

## • 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。

他米巴罗汀和贝沙罗汀分别是模拟全反式维A酸和9-顺式维A酸的药效团分布和分子构象研制的,以药物化学的方法分析构效关系优化而成。两个药物的研究机构分别是大学和公司,从发表的文章可读出研究模式的差异,大学教书育人,强调学术研究的系统性和完整性,企业更以产品目标为中心。这个理念的差异在我国的新药研究中也颇有反映。

(编者按)

DOI:10.16438/j.0513-4870.2016-0995

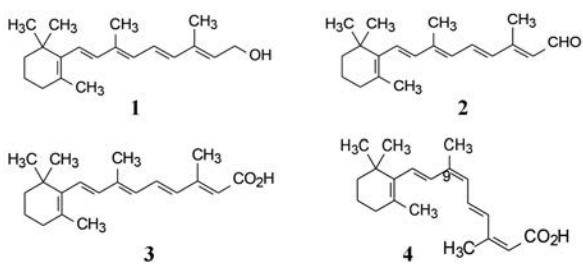
# 模拟天然产物的他米巴罗汀和贝沙罗汀

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 维生素A类化合物及其受体

**1.1 维A酸** 维生素A (**1**, retinol) 是人体必需的维生素,在体内依次氧化成视黄醛 (**2**, retinal) 和全反式维A酸 (**3**, all-*trans*-retinoic acid, 简称RA),各自履行不同的生理功能。维A酸作为信号分子在胚胎发育、细胞增殖和分化中起重要作用。维A酸在体内还可异构化为9-顺式维A酸 (**4**, 9-*cis*-RA),与维A酸功能相似,但结合的受体不同。



研究维A酸的构效关系表明,分子结构的一端为疏水性片段,另一端为极性基团,中间由共轭链间接,形成分子整体的共轭结构,3个因素都是必需的。临床应用维A酸治疗牛皮癣等皮肤病和白血病,但因长链的共轭结构的不稳定性,容易发生聚合而变性,加之维A酸有强刺激性,限制了临床应用。

**1.2 维A酸的调控作用** 维A酸 (RA) 的信号转导通路是由胞内RA结合蛋白、RA受体、RA反应元件 (RARE) 和靶基因构成。RA进入靶细胞后,经RA结合蛋白输送到细胞核内,与核受体生成复合物,以同二聚体或异二聚体识别并结合DNA上的RA反应元件,

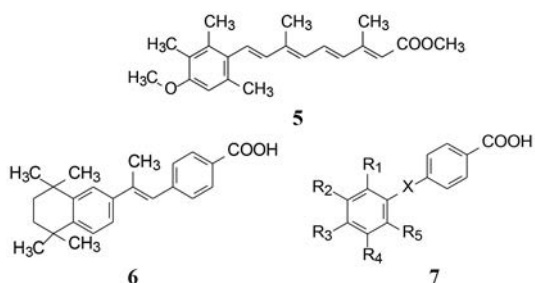
调控DNA基因表达,参与细胞增殖和分化过程。

**1.3 维A类受体** 维A类受体是核受体家族的一个分支,分为两类:维A酸受体 (RAR) 和维A类X受体 (RXR),各自又有3种亚型 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ 。RA结合并激活RAR受体,9-*cis*-RA结合并激活RXR受体。但对于亚型缺乏选择性作用,因而以天然配体RA或9-*cis*-RA作为先导化合物,研制具有较少刺激性和稳定性的合成维A类药物。

## 2 作用于RAR的他米巴罗汀

**2.1 活性评价** 评价受试物的活性用两种体外模型,一是对人早幼粒白血病HL60细胞诱导分化为成熟的粒细胞能力,形态学的变化是用Wright-Giemsa染色测定。另一是用硝基四氮唑蓝 (NBT) 还原反应测定细胞分化功能的标示物。实验表明这两种表征分化作用的指标有良好的相关性。受试物的诱导分化活性用ED<sub>50</sub>表征,是用NBT还原反应测定受试物诱导50%人髓性白血病细胞HL60分化为成熟粒细胞的浓度计算而得。

**2.2 维A苯甲酸类化合物的设计** 东京大学首藤等基于罗氏公司上市治疗牛皮癣的依曲替酯 (**5**, etretinate) 和虽未上市但有强效细胞分化活性的芳维甲 (**6**, arotinoid) 结构,推断维A酸的共轭多烯,可部分地用苯环替换,并且苯环键可用参与共轭系统的非碳原子的片段连接,设计了通式7的化合物模式。由于结构中含有苯甲酸片段,故名为维A苯甲酸类 (retinobenzoic acids)。



