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。

本品是由著名药企辉瑞和默克联合研发的SGLT2选择性抑制剂, 在众星灿烂“格列净”降糖减肥药物中, 2017年FDA批准上市。研制本品的亮点至少有两个, 一是结构的新颖性, 不同于多数格列净类药物主要修饰与变换部位是苷元结构, 本品将葡萄糖片段的C1和C5经氧桥相连, 在原有的吡喃糖环桥头上形成四氢呋喃环, 赋予糖环有更稳固的活性构象; 另一是建立了同时涉及药效/药代的评价系统, 用大鼠的药代数据经异速标定 (allometric scaling) 转化为人体的预测数据, 大鼠尿路糖排出量 (UGE) 与清除率、分布容积、口服生物利用度以及与血浆蛋白结合率等数据预测人体的药代数据、药物药效浓度和稳态连续用药的每日剂量, 以此选择出本品, 并在临床研究中得到了证实, 提示该模型的可预测性。在其之前上市的达格、坎格和恩格列净不仅是治疗2型糖尿病的有效降糖减体重药物, 而且还有降低晚期患者的肾衰心衰风险的效果。人们期待着埃格列净也有此卓越表现。但埃格列净的VERTIS CV研究表明, 伴有心血管病的2型糖尿病患者应用埃格列净治疗没有观察到明显的心肾终点获益 (Cannon CP, Pratley R, Dagogo-Jack S, et al. Cardiovascular outcomes with ertugliflozin in type 2 diabetes. N Eng J Med, 2020, 383: 1425−1435)。 (编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0842

降血糖药SGLT2抑制剂埃格列净的研制

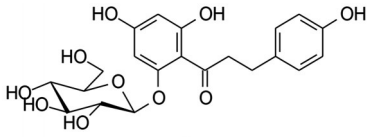
郭宗儒

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

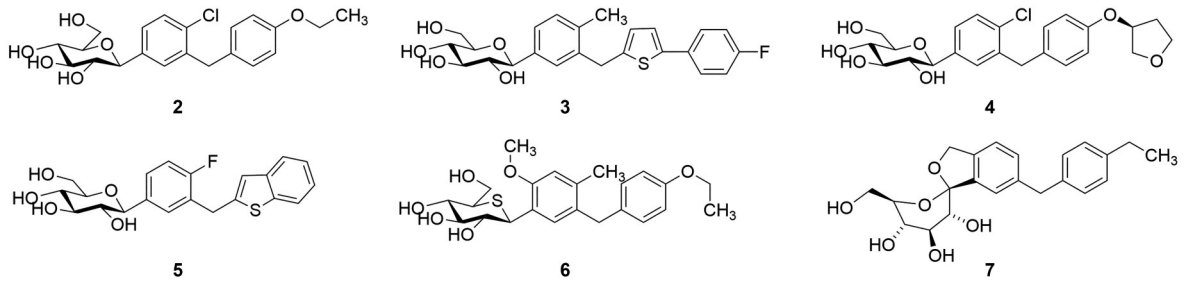
1 背景

100多年前, 人们发现蔷薇科植物果皮中含有次级代谢产物根皮苷 (**1**, phlorizin), 是以二氢查尔酮为苷元的葡萄糖苷, 具有抑制钠−葡萄糖共转运蛋白-2 (sodium-dependent glucose cotransporter 2, SGLT2) 和SGLT1的双重活性 (Chassis H, Jolliffe N, Smith H. The action of phlorizin on the excretion of glucose, xylose, sucrose, creatinine, and urea by man. J Clin Invest, 1933, 12: 1083−1089), 因选择性不高和在肠道迅速被糖苷酶水解成根皮素 (phloretin) 和葡萄糖而失效, 不能直接药用, 只用作药理工具药, 不过根皮苷可作为先导化合物, 只是近10多年来的事了。SGLT2蛋白主要表达于肾近端小管, 负责将前尿液中的90%葡萄糖重吸收到血液中, 具有高容量低亲和特征; SGLT1表达于肠、肾 (重吸收10%葡萄糖) 和其他组织, 主要负责从膳食中摄取葡萄糖, 特征是低亲和高容量。选择性地抑制SGLT2是与胰岛素系统完全不同的降糖减肥靶标。

