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。

40多年前确定的代谢功能障碍相关性脂肪性肝炎 (MASH, 以前称作NASH) 以来, 医药界一直致力于研制MASH治疗药, 聚焦的靶标有核受体法呢醇X受体 (FXR) 和甲状腺激素受体β (THR-β) 激动剂、凋亡信号调节激酶1 (ASK1) 抑制剂、乙酰辅酶A羧化酶1/2抑制剂等。然而都折戟或中止于临床试验中。本品是THR-β选择性激动剂, 它的成功归因于研制公司Madrigal Pharmaceuticals在结构设计中博采众长, 优选了重要的药效团拼合成骨架分子, 经优化得到了本品; 而且研制者在I、II和关键的III期临床试验中, 根据MASH的病理学特征, 周密、严谨而全面地设计了52周口服治疗的多层面终末点: 用肝穿刺的纤维化改善、影像学的减轻和低密度脂蛋白胆固醇水平的降低等综合治疗效果, 表征了本品的安全有效性, 终于在2024年3月成功地获得美国FDA的批准, 成为全球第一个治疗伴有肝纤维化的代谢功能障碍相关脂肪性肝炎的药物。 (编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0257

首创的治疗MASH瑞司美替罗的研制

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)

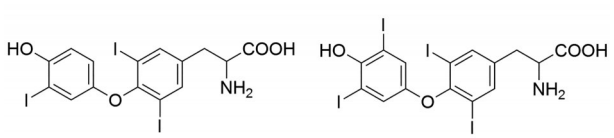
1 代谢功能障碍相关性脂肪性肝炎

代谢功能障碍相关性脂肪性肝炎 (metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, MASH) 以前称作非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 是由代谢功能障碍相关性脂肪性肝病 (MASLD) 发展而成的, 患者发生肝细胞脂肪变性、炎症、纤维化乃至肝硬化。临床发现MASH与2型糖尿病和肥胖密切相关。在病理学上主要表现为肝细胞的脂肪变性以及脂肪在肝脏内的蓄积。然而用降低甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇药物例如他汀类或降糖药不能阻断MASH的发生。自20世纪80年代揭示MASH疾病40多年来, 药界研究一直不断, 许多厂家屡战屡败, 直到2024年3月, 美国FDA批准了第一个MASH治疗药, 具有划时代性。

2 甲状腺激素受体β激动剂

甲状腺激素受体 (THR) 是在细胞核内与染色质结合的蛋白质, 分α和β两型, 对DNA识别位点有高度亲和性。THR作为核受体与甲状腺激素结合后, 转导与发育和能量产生有关的信息, 调节机体发育和新陈代谢。甲状腺激素受体β (THR-β) 高表达于肝细胞, THR-β激动剂调节脂质代谢, 降低低密度脂蛋白胆固醇和甘油三酯, 并促进脂肪酸的氧化分解。

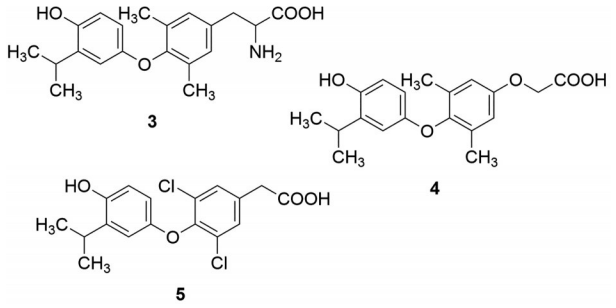
甲状腺激素 (thyroid hormone) 包括T3 (**1**) 和T4 (**2**), 是机体内一种重要的含碘内分泌激素, T3是三碘甲状腺原氨酸, T4是四碘甲状腺原氨酸, 在甲状腺中合成, T3通常是在外周组织由T4转化而来。T3具有生物学活性, 而且代谢较快 (这是所有激素的共同特征), T4生物学活性低于T3。分子生物学研究表明, 高水平甲状腺素 (例如甲亢) 引起心脏不良反应和骨质疏松, 是由于对THR-α受体的激动作用所致; 选择性激动THR-β受体, 可特异性促进脂肪的消耗。在结构上THR-α和-β的配体结合域只有一个氨基酸差异, 即Asn331 (THR-β)/Ser277 (THR-α), Asn331更容易同羧基发生氢键结合 (Joharapurkar AA, Dhote VV, Jain MR. Selective thyromimetics using receptor and tissue selectivity approaches: prospects for dyslipidemia. J Med Chem, 2012, 55: 5649−5675), 这对研制THR-β受体选择性激动剂是重要的结构依据。