**2.3 胺酰基连接的化合物系列** 首先用胺酰基-NHCO-连接两个苯环, R1~R5 为不同位置的烷基或环烷基变换不同位置单、双或三取代化合物列于表 1。

**Table 1** Activity of compounds with monosubstituent at ring A

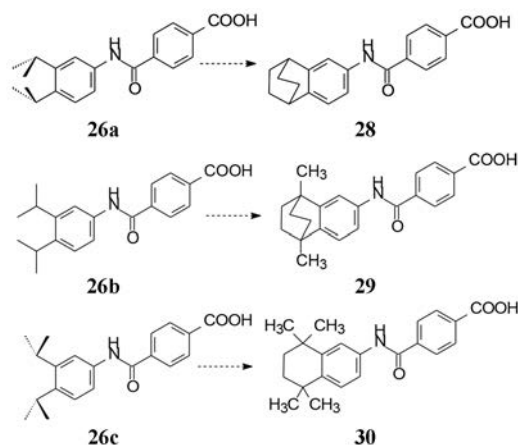
| Compd. | R   | EC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup> | Relative activity    |
|--------|---|--|----------------------|
| 3      | Retinoic acid                                     | 0.002 4                                | 1                    |
| 8      | H   | >1                                     | -                    |
| 9      | 3-CH <sub>3</sub>                                 | >1                                     | -                    |
| 10     | 3-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>                   | >1                                     | -                    |
| 11     | 4-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>               | 0.91                                   | 9.8×10 <sup>-4</sup> |
| 12     | 3-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>               | 0.68                                   | 1.3×10 <sup>-3</sup> |
| 13     | 2-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>               | >1                                     | -                    |
| 14     | 3-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                | >1                                     | -                    |
| 15     | 3-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>                | 0.7                                    | 3.2×10 <sup>-3</sup> |
| 16     | 4-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>                | ≈1                                     | <10 <sup>4</sup>     |
| 17     | 3-Phenyl  | >1                                     | -                    |
| 18     | 3-cyc-Hexyl                                       | ≈1                                     | <10 <sup>4</sup>     |
| 19     | 3-Br  | >1                                     | -                    |
| 20     | 3,4-(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> | 0.26                                   | 7.7×10 <sup>-3</sup> |
| 21     | 3,5-( <i>t</i> -Bu) <sub>2</sub>                  | 0.036                                  | 0.15                 |
| 22     | 2,6-( <i>i</i> -Pr) <sub>2</sub>                  | >1                                     | -                    |
| 23     | 2,5-( <i>i</i> -Pr) <sub>2</sub>                  | >1                                     | -                    |
| 24     | 2,6-( <i>i</i> -Pr) <sub>2</sub>                  | >1                                     | -                    |
| 25     | 3,5-( <i>i</i> -Pr) <sub>2</sub>                  | 0.038                                  | 4.2×10 <sup>-2</sup> |
| 26     | 3,4-( <i>i</i> -Pr) <sub>2</sub>                  | 0.002 1                                | 1.4                  |
| 27     | 2,4,6-( <i>t</i> -Bu) <sub>3</sub>                | >1                                     | -                    |

表 1 的构效关系表明: ① 苯环 A 上无取代基或 3-甲基或 3-乙基取代的化合物 (8~10) 都没有活性。② R 为中等大小的烷基呈现弱活性, 例如化合物 11~15, 但都弱于维 A 酸。③ 不同位置取代的异丙基和叔丁基呈现活性不同, 处于 3 位的活性最强 (化合物 12、15), 在 2 或 4 位的活性较弱。④ 体积大的 3-苯基 (17) 或 3-环己基 (18) 基本无活性。⑤ 处于 3,4 或 3,5 位中等大小的二取代物如二异丙基或二叔丁基有较高的活性。3,4-二异丙基化合物 26 活性强于维 A 酸。⑥ 在 2 (或 6) 位有取代基则失去活性, 例如化合物 22~24 和 27。推测是邻位效应影响了化合物的构象。

综合上述 SAR, 表明在 A 环的 3,4 位存在两个中等大小的烷基有利于活性。化合物 25 和 26 是两个位置

异构体, 活性相差近 20 倍。差异缘故可做如下分析: 处于 3,4 位的两个异丙基拥挤的位阻会导致 4 个甲基朝向相反方向, 形成较稳定的限制性构象, 这种限制性烷基构象可能有利于和受体结合, 而 3,5-取代基仍可自由转动, 活性构象份额较少。这种推理, 在后面叙述的成环方式得到了验证。

**2.4 二异丙基的环合** 设想 3,4-二异丙基的 4 个甲基呈面对面朝向 (26a) 用双环固化结构成 28; 26b 固化的结构成 29, 在环外有两个甲基; 26c 的 4 个甲基背对背地朝外, 环合成 30。这 3 个化合物的活性有很大的区别 (表 2)。



