

· 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。

艾瑞昔布是我国研制的抗炎镇痛药物。项目启动于 1997 年, 2011 年批准上市, 历时 14 年, 是改革开放以来研发创新药物较早的一个, 作为跟随性药物, 研发中应用了药效团和骨架迁越的理念, 在构效关系的分析中注意到靶标的特征, 以及 COX-2 和 COX-1 之间的平衡, 提出了适度抑制的概念指导化合物的优化和候选物的遴选。研制期间还遇到了罗非昔布的撤市和全球对 COX 靶标可药性的质疑, 本品躲过了这一劫, 或许是没有追求高抑制活性的幸运。另一研发特点是项目从立项就与恒瑞医药合作, 在联合实验室的框架下运作与实施, 使得研究与开发得以顺当过渡, 体现了企业是产品研发的核心。恒瑞医药经过这第一个创新药物的浴火历练, 近 20 年来已发展成为我国创新能力最强的药企之一。 (编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0517

基于药效团和骨架迁越研发的艾瑞昔布

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)

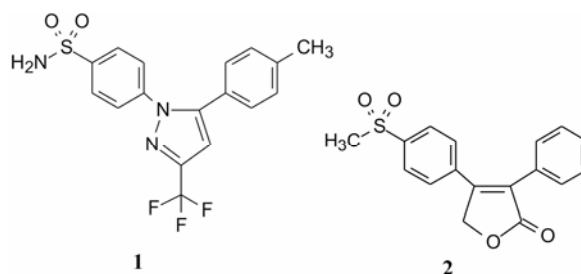
1 生物学研究催生新抗炎药物领域

20 世纪 80 年代末 Xie 等自炎症细胞中发现环氧合酶-2 (COX-2), 证明是产生前列腺素类炎症介质的催化酶系, 作为诱导产生的酶 COX-2 与已知结构性酶环氧合酶-1 (COX-1) 在功能上都是以花生四烯酸 (AA) 为底物, 但生化产物不同, 因而功能相异, 两个酶结构的同源率为 60% (Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, et al. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 2692–2696)。既然 COX-2 是伴随炎症的诱导性酶, 制药界认定是研制抗炎药物的绝好靶标, 这类药物可避免非甾体抗炎药 (NSAID) 常出现的胃肠道不良反应。

欧美药厂纷纷上马研制选择性 COX-2 抑制剂, 其中走在前列的是辉瑞公司的塞来昔布 (1, celecoxib) 和默克的罗非昔布 (2, rofecoxib), 并先后在 1999 年上市, 一度成为热销的重磅药物。

2 药效团和骨架迁越指导跟随性药物创制

研制艾瑞昔布始于 1997 年, 塞来昔布和罗非昔



布此时处于 III 期临床研究, 虽未上市, 艾瑞昔布是典型的跟随性药物。文献和专利报道了多种选择性 COX-2 抑制剂结构。直观分析这些结构, 虽然大体可归纳出共有的结构特征, 但用计算机辅助可精确构建 COX-2 抑制剂的药效团: 该模型含有 4 个特征和相互之间的 6 个距离, 如图 1 所示。基于这个模型, 依据骨架迁越原理, 变换连接芳香环的结构, 并维持和支撑药效团特征的空间分布, 以保持对 COX-2 酶的结合与抑制, 并赋予化合物结构的新颖性。本项目设计合成了三类不同骨架的化合物。

