

- of ketoprofen and naproxen[J]. *J Pharm Sci*, 1998, 87: 1622-1628.
- [22] Park B K, Kitteringham N R. Effects of fluorine substitution on drug metabolism: pharmacological and toxicological implications[J]. *Drug Metab Rev*, 1994, 26: 605-643.
- [23] Paul D, Standifer K M, Inturrisi C E, et al. Pharmacological characterization of morphine 6 β -glucuronide, a very potent morphine metabolite[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1989, 251: 477-483.
- [24] Mulder G J. Pharmacological effects of drug conjugates: is morphine 6-glucuronide an exception [J]? *Trends Pharmacol Sci*, 1992, 13: 302-304.
- [25] Lin J H, Lu A H. Role of pharmacokinetics and metabolism in drug discovery and development [J]. *Pharmacol Rev*, 1997, 49: 403-449.
- [26] Bodor N. Novel approaches to the design of safer drugs: soft drugs and site-specific chemical delivery systems [A]. Bernard T. *In Advances in Drug Research* (Vol 13) [C]. New York: Academic Press, 1984. 255-331.
- [27] Bodor N, Woods R, Raper C, et al. Soft drugs: 3-a new class of anticholinergic agents [J]. *J Med Chem*, 1980, 23: 474-480.
- [28] Hughes R, Chapple D J. The pharmacology of atracurium: a new competitive neuromuscular blocking agent[J]. *Br J Anaesth*, 1981, 53: 31-44.

选择性磷酸二酯酶IV抑制剂的研究

章国燕, 张奕华

(中国药科大学新药研究中心,江苏 南京 210009)

摘 要: 磷酸二酯酶IV (PDE-4)主要分布于各类炎症细胞,能专一性水解环腺苷酸(cAMP),促进炎症的发展。PDE-4抑制剂通过选择性抑制 PDE-4,使胞内 cAMP水平升高,在抗炎和抗哮喘方面显示了广阔的应用前景。将 PDE-4抑制剂分为儿茶酚醚类、苯甲酰胺类、喹唑啉二酮类、黄嘌呤类、苯并咪唑类等,分别综述其构效关系研究和临床开发应用。

关键词: 磷酸二酯酶IV; 磷酸二酯酶IV抑制剂; 作用机制; 构效关系; 抗炎; 抗哮喘

中图分类号: 文献标识码: A 文章编号: 1001-5094(2002)02-086-06

Studies on Selective Phosphodiesterase 4 Inhibitors

ZHANG Guo-yan, ZHANG Yi-hua

(Center of drug discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract Phosphodiesterase 4 (PDE-4), which specifically decomposes cAMP, is mainly distributed in various inflammatory cells and promotes exacerbation of inflammation. PDE-4 inhibitors can increase the cellular level of cAMP by inhibiting PDE-4 activity and hence demonstrate a wide potential in the treatment of inflammation and asthma. In this article, PDE-4 inhibitors were classified into catechol ethers, enzamides, quinazolinediones, xanthines, benzofurans and others. The structure-activity relationships and clinical applications of them were reviewed respectively.

Key words Phosphodiesterase 4; PDE-4 inhibitor; Acting mechanism; Structure-activity relationship; Antiinflammation; Anti-asthma

环腺苷酸(cAMP)是细胞内信号传导的第二信使,在细胞生命活动中有着重要的意义。细胞内cAMP水平的调控主要由腺苷酸环化酶的合成与磷

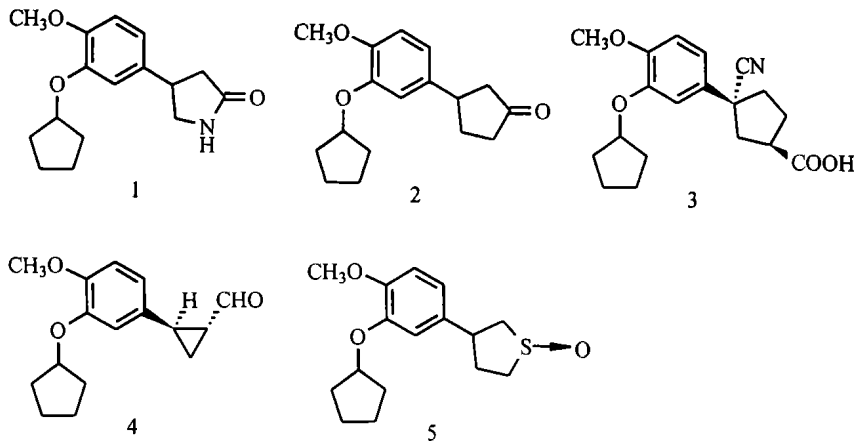
酸二酯酶(PDEs)的水解作用来实现。PDEs能催化腺苷酸的3',5'磷酸二酯键的水解,使cAMP水平下降。PDEs是一个多基因大家族,根据它们对底物