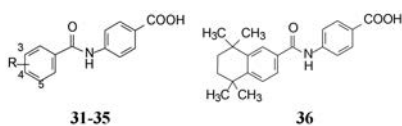
**Table 2** Comparison of activities between cyclized compounds

| Compd. | EC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup> | Relative activity    |
|--------|--|----------------------|
| 3      | 0.002 4                                | 1                    |
| 26     | 0.002 1                                | 1.4                  |
| 28     | >1                                     | -                    |
| 29     | 0.068                                  | 5.9×10 <sup>-2</sup> |
| 30     | 0.000 79                               | 3.5                  |

化合物 28 与二异丙基的碳数相同, 或许是环外没有甲基, 失去了活性; 双环的桥头各连接一甲基, 恢复原来活性 (仍不及未成环的 26); 30 是在苯基 α 碳上各有两个甲基, 诱导分化的活性很高, 是维 A 酸的 3.5 倍。29 和 30 的碳数相同, 疏水性相近, 活性相差近百倍, 推测是分子形状不同引起的活性区别。

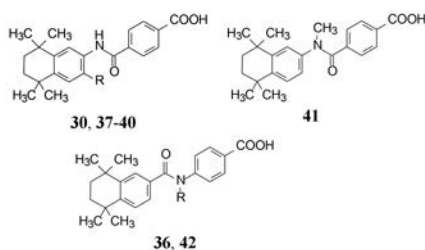
**2.5 逆向连接—酰胺化合物系列** 上面合成的化合物是用 -NHCO- 连接两个苯环, 下面以逆向的酰胺片段 (-CONH-) 连接, 探索逆向连接对活性的影响。表 3 列出有代表性的化合物, A 环无取代基或单取代的叔丁基化合物 31~33 也未呈现活性, 而双叔丁基取代的化合物 34 和 35 活性显著提高, 四甲基四氢萘化合物 36 活性高达维 A 酸的 7.2 倍。以上结果表明正向酰胺基或逆向酰胺基连接的化合物的构效关系是相同的。

**2.6 苯环和酰胺上的取代** 四甲基四氢萘胺酰或酰

**Table 3** Activity of compounds with amide linker

| Compd. | R                                | EC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup> | Relative activity    |
|--------|----------------------------------|--|----------------------|
| 3      | Retinoic acid                    | 0.002 4                                | 1                    |
| 31     | H                                | >1                                     | -                    |
| 32     | 3- <i>t</i> -Bu                  | >1                                     | -                    |
| 33     | 4- <i>t</i> -Bu                  | >1                                     | -                    |
| 34     | 3,5-( <i>t</i> -Bu) <sub>2</sub> | 0.048                                  | 5.6×10 <sup>-2</sup> |
| 35     | 3,4-( <i>i</i> -Pr) <sub>2</sub> | 0.068                                  | 4.0×10 <sup>-2</sup> |
| 36     | -                                | 0.000 34                               | 7.2                  |

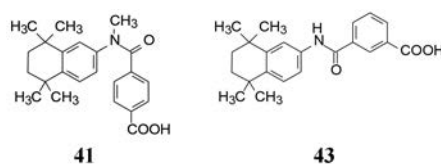
胺成为优化的骨架,表现在化合物**30**和**36**的诱导分化活性强于维A酸。下一步是对骨架作取代基的变换,即考察在胺酰(酰胺)基的邻位和氮原子上的基团取代对活性的影响。表4列出了有代表性的化合物。

**Table 4** Activity of compounds with various substituents at phenyl ring or N-atom

| Compd. | R               | EC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup> | Relative activity    |
|--------|-----------------|--|----------------------|
| 3      | Retinoic acid   | 0.002 4                                | 1                    |
| 30     | H               | 0.000 79                               | 3.5                  |
| 37     | CH <sub>3</sub> | 0.35                                   | 6.0×10 <sup>-3</sup> |
| 38     | NO <sub>2</sub> | >1                                     |                      |
| 39     | NH <sub>2</sub> | 0.56                                   | 1.1×10 <sup>-2</sup> |
| 40     | Br              | >1                                     |                      |
| 41     | -               | >1                                     |                      |
| 36     | H               | 0.000 34                               | 7.2                  |
| 42     | CH <sub>3</sub> | >1                                     |                      |

表4的数据表明,在化合物**30**的连接基的邻位引入基团,使活性降低2~3个数量级,提示邻位效应不利于活性可能是改变了分子构象和共面性而失活,这与前述的异丙基系列的邻位取代的效应是相同的。化合物**41**和**42**分别是高活性的**30**与**36**的*N*-甲基衍生物,二者活性殆尽。究其原因,是甲基引起分子构象由伸展性变为弯曲状,并由NMR和X-射线衍射证明,如化合物**41**有如下的构象(Kagechika H, Himi T, Kawachi E, et al. Retinobenzoic acids. 4. Conformation of aromatic amides with retinoidal activity. Importance of trans-amide structure for the activity. J Med Chem, 1989, 32: 2292-2296)。

