

• 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。

西波莫德是一跟随性创新药物,诺华公司在自己首创的芬戈莫德上市9年后推出作用于同一靶标和适应症的药物,是有针对性的再创造:消除药物对S1P₃受体脱靶的激动作用,降低了不良反应;将羧基药效团组建在结构中,避免了前药的磷酸化,因多余的电荷带来不利因素。首创性药物是从无到有,完全的创新;跟随性药物需优于或至少不劣于前驱药物,也包含有创新要素,本品是一个范例。 (编者按)

DOI:10.16438/j.0513-4870.2019-0330

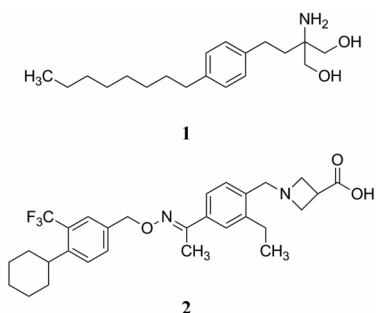
超越首创药物的西波莫德

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 研发背景

诺华在2010年研发上市的芬戈莫德(**1**, fingolimod)是作用于鞘氨醇-1-磷酸受体(S1PR)的调节剂,治疗多发性硬化病,属于首创性药物。本品西波莫德(**2**, siponimod)也是诺华研制的,在2019年上市,作用于同一靶标,适应症相同。



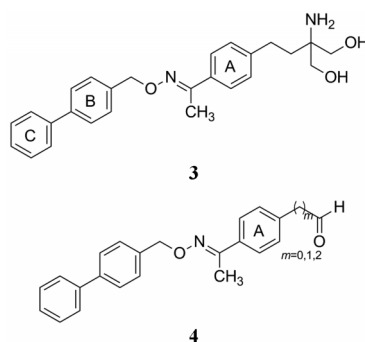
诺华在9年后推出一款跟随性药物,显然应超越前驱药物(me-better drug),公司对后续研究制定了明确的目标,主要是:① 改变芬戈莫德对S1P的泛激动作用。S1P有5种亚型S1P_{1~5},芬戈莫德对5种受体都有活性,其中对S1P₃的激动作用引起心搏徐缓,该不利的脱靶作用应予以消除;② 芬戈莫德是个前药,结构中羟基需在体内磷酸化才呈现活性,磷酸化后对S1PR₁呈现拮抗作用为免疫抑制活性,而且体内活化增加了机体的生化负担和研发成本,要求酸性基团预构在药物分子中,并对S1P₁呈激动作用;③ 在体内活化后的芬戈莫德磷酸酯分子含有两个负电荷,容易与

体内蛋白发生非特异性结合,导致半衰期过长和分布容积过大,是不利的药代性质,换作羧基不仅药代性质可得到改善,而且也实现了非前药性的结构。

2 先导化合物

活性化合物**3**是诺华对该靶标的另一个苗头化合物,分子中的极性“头部”与芬戈莫德相同,但疏水性骨架不同,为了从苗头**3**演化出先导化合物(hit-to-lead),制备了含有胺基和羧基的小型目标库(focused library),将酸性基团预构在分子之中,免除体内的活化过程,以便确定先导物。

合成的策略是制备小型目标库,用含醛基的中间体**4**与胺(氨)基酸化合物发生缩合-还原反应而成,胺基酸的模块见图1。体外活性评价是用测定受试化合物对放射性S³⁵标记(γ 位)的三磷酸鸟苷(GTP γ S35)同S1PR₁竞争性结合作用来表示(Pan SF, Mi Y, Pally C, et al. A monoselective sphingosine-1-phosphate receptor-1 agonist prevents allograft rejection in a stringent rat



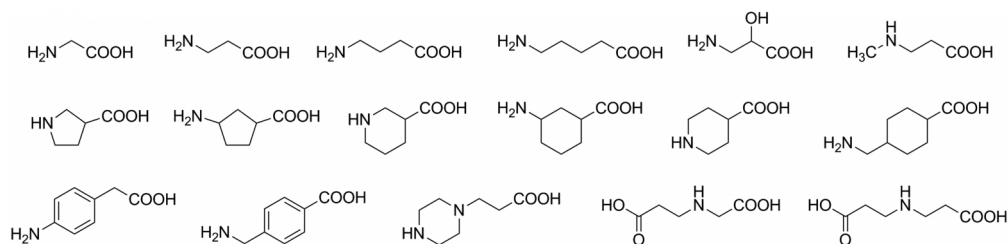
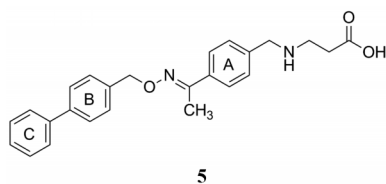


