

先导化合物结构优化策略 (四)——改善化合物的血脑屏障通透性

洪 玉^{1,2}, 周 宇², 王 江², 柳 红^{1,2*}

(1. 中国药科大学药学院, 江苏 南京 210009; 2. 中国科学院上海药物研究所受体结构与功能重点实验室, 上海 201203)

摘要: 血脑屏障是人体的天然屏障, 它在保护中枢神经系统免受外来物质干扰和伤害的同时, 也阻碍了许多潜在的中枢神经系统药物进入中枢, 增加了中枢神经系统药物研发的难度。本文简述了化合物透过血脑屏障研究的最新进展, 从药物化学角度综述了几种通过结构优化改善化合物透过血脑屏障的方法, 旨在为中枢神经系统药物的优化提供思路。常用的几种改善化合物血脑屏障通透性的策略包括: 增加脂溶性、减少氢键供体、简化分子、增加刚性、降低极性表面积、剔除羧基、前药策略、修饰为主动转运体底物及规避易被 P-糖蛋白识别的结构等。

关键词: 血脑屏障; 结构优化; 药物设计; 中枢神经系统

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2014) 06-0789-11

Lead compound optimization strategy (4) —— improving blood-brain barrier permeability through structural modification

HONG Yu^{1,2}, ZHOU Yu², WANG Jiang², LIU Hong^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Key Laboratory of Receptor Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: Blood-brain barrier is a natural protection for human body. It protects central nervous system from the interruption and damage of xenobiotics. However, it prevents potential drugs aimed at central nervous system, thus becomes an obstruction for the development of central nervous system drugs. The recent development of blood-brain barrier permeability research and several lead optimization strategies to improve blood-brain barrier permeability are reviewed. These structure optimization methods include increasing lipophilicity, reducing hydrogen bond donors, simplifying molecule, increasing rigidity, lowering polar surface area, avoiding acid group, prodrug strategy, modifying into active transporter's substrates, as well as avoiding P-glycoprotein recognized structures.

Key words: blood-brain barrier; structure optimization; drug design; central nervous system

随着社会老龄化和竞争压力的增大, 中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 疾病已成为继心血管疾病之后的第二大疾病^[1]。然而, 中枢神经系统药物研发的成功率却很低, 与心血管疾病药物 20% 的成功率相比, 中枢药物的成功率只有 8%^[1]。影响中枢药物研发成功的一个主要因素就是血脑屏障

(blood-brain barrier, BBB), 几乎阻挡了 100% 的大分子药物及大于 98% 的小分子药物^[2]。因此, 除了需要具有较好的活性和代谢性质^[3]及较低的毒性^[4]等性质之外, 中枢神经系统药物还需要克服血脑屏障, 在中枢系统达到足够的暴露量, 这是中枢药物研发成功的关键前提。

本文基于化合物透过血脑屏障的最新研究概况, 综述了几种通过结构优化改善化合物透过血脑屏障的策略。这些策略包括增加脂溶性、减少氢键供体、

收稿日期: 2014-03-18; 修回日期: 2014-04-17.

基金项目: 国家杰出青年科学基金资助项目 (81025017).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-21-50807042, E-mail: hliu@mail.shnc.ac.cn

简化分子、增加刚性、降低极性表面积、剔除羧基、前药策略、修饰为主动转运体底物及规避易被 P-糖蛋白识别的结构等,期望这些改造策略能够为中枢神经系统药物的研发提供理论指导和实践经验。

1 血脑屏障及其转运机制

血脑屏障由脑毛细血管内皮及其细胞间的紧密连接、基底膜、周细胞以及星形胶质细胞等围成的神经胶质膜构成,其中内皮细胞是血脑屏障的主要结构,中枢药物必须透过内皮细胞才能进入脑细胞。除内皮细胞与星形胶质细胞等形成的物理屏障外,血脑屏障还包括各种酶与转运体形成的生化屏障^[5]。