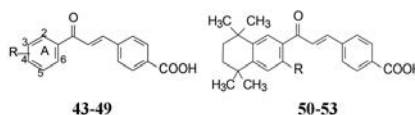
-NH-CO-以*trans*为稳定构象,使分子(例如**30**)呈



伸展形状,当甲基取代成-N(CH<sub>3</sub>)-CO-,则呈*cis*更为稳定,以避免*trans*构象的甲基与苯环邻位氢原子的空间阻碍。弯曲形的分子与维A酸的伸展构型差异大,难以与受体适配。

化合物**43**是将高活性化合物**30**的*p*-羧基移至*m*-位置,活性下降1 000倍,可能是间位羧基缺乏参与共轭体系的缘故(Kagechika H, Kawachi E, Hashimoto Y, et al. Retinobenzoic acids. 1. Structure-activity relationships of aromatic amides with retinoidal activity. J Med Chem, 1988, 31: 2182-2192)。

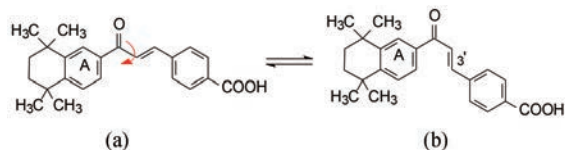
**2.7 查耳酮为骨架的构效关系** 以化合物**30**和**36**为代表的化合物表明胺酰基和酰胺连接基对诱导分化活性的有效性,提示连接基的变换有一定的空间。本节考察以丙烯酮(-CO-CH=CH-)为连接基的查耳酮骨架的活性。丙烯酮片段通过交叉共轭将苯环A和B形成共轭体系。列于表5的化合物的构效关系表明,苯环A的取代基变换对活性的影响与前述的SAR相同。

**Table 5** Activity of the compounds with varied substituents at ring A of chalcones

| Compd. | R   | EC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup> | Relative activity    |
|--------|---|--|----------------------|
| 3      | Retinoic acid                                     | 0.002 4                                | 1                    |
| 43     | H   | >1                                     | -                    |
| 44     | 3,4-(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> | 0.17                                   | 8.3×10 <sup>-3</sup> |
| 45     | 3,4-( <i>i</i> -Pr) <sub>2</sub>                  | 0.000 82                               | 1.8                  |
| 46     | 4- <i>t</i> -Bt                                   | 0.028                                  | 3.9×10 <sup>-2</sup> |
| 47     | 2,5-( <i>t</i> -Bu) <sub>2</sub>                  | 0.045                                  | 2.1×10 <sup>-2</sup> |
| 48     | 3,5-( <i>t</i> -Bu) <sub>2</sub>                  | 0.000 21                               | 6.4                  |
| 49     | 3- <i>t</i> -Bt                                   | 0.16                                   | 8.1×10 <sup>-3</sup> |
| 50     | H   | 0.000 64                               | 2.8                  |
| 51     | CH <sub>3</sub>                                   | 0.000 54                               | 2.1                  |
| 52     | OH  | 0.000 15                               | 1.4                  |
| 53     | OCH <sub>3</sub>                                  | 0.003 9                                | 0.35                 |

表5的构效关系表明与前述的胺酰(酰胺)系列的规律相似,二异丙基或二叔丁基取代苯(**45**、**48**)的活性更高,四甲基四氢萘(**50**)也很高。而且在6位存在甲基或羟基的化合物(**51**、**52**)活性也强于维A酸,而前述系列则不容有6位取代。这可能是查耳酮的交叉共轭允许单键作一定程度的扭动,既维持了活性构象,也避免了邻位(或称迫位)甲基的扰动。

查耳酮可存在不同的低能构象,如图1所示的酮基于双键成 *cis* (a) 和 *trans* (b) 的构象。若反式构象的碳原子 C3' 用氧醚键与苯环 A 成环,即成黄酮结构(查耳酮是植物体内黄酮的生源),可认为是将查耳酮的反式构象固定的骨架。为此考察了以黄酮为母核的维 A 化合物。



**Figure 1** Two low-energy conformations of chalcone (*cis* (a), *trans* (b))

**2.8 黄酮为母核的化合物** 黄酮的并苯上取代烷基的大小、位置和数量对诱导分化作用的影响与前述的胺酰、酰胺连接的化合物以及查耳酮的构效关系是相同的(结构和数据省略),因而表6只列出四甲基四氢萘并呋喃酮为母核的有代表性化合物。化合物**54**相当于**30**、**36**和**50**,具有很强的活性,为维A酸的27倍。不过由于稠合三环的结构,物理化学性质和成药性上存在潜在的问题,或许是未深入研究的缘故。有趣的是在黄酮的3位连接羟基或甲氧基仍保持有活性(Kagechika H, Kawachi E, Hashimoto Y, et al. *Retinobenzoic acids*. 2. Structure-activity relationships of chalcone-4-carboxylic acids and flavone-4'-carboxylic acids. *J Med Chem*, 1989, 32: 834-840)。