2.1 芳甲酰芳仲胺类化合物 药效团模型提示, 两个疏水性特征的质心相距约 9.7 Å, 大约是双键连接

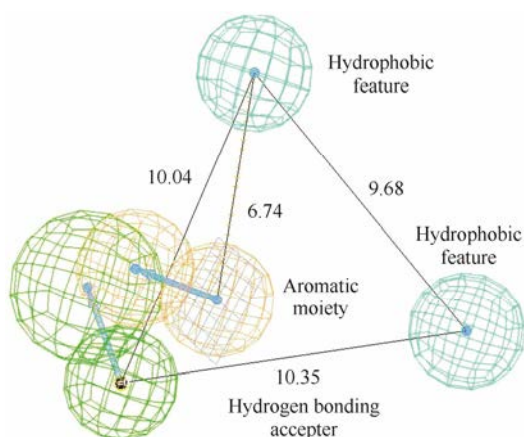


Figure 1 Pharmacophoric features of COX-2 inhibitors

的距离。酰胺键由于 $p-\pi$ 共轭使 C-N 键有双键性质, 并与相连的芳环呈共面性。另一方面, 有机结构化学已证明, 伯胺被 (芳) 酰化, 化合物的优势构象是以酰胺为平面的反式构象, 如图 2a 所示的苯甲酰苯胺的构象; 而苯甲酰-*N*-甲基苯胺的构象因位阻效应采取如图 2b 的顺式构象, 这已由 UV、NMR、分子力学计算和单晶 X-射线衍射证明 (Itai A, Toriumi Y, Saito S, et al. Preference for *cis* amide structure of *N*-acyl-*N*-methylanilines. J Am Chem Soc, 1992, 114: 10649–10650)。

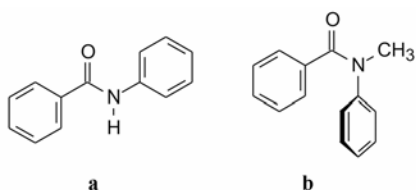
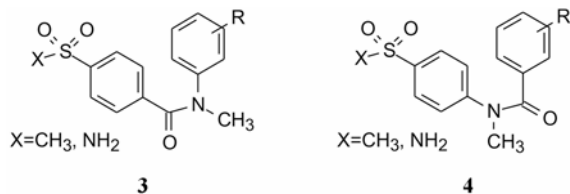


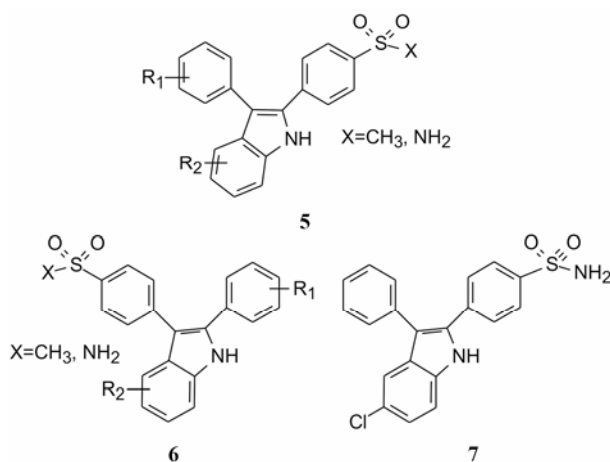
Figure 2 The conformations of *N*-benzoyl anilide (a) and *N*-benzoyl-*N*-methyl anilide (b)

为此设计合成了通式 3 和 4 化合物。3 和 4 化合物虽然保持两个芳环处于顺式构象, 但对离子 COX-2 和 COX-1 实验表明未呈现活性 ($IC_{50} > 1 \times 10^{-5} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 分析原因, 推测是以 *N*-甲基酰胺片段为连接基的分子由于顺式构象体的稳定性(即由它连接的药效团)不足以同 COX 酶保持牢固的结合, 或者该连接基极性较强不利于结合。总之这种非环状结构的连接基, 未能满足支撑药效团的空间正确分布



(Lei XS, Guo ZR, Qu LB, et al. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: design and synthesis. Chin Chem Letters, 1999, 10: 469–472)。

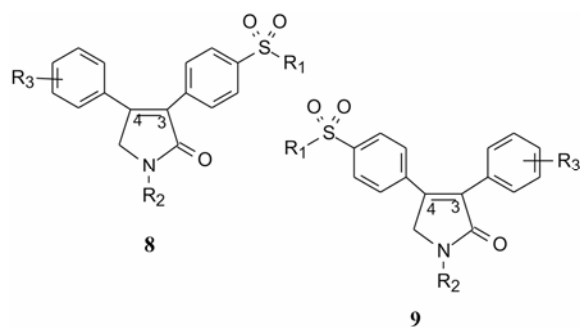
2.2 2,3-二芳基吲哚化合物 以吲哚 2,3-位为连接两个芳环的节点, 在苯环和吲哚的 5 位变换不同基团, 合成了通式 5 和 6 化合物, 评价抑制 COX-2 和 COX-1 酶活性。结果表明吲哚 2-位连接 4'-磺酰苯基的化合物的活性优于相应的 3-位连接的区域异构体, 并优化出化合物 7 具有适宜的活性和药代动力学性质, 曾作为候选化合物定名为氯吲昔布, 进入临床前研究, 并获得国家科技部 863 重大专项的基金支持。由于另一类吡咯烷酮化合物 (即艾瑞昔布系列) 进展顺利, 化合物 7 作为后续的候选物 (back-up drug) 而缓行 (Hu WH, Guo ZR, Lei XS, et al. Synthesis and biological evaluation of substituted 2-sulfonyl-phenyl-3-phenyl-indoles: a new series of selective COX-2 inhibitors. Bioorg Med Chem, 2003, 11: 1153–1160)。