血脑屏障通透机制包括被动扩散、主动转运和外排转运等。被动扩散是小分子药物进入大脑的主要方式。在正常情况下,脑毛细血管内皮细胞的有效孔径为 1.4~1.8 nm,直径小于 1.8 nm 的小分子可由被动扩散透过血脑屏障。主动转运是一类需要能量和载体蛋白参与的逆浓度差、逆电化学梯度的特殊转运方式。而外排转运系统主要通过 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 主动将毒性代谢物和异源性物质排出,以维持大脑正常的生理功能^[6](图 1)。

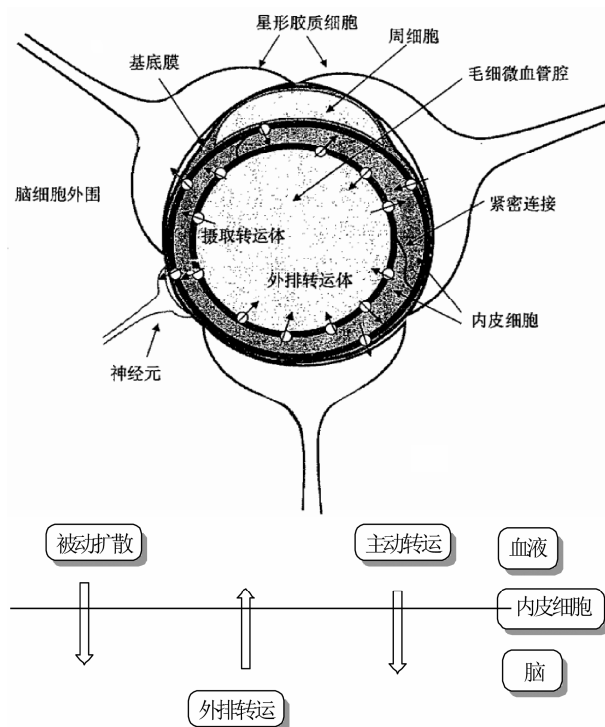


图 1 脑毛细血管截面示意图及血脑屏障的通透机制^[7]

2 评价血脑屏障的常用参数

2.1 评价血脑屏障的理化参数

与非中枢神经系统药物相比,氢键、脂溶性和分

子大小等理化性质较大地影响化合物的血脑屏障通透能力,如 ① 中枢神经系统药物脂溶性一般较高,其 $\text{Log}P$ 在 2~5 之间^[6]; ② 分子质量通常小于 450 Da^[8]; ③ 多为中性或弱碱性分子, $\text{p}K_a$ 在 7.5~10.5 之间^[5]; ④ 较少的氢键供体数目 (HBD),一般小于 3^[8]; ⑤ 较低的氢键结合能力, $\Delta\text{Log}P$ 通常小于 2^[7]; ⑥ 较低的分子极性表面积 (PSA),一般低于 90 Å² ^[8]; ⑦ 多为球形分子,增加支链会降低透过血脑屏障的能力^[8]; ⑧ 分子柔性较低,可旋转键数目少^[8](表 1)。

表 1 中枢药物的常用理化性质参数

主要参数	建议范围	评价
$\text{Log}P$	2~5 ^[6]	亲脂性分子更容易进入 CNS
MW	≤ 450 ^[8]	CNS 药物的分子通常较小
PSA	$< 90 \text{ Å}^2$ ^[8]	CNS 药物的 PSA 较小
$\text{p}K_a$	7.5~10.5 ^[5]	中性及弱碱性化合物易进入 CNS
HBD	< 3 ^[8]	CNS 药物的 HBD 数目较少
$\Delta\text{Log}P$	< 2 ^[7]	CNS 药物的 $\Delta\text{Log}P$ 更低
分子柔性	< 7 个环外的支链; 0~8 个可旋转键 ^[8]	CNS 药物的柔性更小

2.2 评价血脑屏障的实验参数

常用评价血脑屏障透过性质的实验参数包括:脑与血浆中全药浓度的比值 (B/P)、表观渗透系数 (P_{app})、外排率 (ER)、游离药物在脑与血浆中比值 ($K_{p,uu}$)、游离药物在血浆和脑及脑脊液中的浓度 ($C_{p,u}$ 、 $C_{b,u}$ 、 C_{CSF}) 等^[1](表 2)。