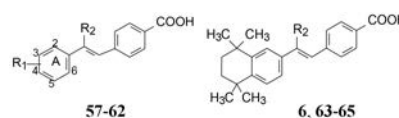
**Table 6** Activity of typical flavone compounds

| Compd.    | R                | EC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup> | Relative activity |
|-----------|------------------|--|-------------------|
| <b>3</b>  | Retinoic acid    | 0.002 4                                | 1                 |
| <b>54</b> | H                | 0.000 046                              | 27.4              |
| <b>55</b> | OH               | 0.001 2                                | 1.25              |
| <b>56</b> | OCH <sub>3</sub> | >1                                     | -                 |

**2.9 蒽类化合物** 反式二苯乙烯化合物(蒽类)是前述的胺酰或酰胺类化合物的电子等排体,区别是蒽类以π键连接两个苯基,酰胺是经p-π共轭连接。有代表性的化合物列于表7,苯环上烷基的个数和尺寸对活性的影响与前面的胺酰基或丙烯酮系列化合物的构效关系相同,例如二甲基化合物**57**没有活性,二乙基(**58**)和二丙基(**59**)的活性逐渐提高,3-叔丁基(**60**)的活性强于4-叔丁基(**61**、**62**)。四甲基四氢萘化合物**63**的活性强于维A酸1.6倍,当乙烯基α位被甲基取代(**6**,芳维甲),活性有所降低,接近于维A酸。化合物**65**

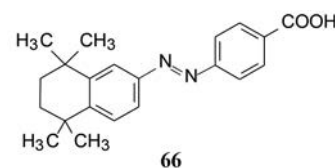
是**63**的双键被还原成单键相连的化合物,活性下降了近千倍,可解释为失去双键破坏了分子整体的共轭性的缘故(Kagechika H, Himi T, Namikawa K, et al. *Retinobenzoic acids*. 3. Structure-activity relationships of retinoidal azobenzene-4-carboxylic acids and stilbene-4-carboxylic acids. *J Med Chem*, 1989, 32: 1098-1108)。

**Table 7** Activity of typical stilbene compounds. \*Ethenyl group is hydrogenated into -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-



| Compd.     | R <sub>1</sub>                                    | R <sub>2</sub>  | EC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup> | Relative activity    |
|------------|---|-----------------|--|----------------------|
| <b>3</b>   | Retinoic acid                                     |                 | 0.002 4                                | 1                    |
| <b>57</b>  | 2,3-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>               | CH <sub>3</sub> | >1                                     | -                    |
| <b>58</b>  | 2,3-(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> | CH <sub>3</sub> | 0.087                                  | 2.2×10 <sup>-2</sup> |
| <b>59</b>  | 2,3-( <i>i</i> -Pr) <sub>2</sub>                  | CH <sub>3</sub> | 0.013                                  | 1.5×10 <sup>-2</sup> |
| <b>60</b>  | 3-( <i>t</i> -Bu)                                 | H               | 0.010                                  | 1.3×10 <sup>-2</sup> |
| <b>61</b>  | 4-( <i>t</i> -Bu)                                 | H               | >1                                     | -                    |
| <b>62</b>  | 4-( <i>t</i> -Bu)                                 | CH <sub>3</sub> | >1                                     | -                    |
| <b>63</b>  | -   | H               | 0.000 5                                | 2.6                  |
| <b>6</b>   | -   | CH <sub>3</sub> | 0.002 5                                | 0.9                  |
| <b>64</b>  | -   | CF <sub>3</sub> | 0.031                                  | 5.7×10 <sup>-2</sup> |
| <b>65*</b> | -   | H               | 0.13                                   | 2.7×10 <sup>-3</sup> |

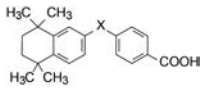
偶氮基-N=N-作为连接基(**66**)仍保持了反式构型,因而也有活性(EC<sub>50</sub> 0.0017 μmol·L<sup>-1</sup>),但可能在体内发生还原代谢而失活,有潜在的不稳定性。