在研制本品的过程中, 相继上市了多个针对SGLT2靶标的药物, 有BMS和阿斯利康共同研制的达格列净 (**2**, dapagliflozin, 2012) (Meng W, Ellsworth BA, Nirschl AA, et al. Discovery of dapagliflozin: a potent, selective renal sodium-dependent glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. J Med Chem, 2008, 51: 1145−1149); 强生公司的坎格列净 (**3**, canagliflozin, 2013) (Nomura S, Sakamaki S, Hongu M, et al. Discovery of canagliflozin, a novel *C*-glucoside thiophene ring, as sodium-dependent glucose cotransporter diabetes mellitus. J Med Chem, 2010, 53: 6355−6360); 2014年有4款上市, 即勃林格与礼来公司共研制的恩格列净 (**4**, empagliflozin) (Grempler R, Thomas L, Eckhardt M, et al. Empagliflozin, a novel selective sodium glucose cotransporter-2 (SGLT-2) inhibitor: characterisation and comparison with other SGLT-2 inhibitors. Diabetes Obes Metab, 2012, 14: 83−



1



90)、日本安斯泰来与寿技公司研制的伊格列净 (**5**, ipragliflozin)、诺华与日本大正研制的鲁格列净 (**6**, luseogliflozin) 和日本中外制药的托格列净 (**7**, tofogliflozin)。

这些上市药物都是将天然物**1**的*O*-糖苷变换为*C*-糖苷, 而且都将糖的连接位置由邻位迁移到间位, 提高了化学和代谢稳定性; 同时也都消除了酚羟基, 以减少药物的II相代谢失活。多数抑制剂只限于优化苷元部分, **6**变换葡萄糖为硫代糖, **7**为螺环糖。本品则是有桥头的双环糖。

2 化合物活性评价

2.1 体外抑制细胞转运功能 用中国仓鼠卵巢细胞模型, 评价化合物抑制SGLT2/1转运*α*-甲基-*D*-葡萄糖苷 (AMG) 半数有效浓度IC_{50}, 越小越好。

2.2 用平衡透析法测定稳定性 在血浆中化合物浓度为1 000 ng·mL^{-1}下未发生结合的游离化合物的分值fn_{plasma}, 作为稳定性的一种量度, 分值越小在血浆中存留时间越长。

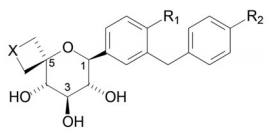
2.3 化合物体外清除率 化合物与肝微粒体和肝细胞温孵, 测定用半衰期定标的表观内在清除率。清除率越低预示用药剂量和频度越小。

2.4 大鼠药代/药效相关模型 这个模型整合了动物的药代、药效数据, 转化为预测健康人体的药代、药效行为。根据化合物与人和大鼠血浆蛋白结合的差异经归一化处理后, 测定大鼠药代数据经异速标定 (allometric scaling) 预测化合物在人体的药代数据。人体的药效强度是用大鼠的数据经微分方程模型作预测, 即求解SGLT2诱导的尿路排泄葡萄糖 (UGE) 是抑制剂浓度、抑制剂强度、血浆中葡萄糖浓度、肾小球滤过率和葡萄糖重吸收量的函数, 求解微分方程 (Hosea NA, Collard WT, Cole S, et al. Prediction of human pharmacokinetics from preclinical information: comparative accuracy of quantitative prediction approaches. J Clin Pharmacol, 2009, 49: 513−533)。

