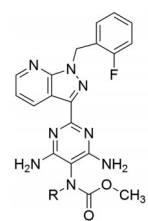





量 ≥ 3 倍空白组量的最低有效浓度 (MEC); 评价化合物的代谢稳定性采用大鼠肝细胞体外测定对化合物的清除率 (CL), 结果列于表 1。代表性化合物的构效关系如下: ① 增大烷基成乙基 (**3**) 以加大位阻, 活性和稳定性都没有改善。② 增加极性以降低氧化代谢, 羟乙基化合物 **4** 的活性和稳定性都降低了。③ 二和三氟乙基 (**5**、**6**) 的活性较好, 但代谢稳定性降低了 2~4.5 倍。提示末端引入氟原子不能提高稳定性。④ 2'-氟代苄基化合物 **7** 的活性高于 3'-和 4'-F 化合物 **8** 和 **9**, 但弱于 **1**, 而且稳定性也较差。

虽然合成了更多的 *N*-取代物 (未列出数据), 但活性与稳定性都得不到同时的改善, 因而改变了优化位置。

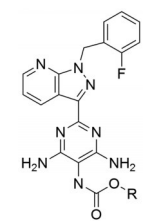
Table 1 Structure and properties of *N*-substituted cabamates






Compd.	R	cGMP formation MEC/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Clog <i>D</i> pH 7.5	CL (rat hepatocytes) / $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$
1	CH ₃	0.03	1.99	0.2
3	CH ₂ CH ₃	0.2	2.29	0.7
4	CH ₂ CH ₂ OH	0.3	1.52	3.7
5	CH ₂ CHF ₂	0.1	2.21	0.4
6	CH ₂ CF ₃	0.1	2.48	0.9
7		0.1	3.15	3.2
8		0.2	3.20	3.2
9		0.7	3.29	2.4

3.2 酯基的变换 *N*-去甲基利奥西呱 **2** 激动 sGC 酶的体外活性虽然低于 **1** 大约 10 倍, 但 **2** 的体外肝温孵的稳定性高于 **1** (CL = 0.1 L·h⁻¹·kg⁻¹), 大鼠体内给药的清除率 CL = 0.2 L·h⁻¹·kg⁻¹, 半衰期 *t*_{1/2} 为 1.2 h, 因而通过变换酯基考察是否能够保持活性且提高稳定性。表 2 的化合物构效关系简述如下: ① 甲基换成异丙基, 化合物 **10** 活性和稳定性都降低, 提示大基团酯是不利的。② 环丁醇酯 **11** 的活性强于 **2**, 但稳定性降低。③ 氧杂环丁醇酯 **12** 的代谢稳定性显著提高, 氧杂环丁基也在其他药物范例中表明有利于代谢稳定性 (Wuitschik G, Carreira EM, Wagner B, et al. Oxetanes in drug discovery structural and synthetic insights. *J Med Chem*, 2010, 53: 3227-3246)。然而 **12** 的活性却低于环丁醇酯 10 倍。这或许是因为增加了极性, 降低了进入 Caco-2 膜能力, *P*_{app} A-B = 2 nm·s⁻¹, 外排比值高达 74。④ 三氟乙基 (**13**)

Table 2 Structure and properties of alkyl cabamates



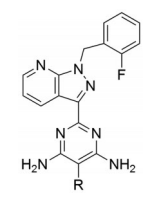
Compd.	R	cGMP formation MEC/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Clog <i>D</i> pH 7.5	CL (rat hepatocytes) / $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	Caco-2, <i>P</i> _{app} A-B /nm·s ⁻¹ , (efflux ratio)
2	CH ₃	0.3	1.49	0.1	79 (5)
10	CH(CH ₃) ₂	0.8	2.10	0.9	Not test
11		0.2	2.05	1.4	23 (25)
12		2.3	1.21	0.1	2 (74)
13	CH ₂ CF ₃	0.2	2.05	2.1	Not test
14		0.2	2.09	1.4	Not test

和环丙甲基 (**14**) 的活性虽然较高但代谢稳定性差。

另一种策略是将胺基甲酸酯换成环状物, 即噁唑烷酮片段, 代表性化合物 (表 3) 的构效关系表明, 化合物 **15** 的活性与 **2** 相同, 但代谢稳定性有所降低, 静脉注射大鼠体内的清除率 CL = 1.9 L·h⁻¹·kg⁻¹, 血浆半衰期 *F* = 1 h, 未达到长效目标。 **16**~**18** 是在环上引入基团以增加位阻, 提高稳定性, 但未能如愿, 可能是亲脂性过强促进了氧化代谢。