**2.10 候选化合物和他米巴罗汀的上市** 东京大学首藤研究组对诱导细胞分化的维A苯甲酸类化合物进行了系统的结构变换和构效关系研究,从发表的文章清晰感知高校的研究方式,例如探究两个苯环间不同的连接基(形成不同的骨架结构)的构效关系,都要合成A环上无取代或小尺寸烷基取代,并证明都是无效的,其实尝试一次就足够,因为这与维A酸分子中三甲苯环己烯的结构相距甚远,因而本文在解析研究历程时省略了许多化合物和数据。从研发新药的视角,过多合成显然无效的化合物是无意义的重复。不同骨架的优化结构都应聚焦于含有四甲基四氢萘的片段上,也就是表8列出的高活性化合物。

化合物**30**被确定为候选化合物,但从这些高活性化合物中选择的依据,在发表的文献中笔者未能找到例如对动物实验、药代、安全性或物化性质等数据的比

**Table 8** Structures and activity of high active compounds with tetramethyl-tetrahydro-naphthalene skeleton. \*The values are not proportional to the original EC<sub>50</sub> of the source reference



| Compd.    | X             | EC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup> | Relative activity* |
|-----------|---------------|--|--------------------|
| <b>3</b>  | Retinoic acid | 0.002 4                                | 1                  |
| <b>30</b> | -NHCO-        | 0.000 79                               | 3.5                |
| <b>36</b> | -CONH-        | 0.000 34                               | 7.2                |
| <b>50</b> | -COCH=CH-     | 0.000 64                               | 2.8                |
| <b>54</b> | -Pyranone-    | 0.000 046                              | 27.4               |
| <b>63</b> | -CH=CH-       | 0.000 50                               | 2.6                |
| <b>66</b> | -N=N-         | 0.001 7                                | 1.3                |

较,因而难以叙述这一环节。化合物**30**在大鼠体内的半衰期 $t_{1/2}$ 为3.4~4.0 h,  $t_{max}$ 为2~4 h,代谢产物主要是脂环上不同位置的羟基化。安全性实验表明,大鼠皮下注射50 mg·kg<sup>-1</sup>未见行为异常和死亡。化合物**30**由东光制药公司开发,定名为他米巴罗汀(tamibaroten)。经临床试验,表明口服应用可治疗急性早幼粒白血病,于2005年在日本和美国上市。

## 贝沙罗汀

他米巴罗汀的研制是以细胞表型的变化和导致生化反应的改变作为评价指标的,没有从对核受体的选择性激动活性作为设计和优化目标。本节讨论的贝沙罗汀则是Ligand公司针对RXR受体进行研制的。读者从研制过程也可以领略到企业与当时大学研发新药的区别。

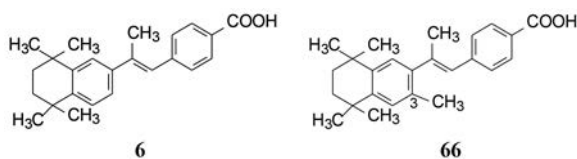
### 1 活性评价

化合物活性用两种体外模型评价,一是通过共转染(cotransfection)方法测定化合物对6个维A受体的相互作用和激活基因的能力;另一是分别用[<sup>3</sup>H]-维A酸和[<sup>3</sup>H]9-*cis*-维A酸作底物测定受试物对6个受体的竞争性结合力(affinity)。共转染实验是将两个基因导入CV-1细胞中,核受体在启动子的调控下合成蛋白,报告分子(reporter molecule)在激素反应元件的控制下被所测定的核受体识别,为此用荧光素酶基因作为测定的报告分子,其催化活性直接反映了酶的表达含量。EC<sub>50</sub>是产生最大效应的50%所需受试物的纳摩尔浓度。

### 2 先导物的发现

研究发现,化合物**6**分子的3位甲基化(**66**)后对RAR和RXA激动作用发生显著变化,**6**对RAR $\alpha,\beta,\gamma$ 的活性EC<sub>50</sub>为1~30 nmol·L<sup>-1</sup>,**66**对RAR $\alpha,\beta,\gamma$ 的EC<sub>50</sub>为180~340 nmol·L<sup>-1</sup>,而**6**和**66**对RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 的EC<sub>50</sub>分别为>10 000 nmol·L<sup>-1</sup>和1 175~1 500 nmol·L<sup>-1</sup>。3位用

乙基或异丙基取代提高了对RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 活性。



### 3 结构优化

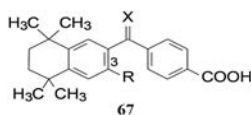
为了提高对RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 的选择性激动活性,研发者设计了通式为**67**的化合物,笔者认为用 $sp^2$ 杂化的单原子(团)连接两个苯环,赋予分子的结构以不同于维A酸的伸展型分子走向,形成的“拐点”模拟了9-*cis*-维A酸的构象,以拟合RXR受体结合域。