表 2 常用衡量血脑屏障通透性的实验参数. CNS⁺表示可进入中枢的化合物, CNS⁻表示不可进入中枢的化合物

主要参数	建议范围	评价
B/P	CNS ⁺ : B/P > 0.3 CNS ⁻ : B/P < 0.1 ^[9]	反映化合物的分布情况
P_{app}	CNS ⁺ : $P_{app} > 15 \times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ CNS ⁻ : $P_{app} < 15 \times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[8]	衡量化合物过脑速率
ER	CNS ⁺ : ER < 2.5 CNS ⁻ : ER > 2.5 ^[8]	反映化合物被运送出大脑的能力
$K_{p,uu}$	—	反映游离化合物的分布情况
$C_{p,u}$, $C_{b,u}$, C_{CSF}	—	评价药物在各组织中的游离浓度

3 血脑屏障常用参数的测定方法

血脑屏障常用参数的测定方法主要包括计算机预测、体外模型测试和体内模型测试等。计算机模拟具有高效快捷的优点,但是其准确性相对较差;体外测试高效快速,但与血脑屏障性质也存在一定的差异,准确度相对较高;体内测试可以提供准确的数据,但操作繁琐、花费较高,无法实现高通量。

3.1 计算机模拟

计算机模型的测定方法具有廉价、高效及快捷的优点, 常用于化合物库的筛选, 极大地节约了药物研发成本; 但因体内数据有限, 计算机模型的构建会受到影响, 使得不能准确预测化合物真实参数。

目前, 已经有多种商业软件可以用于血脑屏障常用参数的预测, 如 ADMETUS、Chemoffice、Physico-chemical property predictors、PhysChem 等软件可以预测 $\text{Log}P$; Chemoffice 等软件可以计算化合物的分子量和分子极性表面积; ADMETUS、Physico-chemical property predictors、PhysChem 等软件可以预测化合物的 pK_a ; ADMET predictor、PreADME、QikProp 等软件可预测化合物 B/P 和表观渗透系数; CSBBB 软件可预测化合物的 Log BB 值 (表 3)。

3.2 体外测定模型

体外血脑屏障通透性的测定模型虽然不能精确反映转运蛋白和酶等因素的影响, 但其快速且花费较低, 对药物研发早期的决策具有重要的指导意义。

体外测定的常用细胞模型有犬肾传代 (MDCK) 细胞、人结肠癌-2 (Caco-2) 细胞、膀胱癌 ECV304/C6 细胞模型, 以及磷脂膜色谱法 (IAM) 和平行人工膜渗透性测试 (PAMPA) 等非细胞技术^[10](表 4)。

另外, 还可以使用离体的脑血管和内皮细胞进行测定, 如小牛脑毛细血管内皮细胞 (BMEC) 模型等。这些方法较体内测定模型省时省力, 且保留了酶和转运体等特征; 但在体外培养的过程中, 转运体表会会逐渐降低, 且实验条件缺乏整体的神经-体液调节机制^[10]。

3.3 体内测定模型

体内测定模型可以提供准确的数据, 但是也存在筛选方法相对昂贵、操作繁琐且不能实现高通量筛选等缺点。常用的体内测定模型有体内药动学测

试、脑摄取指数、原位脑灌注、静脉注射法、定量自动射线照相法、脑微透析法、脑脊液测定法、正电子成像法和核磁共振成像法等^[10](表 5)。

4 通过结构优化改善血脑屏障透过性质

综合考虑中枢药物的特征及药物进出血脑屏障

表 4 体外血脑屏障通透性测定模型

测定模型	优点	缺点
MDCK 细胞	重现性好; 被动运输和外加测定更接近体内情况; 检测 P-糖蛋白外排最灵敏	外排转运体表达水平较低, 需进行细胞培养, 消耗人力多
Caco-2 细胞	适合定向进行 P-糖蛋白外排测试	与 BBB 差异较大
ECV304/C6 细胞	具有 BBB 的主要特征	无 P-糖蛋白的表达
IAM	与 Caco-2 等生物膜实验相关性良好	不能模拟双分子膜的扩散
PAMPA	适用于被动扩散模型, 与 Caco-2 模型和体内研究相关性好; 可以实现高通量筛选, 价格较低	缺少 BBB 的转运体; 只能测量血脑屏障的速率, 不能预测体内的 B/P

