

• 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。

本刊在2020年2月发表了瑞德西韦的案例,当时处于疫情暴发初期,由同情用药进行了III期临床研究,实属应急之需。结果表明,瑞德西韦对防治新冠肺炎的效果并不理想,本品Paxlovid是FDA批准的第一个治疗COVID-19感染的药剂,Paxlovid是由首创药物尼马曲韦和已上市的药物利托那韦的复方药,尼马曲韦是辉瑞公司用不到两年时间创制出针对COVID-19的特异性靶标SARS-CoV-2 3C^{pro}蛋白酶的抑制剂,得益于十多年前研制SARS药物积累的成果和经验,针对新冠病毒的特征量体裁衣式地演化出全新作用机制的口服药物,并与小剂量的CYP450抑制剂利托那韦配伍,提高了治疗效果。丰富的研发经验和娴熟的技术运用,得以在短时间内创制出全球亟需的口服用药。(编者按)

DOI:10.16438/j.0513-4870.2022-0011

尼马曲韦的研制和首创的抗COVID-19药物

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 引言

1.1 SARS CoV-1 和 SARS CoV-2 2020年开始的全球性呼吸道传染病,病原体为冠状病毒。基因组分析表明,该病毒与2002~2003年流行的严重急性呼吸综合征(SARS)病原体SARS CoV-1的基因有高度的相似,称作SARS CoV-2。SARS CoV-1和SARS CoV-2基因组编码都有两个多聚蛋白(PP1a和PP1ab)和4个结构蛋白,含有3C样的半胱氨酸蛋白酶(3C^{pro}),3C^{pro}催化裂解PP1a和PP1ab成较短的功能性蛋白,后者对病毒复制至关重要。所以,抑制3C^{pro}功能成为研制抗SARS CoV-1/2的靶标。由于SARS CoV-1和SARS CoV-2的3C^{pro}活性中心的构成相同,因而辉瑞公司研制抗SARS CoV-2药物沿用了当初研究SARS CoV-1抑制剂的积累和技术。

1.2 3C^{pro}蛋白酶活性中心的特征 所有冠状病毒的3C^{pro}活性部位具有高度保守性,与底物结合是由4个位点构成:S₁、S₂、S₁'和S₂',如图1所示。酶的剪切位点是S₁'处的Cys145的肽键。半胱氨酸的巯基具有较强的亲核性,可作为研制3C^{pro}抑制剂的把手,与具有适度亲电性基团的抑制剂作共价结合,项目的研究依此作为出发点(Dai WH, Zhang B, Jiang XM, et al. Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. Science, 2020, 368: 1331-1335)。

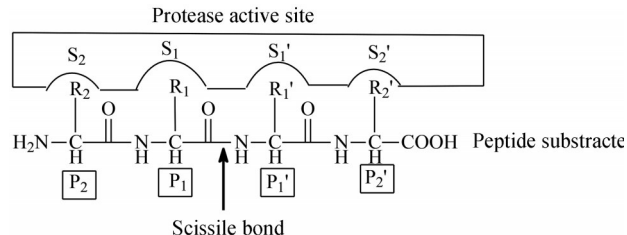


Figure 1 Subsite nomenclature for proteolytic enzymes is shown. Amino acid residues to the left of the polypeptide scissile amide bond are numbered sequentially, beginning with P1 and increasing toward the N-terminus. Amino acid residues to the right of the scissile bond are numbered sequentially, beginning with P1' and increasing toward the C-terminus. Complimentary regions of the protease active site employ the corresponding S numbering

1.3 与巯基发生共价结合的基团和片段 与巯基生成可逆(或不可逆)共价结合的基团或片段有醛基、硫代或氧甲基酮、酰胺基甲基酮、氰基以及1,2-二羰基结构等,共价结合的牢固性取决于这些基团所处的化学环境。图2是与巯基作共价结合的常用基团。