3 糖片段5位螺环化合物

为了赋予化合物的结构新颖性, 修饰糖片段5位引入螺环, 而保持2, 3, 4位的羟基构型不变。合成的化合物列于表1。表中化合物除氮杂螺环含有NH可作为氢键供体, 其余四元螺环都没有氢键供体, 但抑制SGLT2活性仍很强, 尤其是化合物**8**和**9**, 提示5-位的羟基对活性影响不大, 可以修饰为无羟基的分子。反之, 氮杂环丁烷化合物**11**的活性却很低, 推测其碱性被质子化, 正电荷不利于同蛋白结合 (Mascitti V, Robinson RP, Preville C, et al. Syntheses of C-5-spirocyclic C-glycoside SGLT2 inhibitors. Tetrahedron Lett, 2010, 51: 1880−1883)。

Table 1 Functional IC_{50} of C5-spirocyclic compounds against SGLT2 and SGLT1



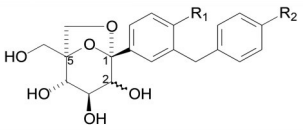
Compd.	X	R_1	R_2	SGLT2 IC_{50}/nmol·L^{-1}	SGLT1 IC_{50}/nmol·L^{-1}
8	O	CH_3	OCH_3	6.6	1 540
9	O	CH_3	C_2H_5	3.4	1 500
10	SO_2	CH_3	C_2H_5	14	>10 000
11	NH	CH_3	C_2H_5	5 100	>10 000
12	O	Cl	OCH_3	23	>9 600
13	O	Cl	OC_2H_5	32	5 600

然而化合物**8**或**9**的药代动力学性质不理想, 根据**8**的大鼠药代数据按照前述的异速标定模型换算成人的血浆清除率为4.6 mL·min^{-1}·kg^{-1}, 预测人体稳态下的分布容积V_{SS}为1.9 L·kg^{-1}, 换算成在人体内的半衰期$t_{1/2}$ < 5.0 h, 这就需要每日的有效剂量大于100 mg才能接近尿排葡萄糖量的最大值 (60 g/24 h) (Robinson RP, Mascitti V, Boustany-Kari CM. et al. C-Aryl glycoside inhibitors of SGLT2: exploration of sugar modifications including C-5 spirocyclization. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20: 1569−1572)。所以, 5位氧杂环丁烷难以作为深入研究的方向。

4 C1与C5的跨环化合物

修饰糖的另一个考虑是将C5和C1经氧桥连成五元杂环, 此时C1提高了氧化态, 成为环状缩酮碳, 双环

Table 2 Structures and activities of representative compounds with C1-O-C5 linkage



Compd.	R_1	R_2	C-2	ElogD	fn_{plasma}		IC_{50}/nmol·L^{-1}		CL_{app}	
					Human	Rat	SGLT2	SGLT1	HLM/mL·min^{-1}·mg^{-1}	Rat/mL·min^{-1}·kg^{-1}
14	CH_3	OCH_3	*R*	2.6	0.206	0.186	1.07	506	<8.0	<2.1
15	CH_3	OC_2H_5	*R*	3.0	–	–	1.11	958	8.0	<2.0
16	Cl	OCH_3	*R*	3.2	–	–	0.882	546	9.2	<2.0
17	Cl	OCH_3	*S*	3.9	–	–	43.1	>10 000	15	2.3
18	Cl	OC_2H_5	*R*	3.6	0.064	0.040	0.927	2 050	12	4.5
19	Cl	OC_2H_5	*S*	3.8	–	–	89.9	>10 000	–	–

的存在增加了分子构象的稳固性, 可能有利于提高活性和选择性。此外C5还可以存在羟亚甲基, 提供与蛋白结合的几率。为此合成并评价表2的代表性化合物。构效关系可概括如下: ① C2的构型很重要。*R*构型的活性显著强于*S*构型, 例如化合物**16**强于**17**、**18**强于**19**。② 化合物**14**、**15**、**16**和**18**的实测分布系数(ElogD) 都很接近, 需提及的是糖片段的差向异构显示Elog*D*有差异, **17**的亲脂性强于**16**和**18**。体外活性和清除率都很相近, **18**对SGLT2的选择性较高, 与人或大鼠血浆结合率低于**14**。