的专一性。抑制剂的敏感性和钙/钙调蛋白的依赖性不同,可分为11种亚型^[1-3],其中磷酸二酯酶IV亚型(PDE-4)又可分为4种亚型,主要分布于各类炎症细胞,如巨噬细胞、中性粒细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和肥大细胞等,能专一性水解cAMP,但对环鸟苷酸(cGMP)不敏感。PDE-4作为新型抗炎药物作用靶点,引起了众多科学家的研究兴趣。

1 PDE-4抑制剂的药理作用和作用机制

选择性PDE-4抑制剂在哮喘和慢性阻塞型肺病(COPD)的临床治疗中显示了不凡的功效,因此有人预言它将取代类皮质甾体和 β_2 肾上腺素受体激动剂,成为新一代抗炎药物^[4]。另有文献报道^[5],PDE-4抑制剂能够治疗某些自身免疫疾病,如风湿性关节炎、多发性硬化症和II型糖尿病等。

PDE-4抑制剂的作用机制为:抑制各种炎症细胞内超氧化物的生成;抑制单核细胞和巨噬细胞中肿瘤坏死因子(TNF α)的释放;抑制巨噬细胞的吞噬和淋巴细胞的细胞毒作用;降低内皮细胞的通透性和胞内粘附分子的表达;抑制胞内组织胺、氯化胺、甲酰胆碱和乙酰甲胆碱的生成^[1,3,5]。因而PDE-4抑制剂具有抗炎、免疫调节和舒张平滑肌的作用。



2.2 苯甲酰胺类

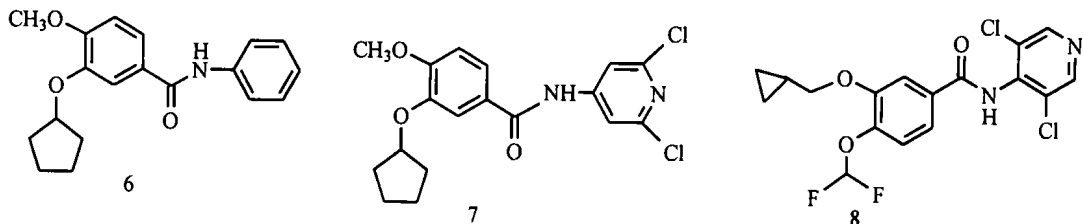
这类PDE-4抑制剂最早由Ashton等在1994年报道,他们在母体化合物(6)($IC_{50}=2.6\mu\text{mol/L}$)的N-苯基上引入一系列取代基,其中以邻位取代活性最好;后来用杂环取代N-苯基,发现吡啶类似物

2 PDE-4抑制剂类别

2.1 儿茶酚醚类

Rolipram (1)是第一代PDE-4抑制剂($IC_{50}=5\mu\text{mol/L}$),但易引起强烈的头晕、呕吐和头痛等不良反应,基因重组技术研究结果表明,这些副作用是由于高活性Rolipram结合位点(HARBS)与PDE-4结合所致。为了克服这些缺陷,设计了Rolipram的类似物,研究表明,与吡咯啉酮环相连的芳香环上3,4位的烷氧基是PDE-4抑制活性所必需,其中4位的最佳取代基是甲氧基,3位的大基团取代活性较高;在吡咯啉酮环的3位引入甲基和乙氧羰基,在N上引入苯基或苄基,活性有所下降;改进的PDE-4抑制剂药理模型证明,杂环的羰基氧原子和4位甲氧基的氧原子的最佳距离是8.6Å;吡咯啉酮环上的羰基丢失,会导致活性丧失,但相应的环烷基酮取代物(2)仍能保持活性;腈酸SB207499(3), $K_i=92\text{nmol/L}$,能抑制脂多糖(LPS)诱导的TNF α 释放,表现出良好的PDE-4抑制活性,现处于II/III期临床^[7];据报道^[6],环丙基化合物(4)和环硫氧化物(5)能在纳摩尔浓度下抑制PDE-4活性。