2 先导物的产生

2003年暴发SARS疫情,辉瑞为研究SARS CoV-1 3C^{pro}抑制剂,借鉴了1997年默克研制的对人鼻病毒(HRV) 3C^{pro}有选择性不可逆抑制作用的芦平曲韦(1, rupintrivir, 未上市),分析1与另一种冠状病毒传染性

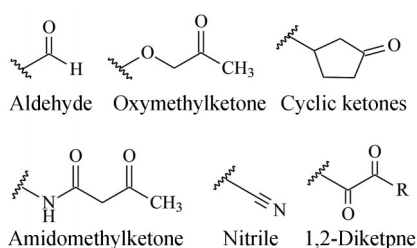


Figure 2 Typical weak electrophilic groups

胃肠炎病毒 (TGEV) 的 3C^{pro} 复合物的晶体结构, 用来同源建模 SARS CoV-1 3C^{pro} 蛋白酶器的三维结构。虽然 SARS CoV-1 3C^{pro} 与 HRV-3C^{pro} 的同源性较低, 但两个底物蛋白的序列有共性。推论 **1** 有可能成为设计 SARS CoV-1 3C^{pro} 抑制剂的起始物, 然而实验结果表明芦平曲韦对 SARS CoV-1 3C^{pro} 蛋白酶活性很低, 需要进行较大的结构改造。为此, 保留了 **1** 中的迈克尔亲电基团, 将对应于 S1 和 S1' 的 P1 和 P1' 结构部分加以变换, 对应于 S2 和 S2' 的 P2 和 P2' 作较大的结构删除以降低分子尺寸, 经构效关系分析得到了活性化合物 **2** (代号 PF-00835231), 是具有中等强度的不可逆抑制剂 [$k_{\text{obs}}/I = 586 \text{ (mol}\cdot\text{L}^{-1})^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$]。图 3 是化合物 **2** 与 SARS CoV-13C^{pro} 复合物晶体结构图 (Anand K, Ziebuhr J, Wadhvani P, et al. Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: basis for design of anti-SARS drugs. *Science*, 2003, 300: 1763-1767)。

分析图 3 的结合信息, P2' 域甲氧基咪唑 (帽基) 结合于 S2', 环上 NH 与酶的 Glu189 形成氢键结合; P1 处的内酰胺环替换底物谷氨酰胺环仍能很好地适配于 S1 腔穴。迈克尔基团 (丙烯酸乙酯) 与巯基发生加成反应, 生成的两个 sp³ 杂化的 α, β -碳原子呈重叠式构象, 这种较高能量的构象对活性不利。羰基氧的孤电子对与 3C^{pro} 蛋白氧阴离子穴的氢键给体之间的空间排布未成 180° (不利于氢键结合), 而且其他一些氢键键长明显超过最适的 2.8 Å, 这些都需要进一步提高。

下面叙述的是对 SARS CoV-1 3C^{pro} 靶标活性的结构优化, 虽然优化出高活性的候选物, 因 SARS 疫情结束而未作临床研究, 却为 2020 年 COVID-19 的流行, 研制针对 SARS CoV-2 3C^{pro} 靶标的药物打下了坚实的基础。

3 先导物的优化

以化合物 **2** 作为先导物继续优化对 SARS CoV-1 3C^{pro} 的抑制作用, 变换结构考虑两个方面, 一是不同的迈克尔亲电基团的反应性能, 另一是分子结构对酶的亲和力, 二者良好的匹配是兼具高活性和高选择性的保障。

首先是变换迈克尔基团, 由于 Cys145 是蛋白剪切的位点, 裂解过程的过渡态形成碳四面体结构, 为模拟过渡态的结构特征, 选择用 *O*-酰化羟甲基酮作为亲电基