Figure 1 Building block to condense with 4 for constructing a focused library

heart transplantation model. Chem Biol, 2006, 13: 1227-1234)。

从集中库中筛选出化合物 **5** 活性最强, EC_{50} 为 $300 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 因而 **5** 作为先导化合物, 做进一步结构优化。



3 先导物的优化

3.1 联苯环 (B, C) 上的取代 考察联苯基上取代基对 $S1P_1$ 的活性影响, 合成的化合物和活性列于表 1。构效关系表明: ① B 环上 3-F (**7**) 或 3- CF_3 (**9**) 取代活性显著提高, 尤以化合物 **9** 为著。而同样基团连接在 2 位, 如化合物 **6** 和 **8** 活性显著低于无取代的 **5**, 而且 2- CF_3 的活性非常低。② C 环的 3' 或 4' 位取代对活性影响不大或降低 (**10**~**15**); 高活性的化合物 **9** 在 C 环上引入基团 (**16**~**19**) 对活性影响不大, 与 **9** 的活性相近。

上述的构效关系可用分子模拟作诠释。图 2 是化合物 **5** 对接 $S1P_1$ 的三维投影图。 $S1P_1$ 的结合腔是由带电荷的入口和底部封闭的疏水腔构成。**5** 的羧基负离子与 Lys34 和 Arg120 正电荷形成盐键 (碱性基团成盐), 还与 Tyr29 发生氢键作用。**5** 的胺基呈正离子状

态, 与 Glu121 的羧基负离子形成盐键。联苯基进入底部的疏水腔中。从构效关系分析, 环上有 3-F 取代时可增加疏水相互作用, 因而 **7** 的活性比 **5** 强。3- CF_3 还与 Leu276 和 Leu272 亲脂性基团发生强力疏水性结合, 因而化合物 **9** 的活性甚强于 **5**。然而 F 或 CF_3 在 2 位的化合物 **6** 和 **8** 却因位阻效应而使活性下降。苯环 C 与 B 几乎呈垂直取向, 处在疏水腔的底部。

3.2 联苯 C 环的变换 基于上述的 C 环上取代基对活性影响不大的事实, 索性更换 C 苯环, 例如用杂环或脂肪环替换, 探索对活性的影响, 合成的化合物列于表 2。结果表明, 咪唑 (**20**) 和噻吩 (**21**) 化合物的活性与 **9** 相近, 而环戊基 (**22**) 和环己基 (**23**) 的活性显著增强, 是 **9** 的大约 10 倍, 而且对 $S1P_3$ 受体的作用很小, 说明脂环的替换物对 $S1P_1$ 受体的选择性较高。因而将环己基作为优化片段固定为分子的疏水末端。

3.3 变换极性端的化合物 至此, 已经对疏水的两个环片段进行了优化, 下一步主要优化分子另一端的极性基团, 顺便考察苯环 B 上取代基对活性的影响, 为此合成了化合物 **2** 和 **24**~**34**, 其结构、活性和选择性列于表 3 中。

分析构效关系如下: ① 苯环 A 变换为吡啶或噻吩的化合物 (**24**~**26**) 对 $S1P_1$ 受体的活性稍有下降, 并保持对 $S1P_3$ 低活性, 所以没有降低选择性作用。② 换成咪唑环 (**27**) 的活性显著降低, 推测是咪唑环体积小 (噻吩与苯环相近), 增大了极性头部与疏水尾部之

Table 1 $S1P_1$ potencies of the compounds with different biphenyl substituents

Compd.	R ₁	R ₂	$EC_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Compd.	R ₁	R ₂	$EC_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
5	H	H	0.3	13	H	2'-OCH ₃	1.4
6	2-F	H	0.12	14	H	4'-CF ₃	10
7	3-F	H	0.061	15	H	2'-CF ₃	1.7
8	2-CF ₃	H	10	16	3-CF ₃	2'-F	0.008
9	3-CF ₃	H	0.009	17	3-CF ₃	4'-F	0.011
10	H	4'-F	0.21	18	3-CF ₃	4'-CH ₃	0.094
11	H	4'-CH ₃	0.65	19	3-CF ₃	3'-F4'-F	0.916
12	H	4'-OCH ₃	1.5				