为优化结构设定对**67**作两个位点的变换:3位R和连接两个苯环的C=X基团。表9列出了有代表性化合物和作用于CV-1细胞的6种受体共转染数据。设计的成对化合物,是每变换3位取代基,要同时合成酮基C=O和亚甲基C=CH<sub>2</sub>化合物。

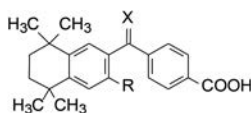
分析构效关系如下:① 化合物**68**对RAR $\beta,\gamma$ 和RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 只呈现微弱活性,EC<sub>50</sub>在937~2971 nmol·L<sup>-1</sup>之间,没有显示出对RXR的选择性活性;**78**对RAR $\beta,\gamma$ 和RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 的活性虽然普遍强于**68**,但也没有显示出RXR的选择性。② **69**是3-甲基取代的酮基化合物,甲基的引入消除了对RAR的激动作用,对RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 的活性提高了大约4~10倍;相应的亚甲基化合物**79**不仅消除了对RAR受体活性,还显著提高了对RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 的活性,EC<sub>50</sub>达到24~33 nmol·L<sup>-1</sup>。提示3-甲基取代提升了TXR的活性和选择性。**79**是对RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 活性和选择性最强的化合物。③ 两个系列的3-乙基、3-异丙基、3-氯、3-溴和3-甲氧基也都激活了RXR,提高了基因表达量。然而酮基系列的3-氟、3-羟基和3-正丙基,以及亚甲基系列的3-氟和3-正丙基没有显示活性或没有选择性。

进而评价了这些化合物与RAR $\alpha,\beta,\gamma$ 和RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 的结合性能,方法是与[<sup>3</sup>H]-维A酸和[<sup>3</sup>H]9-*cis*-维A酸竞争性结合6种受体的能力,结构列于表10。

表10中化合物与受体的选择性结合数据与表9的功能性数据有良好的相关性。连接基为酮基系列的化合物结合力和选择性弱于相应的亚甲基系列。3位没有甲基的**68**对RAR $\alpha,\beta,\gamma$ 和RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 都没有结合作用,无3-甲基的亚甲基化合物**78**虽然只结合RXR $\alpha,\beta,\gamma$ ,但活性弱。**79**也是对RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 选择性结合作用最强的化合物。有趣的是3-正丙基化合物**71**和**81**的功能性实验没有呈现活性,但都能和RXR $\alpha,\beta,\gamma$ 结合,推测有可能呈现RXR受体拮抗作用。化合物**76**基本未呈现活性,是由于羟基与酮基发生分子内氢键结合,改

**Table 9** Functional activity of compounds for 6 retinoic acid receptors

| Compd. | R                | X               | EC <sub>50</sub> /nmol·L <sup>-1</sup> |             |              |              |             |              |
|--------|------------------|-----------------|--|-------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
|        |                  |                 | RAR $\alpha$                           | RAR $\beta$ | RAR $\gamma$ | RXR $\alpha$ | RXR $\beta$ | RXR $\gamma$ |
| 68     | H                | O               | >10 000                                | 1 388       | 2 043        | 2 971        | 937         | 2 836        |
| 69     | CH <sub>3</sub>  | O               | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 379          | 213         | 246          |
| 70     | Et               | O               | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 514          | 870         | 384          |
| 71     | <i>i</i> -Pr     | O               | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 381          | 313         | 357          |
| 72     | <i>n</i> -Pr     | O               | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | >100 000     | >10 000     | >100 000     |
| 73     | F                | O               | 2 856                                  | 395         | 1 016        | 1 820        | 1 976       | 2 246        |
| 74     | Cl               | O               | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 294          | 262         | 225          |
| 75     | Br               | O               | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 332          | 120         | 261          |
| 76     | OH               | O               | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | >10 000      | >100 000    | >10 000      |
| 77     | OCH <sub>3</sub> | O               | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 2 019        | 2 200       | 2 191        |
| 78     | H                | CH <sub>2</sub> | >10 000                                | 304         | 266          | 409          | 486         | 404          |
| 79     | CH <sub>3</sub>  | CH <sub>2</sub> | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 33           | 24          | 25           |
| 80     | Et               | CH <sub>2</sub> | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 115          | 145         | 136          |
| 81     | <i>i</i> -Pr     | CH <sub>2</sub> | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 207          | 289         | 227          |
| 82     | <i>n</i> -Pr     | CH <sub>2</sub> | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | >10 000      | >10 000     | >10 000      |
| 83     | F                | CH <sub>2</sub> | >10 000                                | 337         | 397          | 197          | 189         | 383          |
| 84     | Cl               | CH <sub>2</sub> | >10 000                                | 436         | 1 446        | 52           | 33          | 36           |
| 85     | Br               | CH <sub>2</sub> | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 51           | 59          | 43           |
| 86     | OH               | CH <sub>2</sub> | >10 000                                | 2 238       | >10 000      | 455          | 202         | 558          |
| 87     | OCH <sub>3</sub> | CH <sub>2</sub> | >10 000                                | >10 000     | >10 000      | 83           | 198         | 230          |