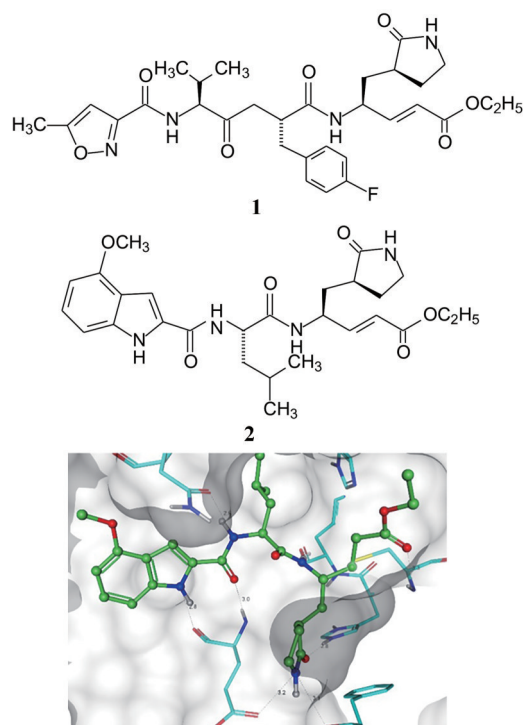


Figure 3 Co-crystallography of SARS-CoV-1 3C^{pro} with compound **2** (PF-00835231)

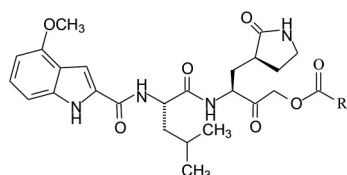
团, 羰基和酰氧基的拉电子效应, 提高了中间的亚甲基亲电性, 以与巯基发生亲电取代, 导致可逆或不可逆性共价结合 (Krantz A, Copp LJ, Coles PJ, et al. Peptidyl (acyloxy) methyl ketones and the quiescent affinity label concept: the departing group as a variable structural element in the design of inactivators of cysteine proteinases. *Biochemistry*, 1991, 30: 4678-4687)。

3.1 迈克尔亲电基团的变换 首轮变换的结构部分是 P1' 处的迈克尔亲电基团, 设计合成的化合物列于表 1。活性测定是用连续荧光共振能量转移实验评价对 SARS CoV-1 3C^{pro} 的抑制。 k_{obs} 为一级速率常数, 代表 SARS CoV-1 3C 酶失活的速率, k_{obs} 与化合物浓度 [I] 作图 (k_{obs}/I) 的斜率代表化合物对酶反应不可逆的抑制程度, 数值越大活性越强。 IC_{50} 表示酶的活性被可逆性抑制 50% 时化合物的摩尔浓度, 数值越小活性越强。

结果表明, 脂肪酸酯的化合物 **3~5** 的烷基由于电性相近, 对亚甲基的亲电效应变化不大, 因而活性相近。化合物 **6~12** 为单 (或无) 取代苯甲酸酯, 与活性部位的结合是可逆性抑制, 其中 2-氰基苯基 (**12**) 的活性最高, IC_{50} 达到 $17 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。 **15~18** 是在苯环上有两个吸电子基团, 亲电性强, 与酶的亲核中心发生不可逆的共价结合, 其中二氯代的 **15** 活性最强。 **15** 对 SARS CoV-1 感染 Vero 76 细胞的活性 $EC_{50} = 0.29 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 是个很强的化合物, 因为 Vero 76 细胞对外源性物质的

外排作用很强。**15**还显示较高的选择性,对谷胱甘肽和在血浆中都有很高的稳定性。然而**15**的溶解性太差,不宜深入临床研究。苯环上双取代化合物**13**和**14**是推电子基团,是可逆性抑制剂。

Table 1 SARS CoV-1 3C^{pro} inhibition data for acyloxymethylketone compounds. a: Continuous fluorescence resonance energy-transfer assay. The k_{obs} is the first-order rate constant for the proteolytic reaction and represents the rate of inactivation of coronavirus 3C protease. The slope (k_{obs}/I) of a plot of k_{obs} vs $[I]$ is a measure of the activity of the inhibitor for an enzyme