3.3 稠合环的变换 至此, 噁唑啉片段的结构变换确定了 NH-型的胺基甲酸甲酯不宜改变, 为优化侧链, 下一步是考察吡唑并吡啶稠合环的变换对活性和稳定性的影响。表 4 列出代表性化合物结构和活性与稳定性。

Table 3 Structure and properties of compounds with oxalidione fragments







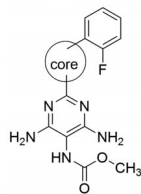
Compd.	R	cGMP formation MEC/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Clog <i>D</i> pH 7.5	CL (rat hepatocytes) / $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$
15		0.3	1.6	0.4
16		0.2	2.29	1.3
17		0.3	2.25	Not test
18		0.03	2.25	1.6

Table 4 Structure and properties of compounds with varied heterocyclic linkers

Compd.	Core	cGMP formation MEC/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	CL (rat hepatocytes) $/\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	CL (<i>in vivo</i> , rat) $/\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$
19		1.2	< 0.1	1.0
20		0.5	0.1	0.3
21		2.0	< 0.1	3.8
22		1.7	Not test	1.8
23		0.7	< 0.1	0.9
24		0.3	0.1	0.3

化合物**19**是**2**的区域异构体,在于吡啶与吡啶的拼合位置不同,**19**的合成比较容易,对cGC酶的激动活性虽然比**2**弱,但体内外的代谢稳定性显著提高。进而在**19**的吡啶环上作6-氟代,化合物**20**活性和稳定性都提高了,尤其是大鼠体内的清除率显著降低。氟元素增加了体内稳定性的原因尚不清楚,因为吡啶环并非代谢位点。

化合物**21**的连接杂环是吡啶并咪唑,**22**是咪唑并咪唑,活性和稳定性都差强人意。而另一种咪唑并咪唑化合物**23**的活性和稳定性却显著提高,大鼠体内清除率也很低($\text{CL} = 0.9 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$)。

前述由**19**到**20**稳定性提高的原因是氟原子的引入,联想到高活性/低稳定性的化合物**2**,在化合物**2**的

吡啶环上引入5-氟,化合物**24**确实保持了高活性,而且大鼠体内的稳定性提高了4倍。

4 候选化合物和维利西呱上市

用大鼠和犬对高活性/高稳定性的化合物评价体内药代动力学行为,并与利奥西呱(**1**)作比较,结果(表5)表明,化合物**24**体内的清除率最低,血浆半衰期长,口服生物利用度最高。

Table 5 *In vivo* pharmacokinetic properties of active compounds in comparison with **1**

Compd.	Species	V_{ss} $/\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$	CL $/\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	$t_{1/2}$	Bioavailability
					F/%
20	Rat	0.5	0.3	1.5	26
	Dog	1.0	0.2	4.1	56
23	Rat	0.3	0.9	0.5	37
	Dog	2.0	0.9	1.8	Not test
24	Rat	1.0	0.3	3.4	65
	Dog	1.4	0.2	6.2	75
1	Rat	1.2	0.3	1.4	46
	Dog	0.7	3.0	2.4	79

进而评价了**24**对多种细胞色素P450的作用,在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6和3A4都没有抑制作用。与人肝温孵的主要代谢产物是葡萄糖醛酸化产物**25**,次要代谢物是去苄基化合物**26** (Follmann M, Ackerstaff J, Redlich G, et al. Discovery of the soluble guanylate cyclase stimulator vericiguat (BAY 1021189) for the treatment of chronic heart failure. *J Med Chem*, 2017, 60: 5146–5161)。

实验动物的药效学研究表明,**24**对肺动脉高压模型有效,直接舒张血管特性以及靶向心肌的顺应性、舒张功能、内皮功能以改善血管调节、心室-动脉等特性改善血流动力学,逆转右心室增大和减轻肺动脉的重塑作用。定名为维利西呱(vericiguat)进入开发阶段,经系统的临床前和临床研究,表明可经口服(每日一次)治疗心衰恶化后症状性慢性射血分数下降的心力衰竭(HFrEF)患者,是有效的药物,于2021年1月FDA批准上市。所以维利西呱提升了利奥西呱的药动学性质,成为治疗心衰的新药。