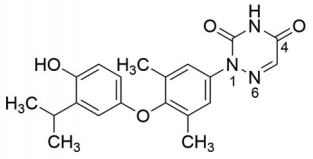
1 2

3 既往的THR-β激动剂研究

基于T3活性强于T4但稳定性差的性质，早在1970年UCLA的Jorgensen将烷基和/或氯溴元素置换T3的3个碘原子，活性评价是用大鼠抗甲状腺肿的强度作指标，发现化合物**3** (DIMIT)有一定活性，而且若将右端的丙氨酸片段换成氧乙酸**4** (GC-1)，活性提高10倍。然而后来研究证明**3**、**4**和**5**对THR-α和-β没有选择性 (Jorgensen EC, Wright J. Thyroxine analogs. XIX. 3, 5-Dimethyl-3′-isopropyl-*DL*-thyronine. J Med Chem, 1070, 13: 745−747)。



后来辉瑞公司用含有酸性氢的各种含氮杂环替换酸性侧链，优选出对THR-β有选择性激动活性的化合物**6**，K_i = 0.03 nmol·L^{-1}，强于THR-α大约100倍，对E25B2细胞显示功能性激动活性。



化合物**6**与THR-β复合物晶体X-射线衍射分析表明 (图1)，氮杂尿嘧啶片段的NH受两个羰基的拉电子影响而呈酸性，离解后与Arg320成氢键，这与**4**和**5**的羧基相对应；不同处是**6**的C-4羰基氧与Arg316形成氢键，而**4**/**5**没有。**6**的NH换作N-CH_3失去活泼氢，活性降低50倍；6位氮原子换成碳的尿嘧啶环，活性下降120倍，说明该氮杂尿嘧啶是选择性激动作用的重要片段 (Dow RL, Schneider SR, Paight ES, et al. Discovery of a novel series of 6-azauracil-based thyroid hormone receptor ligands: potent, THR-β subtype-selective thyromimetics. Bioorg Med Chem Lett, 2003, 13: 379−382)。

另一个研制THR-β激动剂系列是含有卤素的二苯醚类化合物，其中eprotirome (**7**, KB2115) 曾进入临床试验，口服200 μg可降低低密度脂蛋白胆固醇40%，但

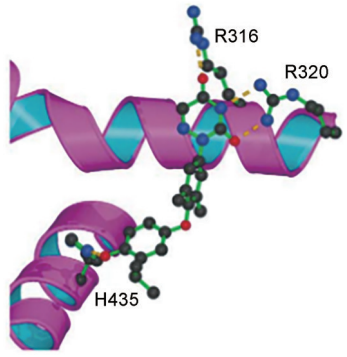
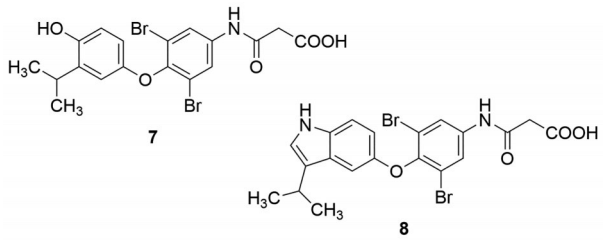


Figure 1 Binding of **6** to human THR-β

由于对THR-α受体激动作用引起软骨损伤而终止了研发 (Berkenstam A, Kristensen J, Mellström K, et al. The thyroid hormone mimetic compound KB2115 lowers plasma LDL cholesterol and stimulates bile acid synthesis without cardiac effects in humans. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105: 663−667)。



Bayer药厂考虑到酚羟基的富电子性引起的代谢不稳定性和可能的不良反应，用吲哚环替换苯酚，苯酚与吲哚可视作电子等排体，因为都含有苯环、氢键供体和接受体，但吲哚环的电荷密度低于苯酚，提高了稳定性。例如化合物**8**是强效THR-β受体激动剂 (Haning H, Schmidt G, Pernerstorfer J, et al. Indoles for treating diseases that can be treated using thyroid hormones. WO200170687, 2001)。

4 结构优化和整合策略—本项目的研制路径

研制THR-β受体激动剂多年来积累了众多结构类型的候选物，都因为选择性、稳定性和脱靶性或临床试验设计不周而未能成药。美国Madrigal药厂分析了各种结构的构效关系，采用拼合功能基策略，设计合成了通式**9**的化合物，左端的芳环为异丙基吡嗪酮，隐含着平面型的氢键供体和接受体，异丙基 (Hansch立体性E_S = −1.71) 模拟的是碘元素 (E_S = −1.62)，二者空间占据体积相近；另一苯环作不同的取代，并考察连接两个芳环的原子或基团对活性的影响，合成的化合物列于表1。