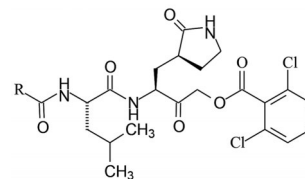


Compd.	R	SARS CoV-1 3C ^{pro} FRET ^a	
		$k_{\text{obs}}/I / (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \text{s}^{-1}$	$\text{IC}_{50} / \text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$
3	Me	-	220
4	cyc-Pro	-	182
5	tert-Bu	-	230
6	Ph	-	86
7	4-MeO-Ph	-	79
8	4-Me-Ph	-	87
9	4-CN-Ph	-	53
10	4-F-Ph	-	82
11	4-Cl-Ph	-	97
12	2-CN-Ph	-	17
13	2,6-(Me) ₂ -Ph	-	74
14	2,6-(OMe) ₂ -Ph	-	205
15	2,6-(Cl) ₂ -Ph	62 993	-
16	2,6-(F) ₂ -Ph	12 776	-
17	2-OH-4-Cl-Ph	11 525	-
18	2-F-4-CN-Ph	13 321	-

3.2 变换化合物15的P2'片段 为了克服**15**溶解度低的缺点,固定P1、P1'和P2的结构不变,改变P2'帽基4-甲氧基吡啶片段为水溶性或极性片段,例如表2列出的叔丁氧基(**19**)或甲基(**20**),结果是显著降低了活性;苯并咪唑(**21**)仍保持不可逆抑制活性(略低),但没有改善溶解性。四氢呋喃化合物**22**活性虽然比**15**降低了10倍,但溶解度提高了20倍,对病毒感染Vero 76细胞的 EC_{50} 为 $2.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

病毒生物学分析表明,不可逆抑制剂虽然具有良好的药效学表现,但如果病毒蛋白的再合成速率低于药物的清除率,那么对3C^{pro}蛋白的抑制不一定拘泥于不可逆抑制的机制。新表达的病毒多聚蛋白经3C^{pro}催化裂解固然对病毒复制至关重要,但它呈现活性只是在细胞被感染后病毒生命周期的单个环节,病毒颗粒本身并不依赖3C^{pro}蛋白的活性,其他环节也不受控制,因为细胞每当被感染后就启动重新合成3C^{pro}蛋

Table 2 SARS CoV-1 3C^{pro} inhibition for P2'- modified acyloxymethylketone compounds



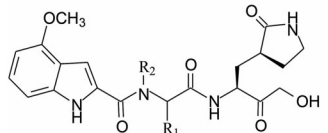
Compd.	R	SARS CoV-1 3C ^{pro} FRET	
		$k_{\text{obs}}/I / (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \text{s}^{-1}$	$\text{IC}_{50} / \text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$
15		62 993	-
19		-	24% inhibition @ 1000
20		-	1 028
21		30 287	-
22		5 834	-

白。由于这个动力学过程尚不完全清楚,所以辉瑞研究者决定同时研发可逆的和不可逆的抑制剂,不局限于不可逆抑制剂。

3.3 含有羟甲基酮片段的可逆性抑制剂 基于化合物**18**与SARS CoV-1 3C^{pro}的共晶结构的分析,氰基苯甲酰基已不复存在,是由于亚甲基碳与Cys135的巯基形成C-S共价键结合时氰基苯甲酰基为离去基团,酮基与酶骨架的Gly143和Cys145 NH形成氢键网络,起催化作用的His41经咪唑环上的N-H与结构水形成氢键,水分子又同时与Asp187的侧链和Asp176骨架上的羰基形成氢键网络将抑制剂固定在活性部位。然而根据组织蛋白酶(cathepsin)与含有羟甲基酮片段的抑制剂的晶体结构特征,巯基并没有与亚甲基形成共价键(羟基的亲电子性弱于氰基苯甲酰氧基),羟基只是与His41形成氢键。此外,P2处的亲脂性有利于同底部的疏水腔结合。分子模拟显示,S2部位(R₁)可容纳直链、叉链或环状的烷基,例如表3列出的化合物**23**、**26**~**28**显示有较好的抑酶活性,但平面性的苯环(**29**)活性弱。**25**的R₂为甲基,比相应的R₂为氢原子的**24**活性弱20倍,这是由于失去了NH参与同S2处Gln189发生氢键结合的缘故,同时N-CH₃也改变了帽基4-甲氧基吡啶的空间取向。