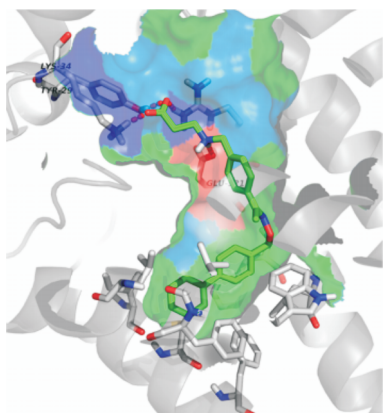
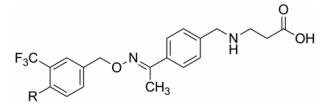


Figure 2 Binding mode of compound **5** in S1P₁. The electrostatic surface is color coded: blue is positively charged, red is negatively charged, and green is hydrophobic

Table 2 Activity of the compounds with varied terminal rings



Compd.	R	EC ₅₀ /μmol·L ⁻¹	
		S1P ₁	S1P ₃
9	Phenyl	0.009	–
20	2-Furanyl	0.015	3.0
21	2-Thienyl	0.028	5.9
22	Cyclopentyl	0.0006	1.6
23	Cyclohexyl	0.0003	1.5

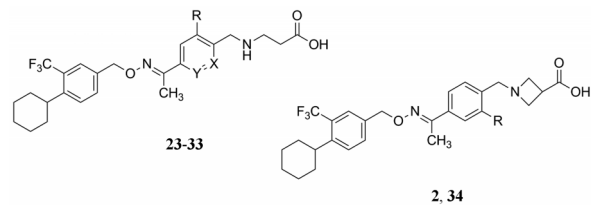
间的两面角所致。③ 化合物**28**~**33**是在末端苯环引入卤素或小尺寸烷基,对S1P₁的活性没有显著影响,其中**31**和**32**是甲基或乙基取代的化合物,对S1P₃的活性更弱,对提高选择性是有利的基团。

氮杂环丁烷甲酸可视为β-丙氨酸的构象限制物(在α-C和N之间连接CH₂),**34**和**2**的活性较强,尤其是**2**对S1P₁的活性甚强,选择性也很高,是最佳优化的化合物(Pan SF, Gray NS, Gao WQ, et al. Discovery of BAF312 (siponimod), a potent and selective S1P receptor modulator. ACS Med Chem Lett, 2013, 4: 333-337)。

4 候选化合物的确定和西波莫德的上市

综合高质量的化合物活性、选择性和成药性等性质,确定了化合物**2**为初步的候选物,深入评价了其他生物学性质,如体外用Caco-2细胞评价**2**的过膜性质,表明有良好的被动吸收性,而且在0.5~50 μmol·L⁻¹浓度范围内未显示有主动外排作用。用多种动物和人的

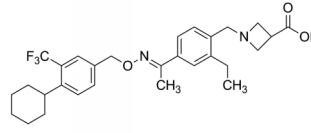
Table 3 Structures and activity of the compounds with varied polar head groups



Compd.	R	X=Y	EC ₅₀ /nmol·L ⁻¹	
			S1P ₁	S1P ₃
23	H	CH=CH	0.3	1 500
24	H	N=CH	2.6	4 300
25	H	CH=N	1.4	2 600
26	H	S	2.2	4 000
27	H	O	17	2 500
28	F	CH=CH	0.3	2 200
29	Cl	CH=CH	0.6	1 900
30	Br	CH=CH	0.4	1 100
31	CH ₃	CH=CH	2.0	5 900
32	CH ₃ CH ₂	CH=CH	0.7	7 200
33	◻	CH=CH	0.4	1 300
34	CH ₃	–	1.6	3 200
2	CH ₃ CH ₂	–	0.4	5 000

肝微粒体试验代谢作用,表明有较低或中等程度的代谢转化。体内大鼠和犬的绝对生物利用度分别为50%和71%,提示胃肠道有较好的吸收性,而首过效应较低。表4列出了**2**的主要药代动力学参数。

Table 4 *In vivo* pharmacokinetics in preclinical species



Animal	CL/L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	V _{ss} /L·kg ⁻¹	t _{1/2} /h	F/%
Rat	0.36	2.15	6	50
Monkey	0.098	2.12	15	71

体内药效学 and 安全性实验表明**2**对动物呈现安全有效性,遂即进入开发阶段,定名为西波莫德(siponimod),经III期临床研究证明是治疗继发性进展型多发性硬化症的有效药物。于2019年经FDA批准上市(Selmaj K, Li DK, Hartung HP, et al. Siponimod for patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (BOLD): an adaptive, dose-ranging, randomised, phase 2 study. Lancet Neurol, 2013, 12: 756-767)。