

• 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。

阿地溴铵是治疗慢性阻塞性肺病的药物, 属于跟随性创新药物, 其跟随性之成功在于它的某(些)属性优于已上市的药物。本品在消除不良反应和作用的持续性上优于先行药物。从药物化学视角分析研发路径, 阿地溴铵采用了拼合策略, 借鉴了噻托溴铵的二噻吩羧乙酸的骨架和未能成药的瑞伐托酯结构模块, 但又创造性地设计了芳氧丙基的季铵链, 消除了全身性的不良反应, 而且分子兼有代谢不稳定性和化学稳定性, 这两方面都是有利的品质。

(编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0953

跟随性药物阿地溴铵的研制

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)

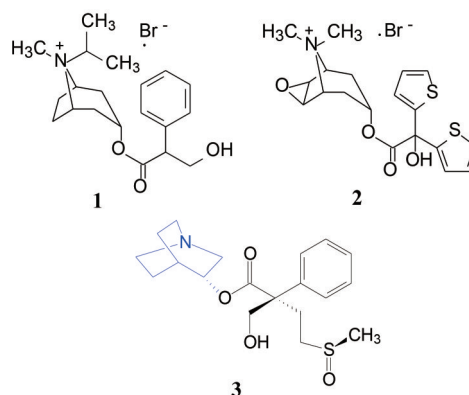
1 研发背景

慢性阻塞性肺病(简称慢阻肺, COPD)是气道发生阻塞导致呼吸困难, 并且持续性地不可逆恶化, 即使使用支气管扩张药, 也难以有逆转的治疗效果。当今以对症治疗为主要手段。由于乙酰胆碱可引起气道平滑肌收缩和变窄, 因而抑制胆碱能受体成为治疗慢阻肺的途径。

人体气道平滑肌细胞表达的毒蕈碱样胆碱能受体有3种: M1、M2和M3, 其中M3是主要的受体亚型, 支配气道的收缩作用。M2受体位于胆碱能神经末梢, 其作用是对神经分泌的乙酰胆碱进行负反馈调节。M1位于气道的副交感神经节处, 促进神经节的神经传导。

吸入式的抗胆碱能药物是现今缓解慢阻肺发展的主要手段。阿斯利康在研发新的慢阻肺治疗药时, 已有异丙托溴铵(**1**, ipratropium bromide)和噻托溴铵(**2**, tiotropium bromide), 分别于1986和2004年上市(Price D, Sharma A, Cerasoli F. Biochemical properties, pharmacokinetics and pharmacological response of tiotropium in chronic obstructive pulmonary disease patients. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2009, 5: 417–424), **1**和**2**结构中都含有托品烷环, 为季铵盐类药物。另一个瑞伐托酯(**3**, revatropate)是曾经作为临床研究的候选物, 由于作用持续时间短而被中止, 结构中含有喹核碱, 非季铵盐(Rzeszotarski WJ, McPherson DW, Ferkany JW, et al. Affinity and selectivity of the optical isomers of

3-quinuclidinyl benzilate and related muscarinic antagonists. J Med Chem, 1988, 31: 1463–1466)。瑞伐托酯为阿斯利康的研发提供了结构模块。



研发者的目标是消除全身性的不良反应(例如口干、青光眼、便秘、心率加快和尿潴留等), 持续性扩张气道的治疗慢阻肺新药。

2 活性评价

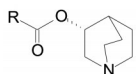
离体实验评价受试物体外与受体的结合强度, 是用转染于中国仓鼠卵巢K1细胞膜上的M1、M2和M3受体作为实验材料, 加入定量的 $[^3\text{H}]$ -标记的N-甲基东莨菪碱, 测定不同浓度的受试物取代放射性配体量, 计算受试物的半数有效浓度(IC_{50})。在体实验评价受试物体内的作用持续时间, 是将麻醉豚鼠用乙酰胆碱诱发气管痉挛, 测定受试物解除痉挛作用的时间。

3 研发路径和内容

3.1 研发策略 该项目属于跟随性创新药物, 靶标也是乙酰胆碱M受体, 目标物设定为更少不良反应和足够的持续作用时间, 以超越既有的上市药物。研发者避开了季铵盐型的莨菪烷母核, 而选用了喹核碱母核, 从最终成功的药物结构分析, 是应用了拼合策略, 将2的二噻唑环与3的喹核碱融合到分子结构中, 而在结构的季铵化上有别于已上市的药物。然而研究路径并非一蹴而就, 而是对药效团特征进行了广泛的探索。

3.2 以3R-羟基喹核碱酯为母核变换疏水片段 用不同的羧酸酯化3R-羟基喹核碱, 例如用稠合环羧酸(4~6)和二芳基乙酸形成酯, 评价对M受体3个亚型的活性, 结构与活性列于表1。结果表明, 除了化合物5的活性显著较弱外, 其余的活性都较强, 但对M3受体亚型选择性不高。其中活性最强的是二噻吩乙酸酯7。构效关系提示芳基的性质和手性碳的构型对活性强度和选择性没有显著影响。