表3中**24**的活性最强,对酶抑制活性 $\text{IC}_{50} = 4 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,抗病毒感染细胞的活性 $\text{EC}_{50} = 5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。酶与细胞活性之差上千倍,提示**24**的过膜性较差,是由于分子中极性基团和氢键因素多,以及感染的细胞

Table 3 SAR of the compounds with different substituent at the peptide skeleton. a: SARS CoV-1 infected Vero 76 cells



Compd.	R ₁	R ₂	SARS CoV-1 3C ^{pro} ^a IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹	SARS CoV-1 ^a EC ₅₀ /μmol·L ⁻¹
23		H	7	10
24		H	4	5
25		CH ₃	83	19
26		H	20	10
27		H	34	44
28		H	44	14
29		H	103	47

外排作用强的缘故。

3.4 化合物 24 与 SARS CoV-1 3C^{pro} 的结合特征 化合物 **24** 是抑酶活性最强的化合物, **24** 与 SARS CoV-1 3C^{pro} 的共晶结构分析, 以及后来测定的 **24** 与 SARS CoV-2 3C^{pro} 的共晶结构 (这是本文最关注的) 表明, 二者的结合方式是相同的, 原因是这两个蛋白酶与底物蛋白的结合位点是相同的 (底物被裂解的部位的氨基酸序列相同)。图 4a 是 **24** 与 SARS CoV-1 3C^{pro} 晶体结构的 X-射线衍射图, 图 4b 是 **24** 与 CoV-2 蛋白酶结合的模式图。

24 中的亲电基团羧基酮的羰基与 3C^{pro} 的 Cys145 的巯基发生亲电加成形成四面体的甲醇 (carbinol) 结构, 该羟基与 Cys145 骨架上的 NH 形成氢键, 醇基还通过结构水分子与 Gly143 的 NH 形成氢键。P1' 的亚甲基基与催化中心的二元体 (dyad) 之一 His41 形成氢键。P1 处的内酰胺环进入 S1 的疏水腔中。**24** 的两个酰胺的 NH 作为氢键给体与 His164 和 Gln189 形成氢键, P2 处吡啶环上的 NH 与 Glu166 形成氢键, 异丁基与疏水腔发生疏水相互作用。

3.5 里程碑化合物 PF-00835231 化合物 **24** 对 SARS CoV-1 3C^{pro} 的抑制活性 IC₅₀ = 4 nmol·L⁻¹, 对 SARS CoV-2 3C^{pro} 的活性更强, IC₅₀ = 0.27 nmol·L⁻¹, 后者对于研制抗 COVID-19 病毒药物是个里程碑分子。**24** 对包括组织蛋白酶在内的多种蛋白酶的活性很弱, IC₅₀

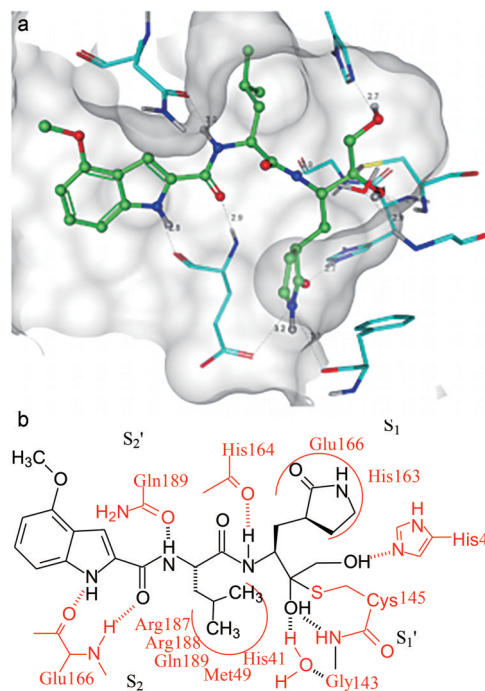


Figure 4 a: Cocrystal structure of the covalent adduct of **24** bound to SARS CoV-2 3C^{pro}. b: Sketch of binding mode of compound **24** in the binding site