取代活性最佳,其中化合物(7)($IC_{50}=1\mu\text{mol/L}$)正处于临床试验阶段,用于治疗哮喘^[5]。Roflumilast(8)用于治疗哮喘、COPD等呼吸道炎症,已经处于III期临床,疗效和安全性良好^[8]。

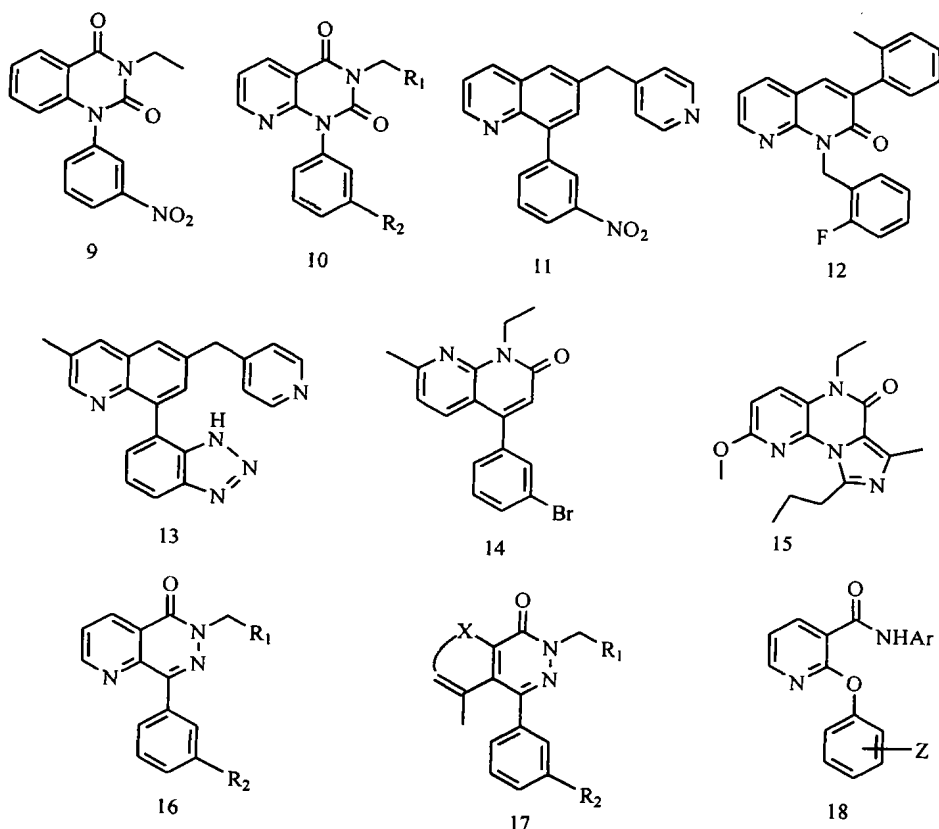


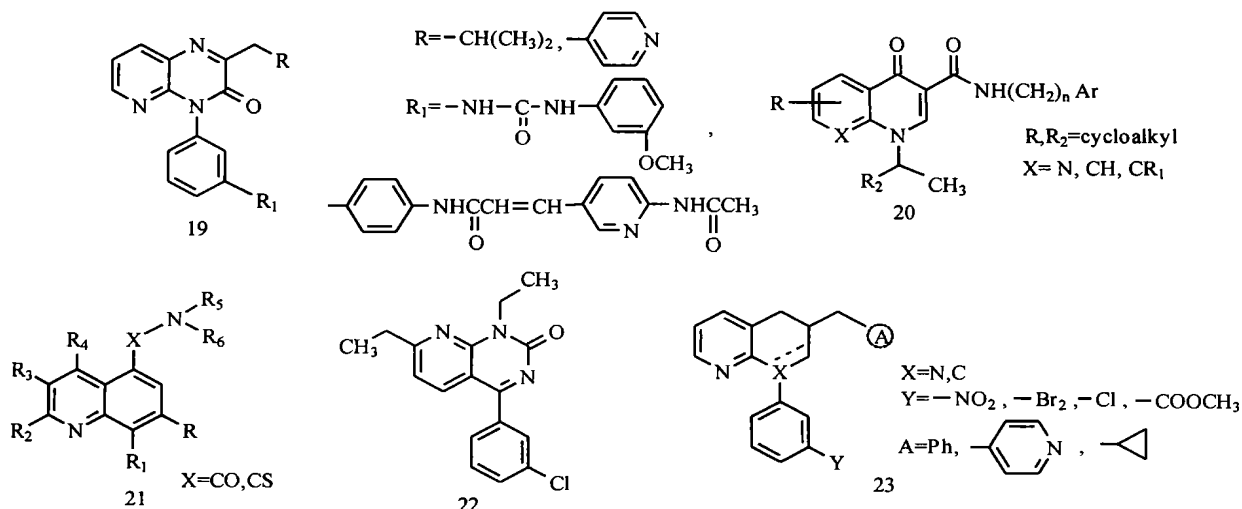
2.3 喹啉二酮类

这类化合物是以 Nitraquazone (9) ($IC_{50} = 1.9 \mu\text{mol/L}$) 为母体^[5], 构效关系研究表明, 3'- NO_2 可被吸电子基团 ($-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{COOCH}_3$) 取代, 以吡啶电子等排体取代苯, 并在 3 位 N 上引入大基团, 获得的化合物 (10) ($IC_{50} = 0.28 \text{ nmol/L}$) 其活性提高 4 倍; 将母体结构进一步简化, 得到喹啉化合物 RS14203 (11) ($IC_{50} = 0.023 \mu\text{mol/L}$), 它对 PDE-4 抑制活性最佳; 对母体结构进行部分简化得 Naftiridinones (12) ($IC_{50} = 0.14 \mu\text{mol/L}$); 保留 RS14203 的基本结构, 用苯噻唑基取代了 3' 硝基苯基得化合物 (13) ($IC_{50} = 0.71 \text{ nmol/L}$); 在化合物 (10) 的基础上, 将羰基和氮进行互换, 得化合物 (14) ($IC_{50} = 1.2 \text{ nmol/L}$) 和 (15) ($IC_{50} = 3 \mu\text{mol/L}$), 前者是将吡啶氮原子转移到对位上, 而后者以稠合的咪唑环系统代替苯环。与 Nitraquazone 相比, 化合物 (16) 同时引入苯-吡啶和噻啉酮-吡啉酮电子等排取代, 是纳摩尔级的选择性抑制剂。