2.3 吡咯烷酮类化合物 第三种骨架迁越是用不饱和和吡咯烷酮作为支架, 支撑药效团包含的特征因素。设计合成了通式 8 和 9 化合物, 变换 3 个位点 (R_1 、 R_2 和 R_3) 的原子或基团。合成的目标化合物以及抑制 COX-2 和 COX-1 等数据, 体内活性的评价结果, 以及候选化合物的选择等过程, 笔者已在 2012 年作了报道 (Guo ZR. Discovery of imrecoxib. Chin New Drugs J (中国新药杂志), 2012, 21: 223–230), 本文只简要叙述研制的要点。

3 构效关系要点和适度抑制原则

通式 8 和 9 的构效关系小结如下: ① 以塞来昔布和罗非昔布为阳性对照药, 一些目标化合物优于或不劣于对照物。② 通式 8 化合物 (3-磺酰苯基系列) 抑制 COX-2 活性大都低于罗非昔布 1 个数量级, 对



COX-1 无活性。③ 通式 9 (4-磺酰苯基系列) 对 COX-2 的抑制活性强于通式 8 大约 1 个数量级, 与罗非昔布相近, 选择性活性 ($IC_{50} \text{ COX-1}/IC_{50} \text{ COX-2}$) 在 2~30 之间。候选化合物包含于该系列中。④ 在选择性适宜的化合物中应以怎样的标准选择候选物, 成为研发的关键, 从而引出了以下的思考。

1999 年文献报道小鼠的 COX-2 基因敲除后引发心血管障碍 (McAdam BF, Catella-Lawson F, Mardini IA, et al. Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96: 272-277), 推论 COX-2 不仅是炎症组织中诱导性酶, 而且也是具有正常功能的构成性酶, 高选择性 COX-2 抑制剂在抑制炎症的同时, 也可能阻止心血管的某些功能。在生理状态下, 抑制血小板聚集和舒张血管的前列环素 (PGI_2) 和促进血小板聚集并收缩血管的血栓烷 A_2 (TXA_2) 相互对立与制约, 正常状态下呈平衡态。 PGI_2 是由 COX-2 催化花生四烯酸氧化成 PGH_2 , 后者经 PGI_2 合成酶而生成的。所以过分抑制 COX-2 会导致 PGI_2 匮乏而与 TXA_2 功能失衡, 导致持续的 TXA_2 作用引起心血管事件。因而提出 COX-2 抑制剂的适度抑制理念 (Guo ZR. Innovation of anti-inflammatory drugs — strategy of moderate inhibition of cyclooxygenases. Acta Pharm Sin (药学报), 2005, 40: 967-969), 选定中等抑制强度的抑制剂, 不追求高活性的抑制剂, 以确保抗炎作用的同时避免干扰 PGH_2 与 TXA_2 之间的平衡。

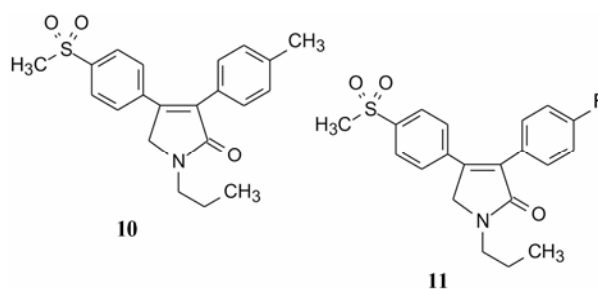
所以, 从对 COX-1 与 COX-2 的抑制程度分析, 某些 NSAID (例如吲哚美辛) 对 COX-1 抑制过强于 COX-2, 减少了保护消化道黏膜的前列腺素, 引起胃肠道溃疡 (药理学还将吲哚美辛作为诱发胃溃疡的工具药)。而若对 COX-2 抑制过强于 COX-1, 降低了 PGH_2 制约 TXA_2 的能力, 引起心血管事件。罗非昔布辉煌数年后 2004 年被迫撤市, 原因之一是对 COX-2 的过强抑制。选择适度抑制的候选物以避免发生消化