大于 10 μmol·L⁻¹ (数据从略), 提示对 SARS CoV 病毒具有高选择性, 在血浆内是稳定的, 体内清除率很低, 溶解性尚可, 遂以代号 PF-00835231 拟进入临床研究, 后因 SARS 疫情消失而终止了研发。然而, PF-00835231 却成为研制 COVID-19 的新冠肺炎药物的开端 (Hoffman RB, Kania RS, Brothers MA, et al. Discovery of ketone-based covalent inhibitors of coronavirus 3CL proteases for the potential therapeutic treatment of COVID-19. J Med Chem, 2020, 63: 12725-12747)。

4 化合物 24 的优化

化合物 **24** 有较高的抗病毒活性, 对 SARS CoV-2 3C^{pro} 蛋白酶的结合常数 $K_i = 0.271 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对 COVID-19 病毒感染的 Vera 76 细胞的半数最大有效浓度 $\text{EC}_{50} = 231 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。然而药代动力学的过膜吸收性很差 ($P_{\text{app}} < 0.207 \times 10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$); 动物口服生物利用度 F 值仅为 1.4%, 口服剂量在胃肠道的吸收率 ($F_a \times F_g$) 只有 3.3%。因而下一步结构优化的方向是保持或提高抗 COVID-19 病毒活性的前提下, 改善化合物的过膜性和生物利用度。优化的切入点是减少氢键结合的数量, 降低分子的极性。

4.1 变换 α -羟甲基酮片段 分子中氢键给体的数量越多, 口服生物利用度越小 (Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. J Med Chem,

2002, 45: 2615-2623)。α-羟甲基酮作为半胱氨酸蛋白酶的共价结合的基团(巯基的迈克尔亲电基团)可以变换为其他非氢键的弱亲电性基团,例如前述的氰基(Chuck CP, Chen C, Ke ZH, et al. Design, synthesis and crystallographic analysis of nitrile-based broad-spectrum peptidomimetic inhibitors for coronavirus 3C-like proteases. Eur J Med Chem, 2013, 59: 1-6)。合成的化合物 **30** (表 4) 活性略有损失,但大鼠口服生物利用度提高到 $F = 7.6\%$, 在胃肠道的吸收率 $F_a \times F_g = 38\%$, 药代有了明显的提升。综合药效和药代的效果, **30** 未达到预期的标准。

4.2 羟甲基变换成苯并噻唑和减少骨架上的氢键 苯并噻唑的 2-位酮基具有亲电性,可与巯基发生迈克尔加成,以此替换羟甲基酮减少氢键给体,此外,还用 6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷作为环状亮氨酸的模拟物,可进入 S2 处的疏水腔中,并减少了 **24** 中骨架上的肽键。设计合成的化合物 **31** 改善了过膜性,但清除率很高,加之抑制酶和感染细胞的活性显著降低,实不可取。

4.3 帽基 4-甲氧基吡啶的变换 化合物 **24** 的 4-甲氧基吡啶环没有进入 S2 腔穴内,这是活性低的原因之

一。**31** 的二甲基氮杂双环[3.1.0]己烷虽然进入了 S2 腔,但缺少与 Gln189 形成氢键的因素,为此将甲氧基吡啶换成带有甲磺酰胺和叉链烷基的片段(兼有形成氢键和疏水结合的因素),化合物 **32** 的磺酰胺 NH 与 Glu189 形成氢键,酶与细胞活性明显提高,虽然过膜性降低但代谢稳定性和口服生物利用度有所提高,尤其是提高了胃肠道的吸收率 ($F_a \times F_g = 84\%$)。