尽管化合物 (11)、(16) 的 PDE-4 抑制活性大大增强, 但副作用也明显增加, 限制了它们的进一步开发, 为了降低其副作用, 在原来的吡啉酮骨架基础上, 用一系列五元或六元杂环 (如吡咯、吡唑、1,2-二氢吡啶和噻吩环) 取代吡啶, 得到系列化合物 (17), 与 Rolipram 和化合物

(16) 相比, 该系列化合物在吡啉-2-N 位上的乙基取代使其在 PDE-4 抑制活性和与 HARBS 的结合力之间保持了较好的平衡, 提示它致吐的可能性将减小。烟酰胺醚 (18) 是由化合物 (10) 的噻啉二酮开环而得, 它对 PDE-4D 的选择抑制活性是对其他 PDE-4 亚型的 100 倍, 而且对 HARBS 的亲和力降低。在母体 4 位引入长链苯基, 得新型 PDE-4 抑制剂——吡啶并 [2,3-d] 吡啉酮类化合物 (19) ($IC_{50} = 20 \text{ nmol/L}$)^[5], 1997 年新型 PDE-4 抑制剂 (20)、(21) 被发现^[5], 它们具有和 Naftiridinones 及化合物 (13)、(14) 类似的骨架, 并含酰胺和磺酰胺功能基; YM 976 (22) ($IC_{50} = 2.2 \text{ nmol/L}$) 是一种新型 PDE-4 抑制剂, 口服有效, 治疗剂量下不引起呕吐, 目前处于 I 期临床^[9]。

药理学模型研究表明, Nitraquazone 类抑制剂应含有一个平面杂环结构, 一般由一个芳香稠合体系与一个杂环芳香体系或环烷烃体系通过一个 $-\text{CH}_2-$ 相连, 并与有 3' 位吸电子基团的系统直接相连, 如化合物 (23); Nitraquazone 的两个酰基可被 $=\text{N}-$ 和 $=\text{CH}-$ 取代, 3' 取代的芳香环可被另一些稠合的五元氮杂环或含有酰胺、脲功能基的亲脂性大基团取代, 4 位可以插入酰胺或磺酰胺, 仍具有 PDE-4 抑制活性。