道损伤和心血管障碍的不良反应。

4 优化体内抗炎活性

基于适度抑制原则选定了 12 个化合物, 以塞来昔布作对照, 灌胃给药, 评价对角叉菜胶引起大鼠右后趾肿胀的抑制作用, 观察给药后 2、3 和 4 h 时间点的右后趾肿胀体积和与空白对照的抑制率, 从中优选出 5 个与塞来昔布活性相近的化合物。

进而评价这 5 个化合物的耐受性实验。以 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重的剂量灌胃大鼠 28 天, 观察体征、行为、摄食、体重变化和解剖后脏器的肉眼和显微镜下观察, 从中优选出两个化合物 10 和 11。



5 候选化合物的确定和艾瑞昔布上市

用雄性和雌性大鼠灌胃不同剂量的化合物 10 和 11, 比较二者的药代动力学, 结果表明化合物 10 的血浆消除半衰期、清除率、分布容积和曲线下面积等参数略优于 11。灌胃给角叉菜胶和关节炎佐剂诱发的大鼠模型, 比较 10 和 11 的抗炎作用, 还用小鼠热板和醋酸扭体模型比较二者的镇痛作用, 化合物 10 和 11 的差异不分仲伯。

综合评价 10 和 11 的药效、药代、初步安全性和物化性质, 确定了 10 为候选化合物, 定名为艾瑞昔布 (imrecoxib), 经系统的临床前研究和三期临床研究, 表明艾瑞昔布抗骨关节炎不劣于塞来昔布的治疗效果, 于 2011 年 5 月经 CFDA 批准上市。

6 小结

研发跟随性药物的核心价值, 一是特色, 二是时间。特色表现在分子的某个 (些) 属性优于 (至少不劣于) 首创药物, 艾瑞昔布以适度抑制理念, 选择抑制 COX-2 与 COX-1 作用的平衡点, 以避免“走极端”的抑制产生潜在的消化道损伤或心血管障碍。当然这种设计的理念能否成功实现, 需在临床实践 (尤其于真实世界) 中作概念验证, 因为由动物向人体的转化医学有许多未知和不确定因素。该项目的研发起步比较晚 (在首创药物 III 期临床才开始), 为确保研发速

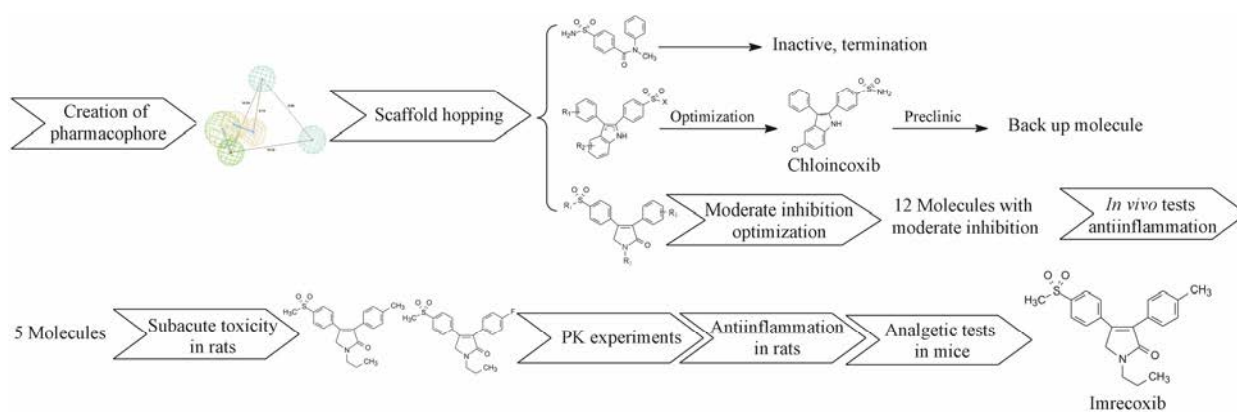


Figure 3 Scheme of investigational imrecoxib

度，不致走回头路，研究的各个环节都有充分的后备，布的简要流程图。以便将受挫过程降低到最短时程。图3是研发艾瑞昔