表中报道的选择性数据都是同时测定T3 (**1**) 的选

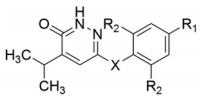
择性经归一化得到的, 因而之间有可比性。分析构效关系提示, 新合成的含羧基的化合物活性普遍低于化合物**1**、**4**和**5**, 而且对THR-β的选择性也不高; 二溴取代 (**12**) 比相应的二氯 (**11**) 化合物活性强, 对α和β亚型有一定选择性。羧酸链为3个重原子的化合物**13**～**15**的活性比相应的乙酸基活性强, 但选择性不高。两环之间桥连的氧原子或亚甲基 (**16**和**17**) 的变换对活性和选择性的影响不大, 亚磺酰和磺酰基比硫醚的活性显著减弱。

表中列出了代表性的4个氮杂尿嘧啶化合物, 应是从辉瑞公司研制的片段移植来的, 酰亚胺提供了酸性基团和两个氢键接受体的羰基, 对激动THR-β的活性强于开链的乙酸基, **21**和**22**存在的氰基有利于提高对THR-β选择性激动作用, 这可从没有氰基的**23**和**24**活性虽强但选择性却不高得到验证。**21**的相对选择性高达28倍 (Kelly MJ, Pietranico-Cole S, Larigan JD, et al. Discovery of 2-[3,5-dichloro-4-(5-isopropyl-6-oxo-1,6-dihydropyridazin-3-yloxy)phenyl]-3,5-dioxo-2,3,4,5-tetrahydro[1, 2, 4]triazine-6-carbonitrile (MGL-3196), a highly selective thyroid hormone receptor β agonist in clinical trials for the treatment of dyslipidemia. J Med Chem, 2014, 57: 3912−3923)。

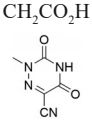
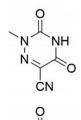
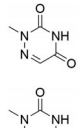
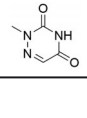
5 候选化合物的确定

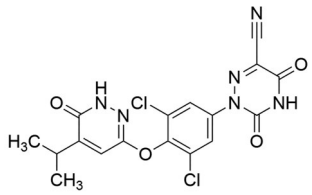
化合物**21**对THR-β的激动作用虽然低于**4**和**5**, 但选择性活性是THR-α的28倍, 预示是安全有效的化合物。**21**与体外人肝细胞温孵表明较高代谢稳定性和低清除率, 用Caco-2细胞测定**21**从顶端 (A) 到基底外侧 (B) 方向显示低到中度渗透率, B到A方向为高渗透率。**21**在肥胖小鼠肝脏和血浆中的比值是8∶1, 说明**21**选择性地浓集于肝脏和较低的全身暴露量, 预示不良反应低。对hERG钾通道 (30 μmol·L^{-1}) 和CYP药物代谢酶 (50 μmol·L^{-1}) 未见显著影响。灌胃大鼠生物利用度F = 45%, 半衰期$t_{1/2}$ = 4.08 h。由此确定**21**为候选化合物, 定名为瑞司美替罗 (resmetirom) 经临床前研究后, 进入临床试验。

Table 1 Structure−activity relationship of pyridazinone based THR agonists. a: Selectivity is normalized for the selectivity of T3 in the same assay



9

Compd.	R_1	R_2	X	THR-β EC_{50}/μmol·L^{-1}	β Rel. act. to **1**	THR-α EC_{50}/μmol·L^{-1}	α Rel. act. to **1**	Rel. selectivity[a]
1		−		0.015	100	0.01	100	1
4		−		0.018	127	0.003	84	0.71
5		−		0.023	116	0.005	86	1.02
10	CH_2CO_2H	CH_3	O	7.75	25	15/64	19	7.01
11	CH_2CO_2H	Cl	O	2.38	58	7.01	50	10.23
12	CH_2CO_2H	Br	O	0.46	81	3.28	54	11.65
13	$CH_2CH_2CO_2H$	Br	O	0.70	89	0.39	98	1.94
14	$NHCH_2CO_2H$	Cl	O	0.67	74	0.70	81	3.66
15	$NHCOCO_2H$	Cl	O	0.12	87	0.21	84	6.09
16	CH_2CO_2H	Cl	CH_2	2.99	58	4.29	59	7.80
17	CH_2CO_2H	Br	CH_2	0.60	74	0.75	72	6.77
18	CH_2CO_2H	Cl	S	2.04	70	8.88	30	7.03
19	CH_2CO_2H	Cl	SO	9.17	10	Not test	Not test	Not test
20	CH_2CO_2H	Cl	SO_2	6.98	62	14.39	13	4.18
21		Cl	O	0.21	84	3.74	49	28.29
22		Cl	CH_2	0.22	87	2.75	46	20.28
23		Cl	O	0.12	81	0.41	78	12.26
24		Cl	CH_2	0.09	92	0.82	68	12.64