2.4 黄嘌呤类

茶碱是这类化合物中最早被发现具有 PDE-4 抑制活性的化合物。早在 20 世纪 30 年代,茶碱就已用于治疗哮喘,其药理作用广泛,但对 PDE 抑制活性不强,选择性不高,因此人们对其进行结构修饰,合成了一系列类似物(见图 1)^[5, 10, 11]。其中, Dyphylline 已经在美国上市,用于治疗哮喘; Bamifylline 和 Doxofylline 在欧洲获准上市; Verofylline 正处于临床评价阶段;在茶碱 3 位引入 4 氯苯基得到 Arofylline,它与茶碱比较, PDE-4 抑制活性明显增强,没有中枢神经刺激作用,对心脏无影响,致吐作用较 Rolipram 下降了 25~30 倍,是一个很有前途的黄嘌呤类化合物,现处于 III 期临床,口

服治疗哮喘; Chiroscience 公司报道了一系列与 Arofylline 结构相似的 PDE-4 抑制剂,化合物 245412 的 PDE-4 抑制活性与 HARBS 亲和力的比值明显提高,豚鼠口服该化合物 10 mg/kg 能显著抑制由多种介质诱导的嗜酸性细胞增多,该化合物不会使白鼬发生呕吐和中枢神经反应; Isbufylline 的 PDE-4 抑制活性较弱,和肾上腺素受体的亲和力很低,在动物模型中没有显著的中枢神经系统和心血管副作用,能有效治疗哮喘,安全性和耐受性良好; Smith-Kline Beecham 公司以 Gpamifylline 为先导化合物,合成了一系列有效的 PDE-4 抑制剂,它们对 HARBS 和肾上腺素受体的亲和力大大降低。

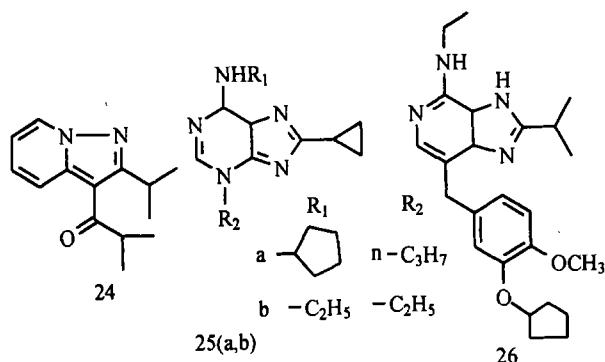
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Isbufylline	—CH ₃	—CH ₂ CH(CH ₃) ₂	—H	—CH ₃
Doxofylline	—CH ₃	—CH ₂ —	—H	—CH ₃
Dyphylline	—CH ₃	—CH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	—H	—CH ₃
Bamifylline	—CH ₃	—(CH ₂) ₂ N(C ₂ H ₅)(CH ₂) ₂ OH	CH ₂ C ₆ H ₅	—CH ₃
Cipamifylline	—CH ₂ —	—H	—NH ₂	—CH ₂ —
Verofylline	—CH ₂ CH(CH ₃)C ₂ H ₅	—CH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	—H	—CH ₃
Arofylline	p-Cl—C ₆ H ₄	—H	—H	—CH ₃
245412	m-O—CH ₃	—H	—H	—CH ₂ C ₆ H ₅

图 1 黄嘌呤类系列化合物结构

Ibudilast (24) 具有中度选择性 PDE-4 抑制活性, IC₅₀= 0.8^μmol/L, 已经在日本上市, 口服治疗哮喘。Euroceltique 公司发现了若干嘌呤、异鸟嘌呤和

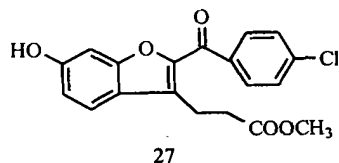
二硫代黄嘌呤类 PDE-4 抑制剂 (25), 其在 30nmol/L 浓度时能有效抑制牛气管平滑肌中 PDE-4 的活性^[5]。Napp 公司将黄嘌呤结构与 Rolipram 拼合,

发现了强效 PDE-4 选择性抑制剂 V11294A (26) ($IC_{50} = 200 \sim 300 \text{ nmol/L}$)^[8], 现处于 II 期临床, 用于治疗哮喘, 口服吸收良好, 无致吐作用, 作用时间达 24 h