然而大鼠体内药代动力学表明化合物**18**的清除率显著低于**14**～**16**, 因而血浆消除半衰期延长了2～4倍。如表3所示。

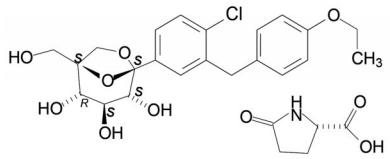
Table 3 Comparison of *in vivo* pharmacokinetic properties of typical compounds in rats (doses of 2 mg·kg^{-1}, *iv*)

Compd.	CL_{plasma}/mL·min^{-1}·kg^{-1}	V_{ss}/L·kg^{-1}	$t_{1/2}$/h
14	37.1	1.71	0.96
15	27.7	1.03	0.94
16	23.8	1.82	1.6
18	4.04	1.13	4.1
8	22.3	2.27	1.9

5 候选物的确定和埃格列净上市

化合物**18**体外抑制SGLT2活性与**14**～**17**都较高, 但静脉注射大鼠显示体内有显著低清除率和较长半衰期, 遂将**18**制成*L*-焦谷氨酸盐 (**20**) 以便口服用药。图1是**20**的X-射线单晶图。

下面是确定**20**为候选物的重要药理学依据。首先是动物体内药效动力学评价。化合物**20**灌胃大鼠5.0 mg·kg^{-1}, 体内最大暴露量是1.94 μg·mL^{-1}, 达峰



Ertugliflozin *L*-pyroglutamic acid (**20**)

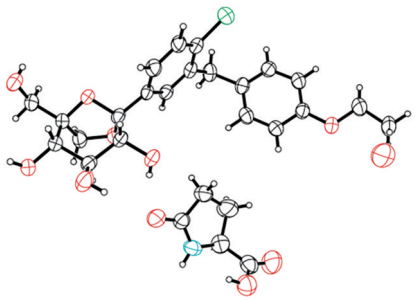


Figure 1 The X-ray crystal structure of complex of **20**

时间是1.0 h, 口服生物利用度 (*F*) 为69%。继之测定大鼠体内UGE, 显示是剂量依赖性排出, 一次给药在24 h内最大UGE为2 554 mg/200 g体重。一次灌胃30 mg·kg^{-1}血浆中未与蛋白结合的**18**浓度为408 nmol·L^{-1}, **18** $AUC_{0\text{-}24}$ = 4 280 ng·h·mL^{-1}, 体内抑制SGLT2活性 IC_{50} = 1.8 nmol·L^{-1}, 这与大鼠体外SGLT2的 IC_{50} = 1.15 nmol·L^{-1}基本一致。

之后是体内药效/药动学评价。用公司的SGLT2 PK/PD软件模型预测健康人体的UGE, 根据大鼠的药代数据的异速标定, 预测人体清除率 CL_{plasma} 为1.7 mL·min^{-1}·kg^{-1}, 分布容积 V_{ss} = 1.8 L·kg^{-1}, 由清除率和分布容积计算出**18**在人体内半衰期 $t_{1/2}$ = 12 h。基于稳态下预测**18**的剂量与UGE效应曲线与半衰期 $t_{1/2}$ = 12 h换算出每日给药 ED_{50} = 4 mg, 稳态下健康人的葡萄糖排出量为32.5 g UGE/24 h , 最大效应 E_{max} = 65 g UGE/日, 相当于体内 IC_{50} = 1.4 nmol·L^{-1}。与表2测定的数据 IC_{50} = 0.927 nmol·L^{-1}基本一致。同时还预测了**18**的*L*-焦谷氨酸盐的口服生物利用度*F* = 65%。

确定了**20**为候选化合物定名为埃格列净*L*-焦谷氨酸盐 (ertugliflozin *L*-pyroglutamic acid)。健康人I期临床表明与上述模型预测的数据基本一致, 后经III期临床研究证明每日口服5 mg可有效控制血糖, 于2017年经FDA批准在美国上市, 同时也批准了二甲双胍/埃格列净及西格列汀/埃格列净等复方制剂治疗2型糖尿病。