Table 1 Effect of R group on M1, M2 and M3 receptor binding affinity for 3R-quinilidingol esters



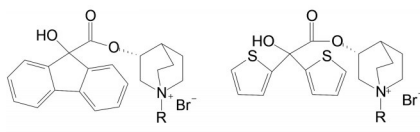
Compd.	R	Binding affinity $IC_{50}/nmol \cdot L^{-1}$		
		M3	M2	M1
4		0.76	2.83	0.31
5		94	79	15
6		0.92	1.14	0.26
7		0.23	0.26	0.20
8		0.90	0.40	0.36
9		0.31	0.21	0.20
10		0.42	0.26	0.23
11		0.39	0.23	0.19
12		0.70	0.54	0.24
1	Ipratropium bromide	2.07	2.24	2.65
2	Tioproprrium bromide	0.35	0.21	0.22

3.3 季铵化的构效关系 上述的叔胺化合物呈现活性, 应是以质子化的阳离子形式与M受体结合的。下一步是用不同的溴代烷作N-烷基化, 考察不同的季铵盐对活性的影响。以稠合环酸酯6和二噻吩乙酸酯7

为模板, 合成的化合物列于表2。结果提示, 稠合环的季铵盐化合物15(N-苯氧丙基取代)和二噻吩的季铵盐活性都很高, 特别是N-苯乙基(19)和N-苯氧丙基(21)取代的化合物呈现较高的活性。

评价这些化合物在体内的作用持续时间表明, 作用时间 $t = 3.4$ h的化合物6制成季铵盐13~15的作用时间 $t > 6$ h, 达到噻托溴铵的水平。16~21的持续时间也都大于6 h, 说明成季铵盐后的化合物体内抑制M受体的时间都维持在较长的水平。

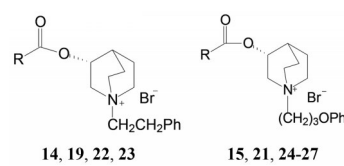
Table 2 Effect of R group on M1, M2 and M3 receptor binding affinity and *in vivo* duration of action for quaternized 3R-quinilidingol esters



Compd.	R	Binding affinity $IC_{50}/nmol \cdot L^{-1}$			Duration of action <i>t</i> /h
		M3	M2	M1	
13	$CH_3(CH_2)_6$	1.68	4.50	0.26	>6
14	$Ph(CH_2)_2$	1.04	2.24	1.12	>6
15	$PhO(CH_2)_3$	0.71	1.08	0.63	>6
16	CH_3	0.60	0.46	0.43	>6
17	$Ph(CH_2)_2$	0.39	0.36	0.43	>6
18	$PhCH_2$	200	12	100	Not test
19	$Ph(CH_2)_2$	0.20	0.18	0.14	>6
20	$Ph(CH_2)_4$	0.45	0.38	0.29	>6
21	$PhO(CH_2)_3$	0.17	0.17	0.14	>6
1	Ipratropium bromide	2.07	2.24	2.65	3.4
2	Tioproprrium bromide	0.35	0.21	0.22	>6

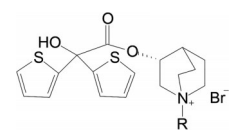
3.4 对选择性抑制M3受体的优化 M3受体是收缩气管平滑肌的主要靶标, 对M3的选择性持久抑制作用应是治疗慢阻肺的主要目标。故进而选取了N-苯乙基和N-苯氧丙基的季铵链, 合成了多种母核的化合物, 结构和活性列于表3中。可以看出所有的季铵化合物对M3受体都呈现强效(体外)和持久性(体内)抑制, IC_{50} 值在0.14~1.12 $nmol \cdot L^{-1}$, 作用持续时间都大于6 h, 其中化合物19、21和26的活性最高, 宜做进一步研究。

3.5 评价高活性化合物的体内性质 研发治疗慢阻肺药物的目标是喷雾给药以局部扩张气道, 以尽量避免全身性的不良反应。为此, 对上述的高活性化合物19、21和26评价体内的安全性和血浆中稳定性, 以期药物最好不被吸收入血液循环, 或在血浆中能够迅速消除, 避免不良反应。表4列出了体内外的有关参数。化合物21不但体外受体亲和活性高于上市药物噻托

Table 3 Effect of R group on M3 receptor binding affinity and *in vivo* duration of action for quaternized 3*R*-quinilidingol esters


Compd.	R	Binding affinity			Duration of action t/h
		IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹			
		M3	M2	M1	
14		1.04	2.24	1.12	>6
15		0.71	1.08	0.63	>6
19		0.20	0.18	0.14	>6
21		0.17	0.17	0.14	>6
22		0.31	1.82	0.44	>6
23		0.28	0.54	0.29	>6
24		0.42	0.36	0.23	>6
25		0.61	0.44	0.31	>6
26		0.18	0.14	0.15	>6
27		1.62	1.01	0.81	>6
1	Ipratropium bromide	2.07	2.24	2.65	3.4
2	Tiopropium bromide	0.35	0.21	0.22	>6