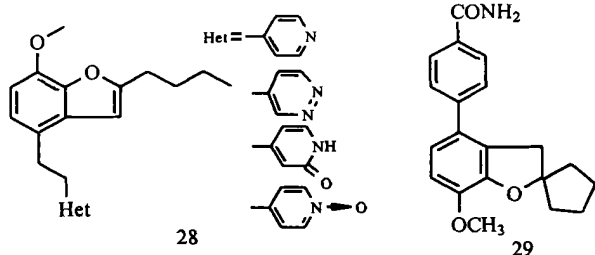


2.5 苯并咪喃类

将 Rolipram 的 3-环戊氧基-4-甲氧基结构替换成苯并咪喃环得化合物 (27), 它在 $1 \mu\text{mol/L}$ 浓度下能使 fMLP (N-formylmethionyl leucyl phenyl alanine) 刺激的人中性粒细胞内 cAMP 水平提高 4 倍。另一个 Rolipram 结构修饰物 (28) 在纳摩尔浓度下能明显抑制 PDE-4 活性^[12~14]。Byk Gulden 等发现 7-甲氧基螺苯并咪喃化合物 (29) ($IC_{50} = 10 \text{ nmol/L}$) 具有 PDE-4 抑制活性, 同时具有扩张支气管和抗炎作用^[15]。



27



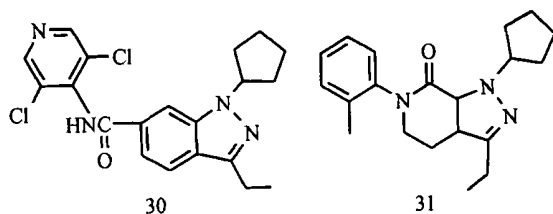
28

29

2.6 其他

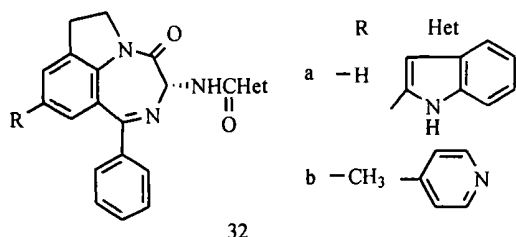
最新的一些 PDE-4 抑制剂属于杂色芳香化合物, 其具代表性的有苯并吡啶化合物 (30) 和吡啶并 [3,4-c] 吡啶化合物 (31)^[15]。Parke Davis 研究小组报道了苯并二氮草衍生物 (32)^[12], 构效关系研究表明, 五元稠合环是活性所必需, 具代表性的化合物 CI-1018 (32a) 是一个中度选择性 PDE-4 抑制剂 ($IC_{50} = 1.1 \mu\text{mol/L}$), 无致吐作用, 现处于 I 期临床试验^[8,12]。UCB Pharmacia 公司合成了一类新型 PDE-4 抑制剂 2,4,6-三取代三嗪化合物 (33) (IC_{50}

$= 150 \mu\text{mol/L}$), 具有支气管舒张作用^[5]。



30

31



32

33

3 结 语

目前 PDE-4 抑制剂已发展到第三代, 但仍面临许多问题: 生物利用度低, 体内半衰期短, 导致临床疗效不理想, 由于存在首过效应, Rolipram 的半衰期仅为 1~3 h, 生物利用度不到 5%, 其他 PDE-4 抑制剂 (如 CP29312) 尽管致吐作用大大减少, 但血浆蛋白结合率高, 生物利用度极低; 严重的肠胃不适和致吐作用直接影响药效的发挥, 这些副作用与剂量呈正相关。因此, 目前 PDE-4 抑制剂的研究和开发主要集中在寻找口服有效、具有抗炎活性和低致吐副作用的新型化合物, 可以从以下几个方面入手: ① 寻找高选择性的 PDE-4 亚型抑制剂 (分子生物学研究结果表明, PDE-4 又可分为 4 种亚型: PDE-4A、-4B、-4C 和 -4D, 不同的亚型结构组成不同, 生物学功能也不同), 化合物 V11294A 对 PDE-4D 的选择性是对其他亚型的 30 倍, 临床 I 期试验证明无致吐作用, 生物利用度大大提高, 目前针对 PDE-4 亚型的抑制剂, 已陆续进入临床试验; ② PDE-4 在细胞内有两种空间构象, 即对 Rolipram 的高亲和力构象 (PDE_H) 和低亲和力构象 (PDE_L), PDE_H 和 PDE_L 的分布具有细胞特异性, 而且 PDE_L 与药物的抗炎作用直接相关, PDE_H 与致吐作用等肠胃不适直接相关, 故药物设计应以此为出发点, 开发 PDE_L 选择性抑制剂。

