.8~0.08 μmol·L⁻¹ (犬) 和 8.51~0.21 μmol·L⁻¹ (猴), 比体外测定对 NEP 抑制的 IC₅₀ 高 1 500~38 倍。活性化合物 **74** 在猴血浆中半衰期 (t_{1/2}) 为 4.6 h (Ksander GM, Ghai RD, de Jesus R, et al. Dicarboxylic acid dipeptide neutral endopeptidase inhibitors. J Med Chem, 1995, 38: 1689-1700)。



11 候选化合物的确定和上市

进而对化合物 **1** 用大鼠和犬进行体内 ANF 的影响和麻醉犬 ANF 诱导的排钠和利尿实验, 结果表明 **1** 有确定的药理作用。化合物 **1** 命名为沙库必曲 (sacubitril) 与血管紧张素受体拮抗剂缬沙坦 (**2**) 合用治疗心力衰竭患者, 经三期临床研究, 于 2015 年 FDA 批准沙库必曲和缬沙坦作为固定复方制剂上市, 商品名为 Entresto (Voors AA, Dorhout B, van der Meer P. The potential role of valsartan + AHU377 (LCZ696) in the treatment of heart failure. Expert Opin Investig Drugs, 2013, 22: 1041-1047)。

作为固定剂量的复方制剂, 应用 Entresto 起始剂量是 49/51 mg (沙库必曲/缬沙坦) 每天 2 次。当患者耐受后, 2 至 4 周后加倍 Entresto 剂量至目标维持剂量 97/103 mg (沙库必曲/缬沙坦) 每天 2 次。



12 Entresto 的结构与性质

Entresto 并非是沙库必曲和缬沙坦混合物, 而是等摩尔量组成的共晶复合物。经 X-射线衍射分析, 每个共晶体由 6 个沙库必曲负离子、6 个缬沙坦负离子、18 个钠离子 (用的氢氧化钠量不是化学计量的) 和 15 个水分子构成, 分子式为 $C_{288}H_{330}N_{36}Na_{18}O_{48} \cdot 15H_2O$, 分子量为 5 748.03, 为白色六边形片状结晶形粉末, 熔点 138 °C。复合物在固态和 pH 5~7 的水溶液是稳定的。

作为超分子的钠复合物, 18 个钠离子与来自沙库必曲和缬沙坦的 12 个羧基和 18 个羰基的氧原子, 以及 15 个水分子中的 13 个氧原子形成配位结构, 如图 1 所示。超分子还由于形成氢键网络而稳定化。缬沙坦的四唑环没有与钠形成离子键, 而是与沙库必曲的酰 NH 形成氢键 (Feng L, Karpinski PH, Sutton P, et al. LCZ696: a dual-acting sodium supramolecular complex. *Tetrahedron Lett*, 2012, 53: 275-276)。

沙库必曲作为新分子实体, 是以复合制剂被批准面市的, 两个主成分的药理作用的各司其责并具有互补性, 使得 Entresto 在治疗心衰患者成为划时代的突

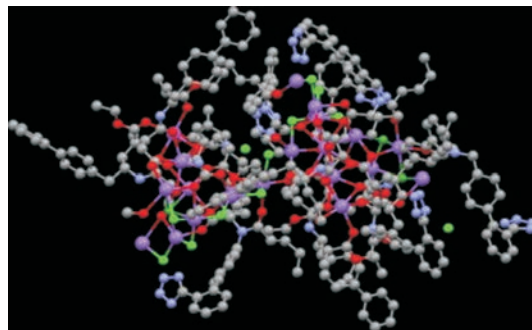


Figure 1 Crystallography of Entresto complex. Red ball stands for sodium ion, green is water molecule

破。在剂量设计和分子结构上也很有特色: 两个成分的治疗剂量恰好是等分子比量; 与钠离子形成配位键结合以及分子内和分子间的氢键网络, 构成了稳定的超分子结合的共晶结构, 也因此获得知识产权保护, 克服了这两个单体的专利已经过期的局面。复方制剂有时并非是简单的物理混合物 (Thipparaboina R, Kumar D, Chavan RB, et al. Multidrug co-crystals: towards the development of effective therapeutic. *Drug Discov Today*, 2016, 21: 481-490)。