或许磺酰胺的极性过强,不利于过膜,将甲磺酰胺换成三氟甲基,化合物 **33** 的抗感染细胞活性和过膜性、代谢稳定性和生物利用度以及胃肠道吸收率 ($F = 10\%$, $F_a \times F_g = 100\%$) 都超越了 **32**。

4.4 候选化合物的确定 基于药物化学的拼合原理,再用氰基替换 P1' 处的苯并噻吩片段,得到化合物 **34**, **34** 抑制 SARS-CoV-2 3C^{pro} 蛋白和抗病毒感染细胞的活性都强于 **33**。**34** 的分子量 $M_w = 499.53$, **33** 的分子量 $M_w = 621.67$, 降低了 120 Da, **34** 除过膜性略逊于 **33** 外(因为分子整体的亲脂性降低了),药代动力学的其他行为都优于 **33**。遂将 **34** 确定为候选化合物定名为尼马曲韦(nirmatrevir)。

为了确定 **34** 与酶的结合方式,将 SARS-CoV-2

Table 4 Structure evolution of the candidate compound and typical parameters. a: P_{app} from apical to basolateral direction was determined in Madin-Darby canine kidney-low efflux (MDCK-LE) cells; b: CL_{int} refers to total intrinsic clearance obtained from scaling of half-lives of test compounds in NADPH-supplemented HLMs

Compd.	Structure	SARS CoV-2 3C ^{pro} $K_i/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	Vera E6 $EC_{50}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	MDCK-LE ^a $P_{app}\times 10^{-6}\text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$	HLM CL_{int} ^b $/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$	Rat oral bioavailability $F/\%$	$F_a\times F_g$ $/\%$
24		0.271	231	<0.207	7.47	1.4	3.3
30		27.7	1 364	0.945	34.4	7.6	38
31		230	5 593	10.3	337	-	-
32		7.93	909	1.56	127	10	84
33		12.1	85.3	13.1	30.3	33	100
34		3.11	74.5	1.71	24.5	50	96

3C^{pro}酶蛋白分别与**34**和前述的不可逆抑制剂**22** ($K_i = 2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 温孵 30 min, 培养液稀释后测定酶活性显示, **34**仍保持 > 50%的酶活性, 而**22**的活性全无, 证明**34**的氰基与 Cys145 发生的共价结合是可逆性的加成反应。图 5 显示了**34**与 SARS CoV-1 3C^{pro}的活性中心结合的方式 (Owen DR, Allerton CMN, Anderson AS, et al. An oral SARS-CoV-2 Mpro inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19. Science, 2021, 374: 1586-1593)。

4.5 尼马曲韦的生物学特征 为了进入临床试验, 对**34**进行了广泛深入的生物学研究, 内容列入表 5。

5 尼马曲韦的批准和帕洛韦的上市

COVID-19 引起的新冠肺炎持续流行到 2022 年, 由阿尔法 (alpha)、贝塔 (beta)、德尔塔 (delta) 数度变异

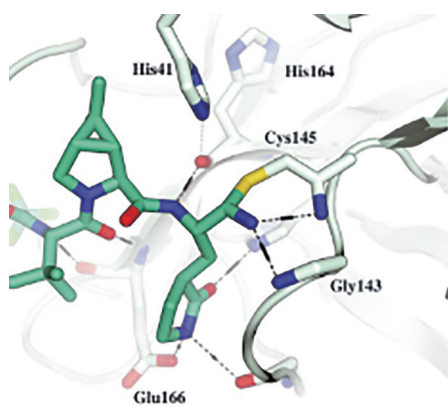


Figure 5 Reversible covalent Cys145 adduct is formed with the nitrile substituent in compound