参考文献:

- [1] 王晓英, 吴俊芳, 张均田. 选择性磷酸二酯酶抑制剂研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2000, 16(2): 121-123
- [2] 赵志方, 王嘉陵. 磷酸二酯酶及其抑制剂 [J]. 国外医学分子生物学分册, 2000, 22(2): 92-96.
- [3] Crocker C I, Townley R G. Therapeutic potential of phosphodiesterase 4 inhibitors in allergic diseases [J]. *Drugs Today*, 1999, 35(7): 519-535.
- [4] Teixeira M M, Gristwood R W. Phosphodiesterase (PDE) inhibitors antiinflammatory drugs of the future [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1997, 18(5): 164-171.
- [5] Vittorio D P, Maria P G. Phosphodiesterase 4 inhibitors, structurally unrelated to Rolipram, as promising agents for the treatment of asthma and other pathologies [J]. *Eur J Med Chem*, 2000, 35(5): 463-480.
- [6] Malcolm N P. Phosphodiesterase type IV inhibitors as antiinflammatory agents [J]. *Drugs Fut*, 1995, 20(8): 793-804.
- [7] Banette M S, Christensen S B. SB207499 (Ariflo), a potent and selective second-generation phosphodiesterase 4 inhibitor: in vitro antiinflammatory actions [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998, 284(1): 420-426.
- [8] Sorbera L A, Leeson P A, Castaner J. Roflumilast [J]. *Drugs Fut*, 2000, 25(12): 1261-1264.
- [9] Motonori A, Miki K, Jun I, et al. A novel phosphodiesterase type 4 inhibitor, YM976 (4-(3-chlorophenyl)-1, 7-diethylpyrido [2, 3-d] pyrimidin-2 (1H)-one), with little emetogenic activity [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 295(1): 255-260
- [10] Elisabeth B, John LW, Noella G, et al. Anti-inflammatory activities of a new series of selective phosphodiesterase 4 inhibitors derived from 9-benzyladenine [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 292(2): 647-653.
- [11] Hirokazu S, Hiroyuki S, Kenji Y, et al. Phosphodiesterase 4 isoenzyme inhibitory activity of 3-phenylxanthines and 4-phenyl [i] condensed-purines [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(2): 188-191.
- [12] Catherine B, Eric A, Nadine A, et al. Synthesis, structure-activity relationships, and pharmacological profile of 9-amino-4-oxo-1-phenyl-3, 4, 6, 7-tetrahydro [1, 4] diazepino [6, 7, 1-hi] indoles: discovery of potent, selective phosphodiesterase type 4 inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2000, 43(25): 4850-4867.
- [13] Dyke H, Lowe C, Montana J G, et al. Preparation of benzofurancarboxamides as PDE IV or TNF inhibitors [P]. *WO 9 744 337*, 1997-11-27.
- [14] Duke H, Kendail H, Lowe C, et al. Preparation of benzofurancarboxamides and sulfonamides for the treatment of inflammation and asthma [P]. *WO 9 720 833*, 1997-06-12.
- [15] Duplantier A J, Andreassen C J, Cheng J B, et al. 7-oxo-4, 5, 6, 7-tetrahydro-1H-pyrazolo [3, 4-c] pyridines as novel inhibitors of human eosinophil phosphodiesterase [J]. *J Med Chem*, 1998, 41(13): 2268-2277.

非水毛细管电泳在对映体分离中的应用

高 静, 刘文英

(中国药科大学药物分析教研室, 江苏 南京 210009)

摘要: 就分离机理、溶剂和选择剂的选择及其应用局限性等方面综述非水毛细管电泳 (NACE) 在对映体分离中的应用研究, 列举了近年来 NACE 应用于对映体分离的实例。

关键词: 非水毛细管电泳; 对映体分离; 非水介质; 手性选择剂

中图分类号: O657.8 文献标识码: A 文章编号: 1001-5094(2002)02-091-05

Application of Nonaqueous Capillary Electrophoresis in Enantiomeric Separations

GAO Jing, LIU Wen-ying

(Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract The studies on application of nonaqueous capillary electrophoresis (NACE) in