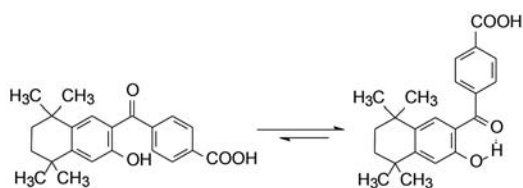
**Table 10** Competitive binding values of compounds for 6 retinoic acid receptors

| Compd. | R                | X               | EC <sub>50</sub> /nmol·L <sup>-1</sup> |             |              |              |             |              |
|--------|------------------|-----------------|--|-------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
|        |                  |                 | RAR $\alpha$                           | RAR $\beta$ | RAR $\gamma$ | RXR $\alpha$ | RXR $\beta$ | RXR $\gamma$ |
| 68     | H                | O               | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | >1 000       | >1 000      | >1 000       |
| 69     | CH <sub>3</sub>  | O               | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 138          | 191         | 299          |
| 70     | Et               | O               | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 195          | 232         | 424          |
| 71     | <i>i</i> -Pr     | O               | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 113          | 155         | 309          |
| 72     | <i>n</i> -Pr     | O               | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 269          | 371         | 704          |
| 73     | F                | O               | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 706          | 902         | 911          |
| 74     | Cl               | O               | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 130          | 110         | 135          |
| 75     | Br               | O               | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 105          | 150         | 150          |
| 76     | OH               | O               | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 818          | >1 000      | >1 000       |
| 77     | OCH <sub>3</sub> | O               | 944                                    | 909         | 887          | >1 000       | >1 000      | >1 000       |
| 78     | H                | CH <sub>2</sub> | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 150          | 199         | 290          |
| 79     | CH <sub>3</sub>  | CH <sub>2</sub> | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 14           | 21          | 29           |
| 80     | Et               | CH <sub>2</sub> | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 31           | 44          | 59           |
| 81     | <i>i</i> -Pr     | CH <sub>2</sub> | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 55           | 75          | 142          |
| 82     | <i>n</i> -Pr     | CH <sub>2</sub> | >1 000                                 | >1 000      | >100         | 137          | 236         | 332          |
| 83     | F                | CH <sub>2</sub> | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 69           | 108         | 94           |
| 84     | Cl               | CH <sub>2</sub> | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 27           | 44          | 44           |
| 85     | Br               | CH <sub>2</sub> | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 28           | 34          | 35           |
| 86     | OH               | CH <sub>2</sub> | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 487          | 822         | 812          |
| 87     | OCH <sub>3</sub> | CH <sub>2</sub> | >1 000                                 | >1 000      | >1 000       | 96           | 191         | 113          |

变了分子的构象,如图2所示。<sup>1</sup>H NMR显示**76**和**86**在DMSO-*d*<sub>6</sub>的羟基的质子有不同的化学位移,**76**向低场移动1.4 ppm(二者分别为10.29和8.89 ppm)。当然,化合物**77**、**86**和**87**不能形成分子内氢键,但活性也很低,可能还有其他的原因。

#### 4 候选化合物和贝沙罗汀上市

化合物**79**对RXR $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 有高度亲和力和促进RXR $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 受体对DNA表达功能,进一步实验表明**79**可阻断肿瘤细胞周期,诱导细胞分化和凋亡,以及抑制血管形成和转移。Ligand公司命名为贝沙罗汀



**Figure 2** The dominant conformation of compound **76**

(bexarotene), 经临床前和临床研究表明是治疗皮肤 T 细胞淋巴瘤的有效药物, 美国 FDA 和欧盟 EMA 分别于 1999 年底和 2001 年初批准上市 (Qiu L, Tang XW. Bexarotene: a promising anticancer agent. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2010, 65: 201-205)。

## 5 贝沙罗汀的分子构象

贝沙罗汀在 3 位有甲基存在, 使得对 RXR 选择性活性显著高于无甲基的化合物 **68**, 分子模拟优化能量后的化合物构象表明, 没有 3-甲基化合物 **68** 的两个苯环处于一个平面, 而贝沙罗汀低能构象为两个苯环处于垂直取向, 经 QSAR 研究贝沙罗汀比没有甲基取代的化合物 **78** 构象熵损失  $0.45 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 提示 **68** 难以越过维持活性构象的能垒 (Boehm MF, Zhang L, Badea BA, et al. Synthesis and structure-activity relationships of novel retinoid X receptor-selective retinoids. *J Med Chem*, 1994, 37: 2930-2941)。