溴铵和异丙托溴铵,而且小鼠腹腔注射后未呈现瞳孔散大,预示避免了全身性不良反应,而其他化合物都使瞳孔放大。这与在人血浆中的消失速率和很短的半衰期相吻合:给药 15 min 内 **21** 的 99% 的给药量被清除,血浆消除半衰期为 2 min。此外,尽管 **21** 的消除半衰期很短,但化学稳定性很好。

Table 5 Effect of *N*-substitution on *in vitro* activity and human plasma stability of compound **7** derivatives


Compd.	R	M3 IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹	Human plasma stability			t _{1/2} /min
			Disappearance/%			
			5 min	15 min	60 min	
7	None	0.23	Not test	14	53	54.5
16	CH ₃	0.60	51	94	Not test	3.6
19	Ph(CH ₂) ₂	0.20	Not test	68	99	7.9
21	PhO(CH ₂) ₃	0.17	78	99	Not test	2.2
1	Ipratropium bromide	2.07	Not test	<5	<5	>60
2	Tiopropium bromide	0.35	Not test	5	35	>60

Table 4 *In vitro* and *in vivo* characterization of selected compounds

Compd.	<i>In vivo</i> IC ₅₀ /μg·mL ⁻¹	Side effect 30 mg·kg ⁻¹ ip	Disappearance (15 min)/%	Plasma t _{1/2} /min	Chem stability /min
19	54	Mydriasis	68	7.9	56
21	140	None	99	2.2	60
26	120	Mydriasis	<5	>60	>60
1	45	Mydriasis	5	>60	>60
2	68	Mydriasis	<5	>60	>60

3.6 二噻吩季铵盐系列的活性和血浆清除率的比较 二噻吩系列用不同的烷基或芳烷基季铵化,生成的化合物对 M3 受体的抑制活性都很高,其中仍是 *N*-苯氧丙基取代活性最强,而且在人血浆中迅速消除,消除半衰期 t_{1/2} 只有 2 min,提示 **21** 是优选的化合物(表 5)。

3.7 *N*-苯氧丙基季铵化合物的再检讨 新药创制是个性化的分子操作,当固定 A 位置的基团优化得到 B 位置的最佳片段,在变化 A 基团时,B 处优化的基团未必仍是最佳状态。所以,为了证明 **21** 是最优化的分子,进一步制备了不同母核的 *N*-苯氧丙基季铵盐化合物,评价抑制 M3 受体的活性强度和在人血浆中的稳定性,表 6 列出了化合物的结构和生物学参数。

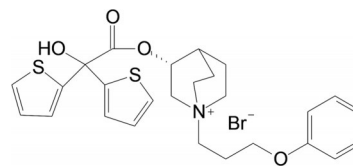
结果表明,含有 2,2-二噻吩环的化合物 **21** 仍是高活性和在血浆中迅速消除的化合物,缺少羟基的化合物虽然含有一个噻吩环的化合物(如 **26** 和 **33**)活性与 **21** 相同,但血浆中的消除速率较慢。更重要的是作为多手性中心的分子,增加了研发的复杂性。

4 候选化合物的确定和阿地溴铵的上市

综合比较具有高活性和长持续作用性以及低不良反应的化合物,确定化合物 **21** 为候选物,定名为阿地溴铵(acclidinium bromide),经 III 期临床研究表明,阿地溴铵是治疗慢性阻塞性肺病的治疗药物,喷雾给药后的作用持续时间与已上市的药物相似,而不良反应显著降低,于 2012 年经美国 FDA 批准上市(Prat M, Fer-

nandez D, Buil MA, et al. Discovery of novel quaternary ammonium derivatives of (3*R*)-quinuclidinol esters as potent and long-acting muscarinic antagonists with potential for minimal systemic exposure after inhaled administration: identification of (3*R*)-3- {[hydroxy(di-2-thienyl)acetyl]oxy} -1- (3-phenoxypropyl) -1-azoniabicyclo[2, 2, 2]octane bromide (aclidinium bromide). *J Med*

Chem, 2009, 52: 5076–5092。



Acclidinium bromide

Table 6 Effect of R substitution on the *in vitro* activity and human plasma stability of compound **21** derivatives

Compd.	R	M3 IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹	Human plasma stability			t _{1/2} /min
			Disappearance/%			
			5 min	15 min	60 min	
21		0.17	78	99	Not test	2.2
24		0.23	Not test	6	30	>60
15		0.63	Not test	68	98	10.9
28		0.28	Not test	<5	<5	>60
29		1.26	Not test	15	29	>60
30		0.34	100	100	Not test	0.6
31		0.23	Not test	50	71	15.2
32		0.60	Not test	32	82	23.9
25		0.31	Not test	25	39	>60
33		0.16	Not test	26	79	26.5
34		0.38	Not test	78	99	8.9
26		0.15	Not test	<5	<5	>60
27		0.81	Not test	11	10	>60
1	Ipratropium bromide	2.07	Not test	<5	<5	>60
2	Tiopropium bromide	0.35	Not test	5	35	>60