成奥密克戎 (omicron) 多位点突变株, 两年来疫情持续不断, 除预防性接种疫苗外, 患者亟需特异性治疗药。辉瑞在十多年前研究 SARS 治疗药的基础上, 针对新冠病毒的 SARS-CoV-2 3C^{pro}酶蛋白进行深入研究, 在不到两年的时间完成了临床试验和规模制备。为了降低**34**在体内被 CYP3A4 的氧化代谢, 以延长尼马曲韦在体内的抗病毒时程, 将低剂量 (100 mg) 的 CYP3A4 抑制剂利托那韦 (**35**, ritonavir) 与本品 (2×150 mg) 复合口服用药, 取名为帕洛韦 (paxlovid), 每日服用两次, 持续 5 天, 用于治疗非住院、具有发展成重度疾病的高风险成人 COVID-19 的病毒感染。2021 年 12 月美国 FDA 批准辉瑞对帕洛韦的紧急授权申请, 成为治疗 COVID-19 新冠肺炎的首创性药物。

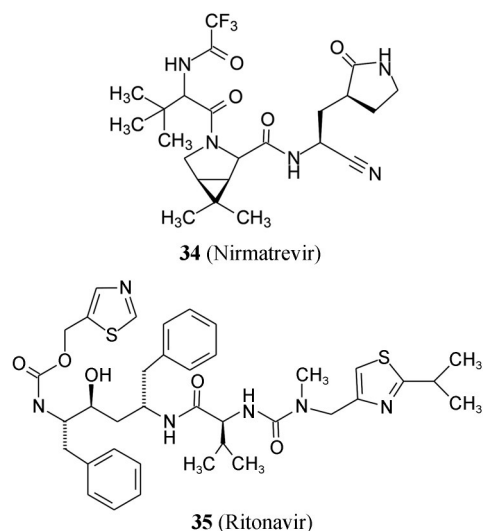


Table 5 Highlight of biological property for candidate **34**

No.	Description
1	Activity: All coronavirus types known to infect humans, including β -coronaviruses (SARS-CoV-2, SARS-CoV-1, HKU1, OC43, and MERS-CoV) as well as α -coronaviruses (229E and NL63)
2	Selectivity: No inhibitory effects were noted against mammalian cysteine (caspase 2, cathepsin B, and cathepsin L), serine (chymotrypsin, elastase, and thrombin) and aspartyl (cathepsin D) proteases at the highest concentration tested ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
3	Potency for COVID-19 virus-infected mice: Significant reduction of lung viral titers
4	Histopathological analysis and immunostaining of lungs: From COVID-19 virus infected mice showed that 34 limits cellular infiltration and protects lung tissue from damage caused by virus replication
5	Immunohistochemical analysis: Using a viral nucleocapsid antibody to detect viral antigen levels in the lungs revealed that 34 inhibits virus replication in a dose-dependent manner
6	Plasma clearance (CL_p): CL_p exhibited moderate in rats and monkeys, with elimination half-lives ($t_{1/2}$) of 5 h and < 1 h, respectively, after intravenous dosing
7	Metabolic stability: In NADPH-supplemented HLMs, 34 demonstrated moderate CL_{int} ($24.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$), which was significantly inhibited ($\geq 82\%$) by the selective CYP3A4/5 inhibitor ketoconazole
8	Favorable off-target selectivity profile: In a broad panel of G protein-coupled receptors, kinases, transporters, and phosphodiesterase enzyme inhibitor screens, and was devoid of activity against the cardiac ion channels $K_v1.1$, $Ca_v1.2$, and $Na_v1.5$
9	Genetic toxicity: 34 is not mutagenic or clastogenic and is negative in an <i>in vivo</i> rat micronucleus assay
10	Regulatory toxicity: Repeat oral dosing of 34 in 2-week regulatory toxicity studies in monkeys (60 to $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and rats (40 to $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) led to dose-dependent increases in both maximal plasma concentrations (C_{max}) and area-under-the-plasma concentration versus time curves (AUCs)