Resmetirom

6 临床试验和批准上市

本条目简要提及临床试验, 是由于Madrigal药厂制定的临床试验终点契合了FDA审核和批准MASH药物的要求。研制者吸取了若干著名公司申报MASH药物都未成功, 或许是由于对临床治疗终末点设定标准不当等原因, 对此, 瑞司美替罗的III期临床试验入选的近千名患者随机均分3组: 每日口服给药80 mg组、100 mg组和安慰剂组。在给药前所有患者进行了影像学肝脂肪MRI-PDFF (proton density fat fraction)评分、肝穿刺组织病理学检查分级, 以及血浆LDL-C水平测定。口服给药期为52周后实施上述3种检查。此外在用药第16和24周做MRI-PDFF及LDL-C检查。设定的主要终点包括两个方面: MASH的消减(resolution)即NAS下降大于或至少等于2分, 同时纤维化没有恶化; 或纤维化程度下降1级, 同时NAS没有恶化。次要终点为第24周LDL-C下降的百分数。表2列出了III期临床试验结果。提示瑞司美替罗达到了两个主要终点和一个次要关键终点的指标。

表2结果提示, 口服80和100 mg两个给药组52周达到了主要终点, NASH消减值分别为26%及30%, 安慰剂组为10%; 纤维化改善值分别为24%及26%, 安慰剂组为14%。次要终点在第24周的LCL-C的80 mg给药组平均降低12%, 100 mg组下降16%, 而安慰组平均为1%。与安慰组相比, 所有给药组的指标都有统计学意义。此外, 给药组引起动脉粥样化的脂质及脂蛋白、纤维化生物标记物、肝脂肪影像等指标的改善都比安慰剂组有统计学意义的改变。基于此, 美国FDA于2024年3月14日批准瑞司美替罗为全球首款治疗伴有肝纤维化的代谢功能障碍相关脂肪性肝炎的药物。

7 瑞司美替罗与THR-β结合模式

瑞司美替罗 (**21**) 与THR-β复合物晶体结构经X射线衍射分析表明, 图2a显示**21** (紫色) 与T3 (青色) 的结合位点和模式基本相同, 不同之处是氰基与Arg316发生氢键结合, 氮杂尿嘧啶的酰基与亚胺、Arg320形成双齿氢键网络, 成为有别于THR-α的特异性结合。图2b是**21**与THR-β氨基酸残基结合的示意图, 红色为疏水性残基, 蓝色是与**21**形成氢键的极性氨基酸。

Table 2 Summary of the phase III clinical trial MEASTRO-NASH. RES: Resmetirom

Inspection item		RES 80 mg 316 patients	RES 100 mg 321 patients	Placebo 318 patients
Primary endpoints	NASH resolution with ≥2 point reduction in NAS and no worsening of fibrosis	26% (P < 0.000 1)	30% (P < 0.000 1)	10%
	≥1 stage improvement in fibrosis with no worsening of NAS	24% (P = 0.000 1)	26% (P < 0.000 1)	14%
Secondary endpoint	LDL-C lowering at 24th week	−12% (P < 0.000 1)	−16% (P < 0.000 1)	1%

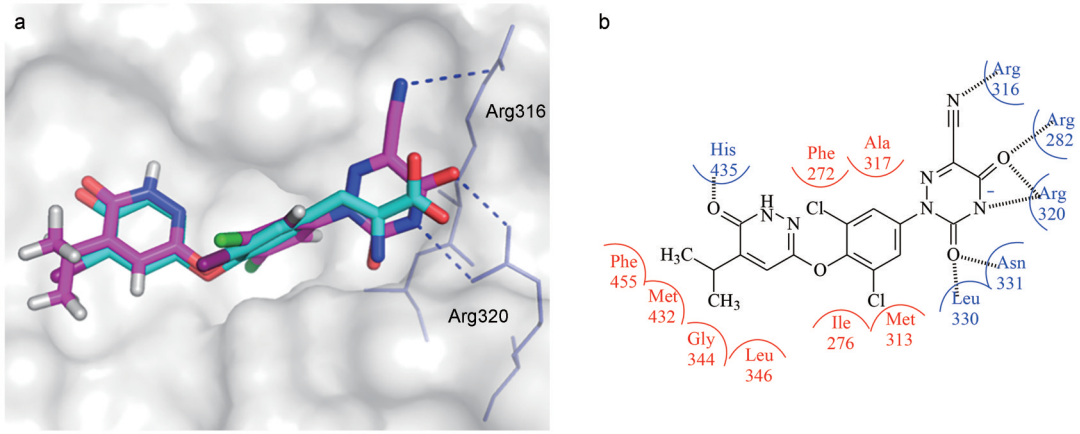


Figure 2 a: Model of **21** (magenta) bound to THR-β with the T3 geometry (cyan). Polar interactions of **21** in the anion binding site are highlighted. b: Sketch map of binding mode of **21** to THR-β