表 5 体内血脑屏障通透性测定模型

名称	优点	缺点
体内药动学测试 (B/P, K_p , $\log BB$)	数据可靠	筛选效率低, 费用高, 消耗资源多
脑摄取指数法	快速, 适合于易代谢的药物	药物在脑部暴露时间短, 注射的药物不能全部进入脑部
原位脑灌注	实验更加准确, 避免快速代谢	需同位素标记及对照化合物, 筛选效率较低
静脉注射技术	灵敏度高、实验难度小	需要放射性同位素标记及对照物, 增加实验难度
定量自动射线照相法	操作简单、花费较少	不能较好地地区分药物、代谢物及与蛋白结合的药物
脑微透析法	数据可靠、筛选高效、费用低	该法要求分析方法的灵敏度高, 缺乏转运体, 受非特异性结合影响
脑脊液测定法 ^[11]	取样难度低, 脑脊液周转迅速	易受外排等因素的影响
正电子成像	非侵入型、快速、重现性高、灵敏度高	药物、代谢物及结合蛋白的药物不易区分, 示踪物的准备较为复杂, 昂贵
核磁共振成像	非侵入型、灵敏度高	昂贵, 不宜作日常筛选方法

表 3 部分用于预测化合物理化性质参数及血脑屏障通透性的商业软件

软件名称	软件开发公司	网址
ADMETUS	中国科学院上海药物研究所药物发现与设计中心	http://202.127.19.75:8080/ADMET_Predictor/Desktop.jsp
Chemoffice	PerkinElmer	www.cambridgesoft.com
Physico-chemical property predictors	ChemAxon	www.chemaxon.com
PhysChem	ACD/Labs	www.acdlabs.com
ADMET predictor	Simulations Plus	www.simulationsplus.com
Volsurf+	Molecular Discovery	www.moldiscovery.com
QikProp	Schrodinger	www.schrodinger.com
CSBBB	ChemSilico	www.chemsilico.com
PreADME	Bioinformatics and Molecular Design Research Center	www.bmdrc.org

的特点, 通过结构优化可以有效地改善化合物透过血脑屏障的能力。常用的优化策略包括: 针对被动扩散的改造——增加脂溶性、减少氢键供体、简化分子、增加刚性、降低极性表面积、剔除羧基以及前药策略等; 针对主动运输的改造——将化合物修饰为主动转运体的底物; 针对外排率较高的化合物——规避易被外排转运体识别的基团。

4.1 针对被动扩散的改造策略

4.1.1 增加脂溶性 研究表明, 脂溶性高的化合物更易透过血脑屏障, 且能较快地达到分布平衡。因此, 在改善血脑屏障透过性质时, 可以通过引入脂溶性基团 (如氟、氯)、替换大极性基团等策略增加化合物的脂溶性。

如化合物 **4** (AZD3839) 是 AstraZeneca 公司^[12]报道的用于阿尔兹海默症治疗的 BACE1 抑制剂。研发过程中, 通过引入氟、甲基、二氟甲基等脂溶性基团增加化合物血脑屏障透过能力。在吡啶环引入氟后, 嘧啶环 2、6 位分别引入一个甲基得到化合物 **2**, 其 $e\text{LogD}$ 由 0.7 增加到 1.4, 同时 P_{app} 由 $3.4 \times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 提升至 $1.9 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$; 当嘧啶环 2 位引入甲氧基取代后 (**3**), 化合物 $e\text{LogD}$ 增加到 2.0, 同时 P_{app} 提升至 $2.1 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, 但该化合物甲氧基的存在使得其代谢稳定性较差; 当嘧啶环 2 位引入二氟甲基后 (**4**), 其 $e\text{LogD}$ 由 0.7 提高至 2.0, 同时 P_{app} 由 $3.4 \times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 提升至 $3.4 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, 大大增加了化合物的透膜性质。AstraZeneca 公司通过对化合物活性、Caco-2 细胞透膜性质、代谢稳定性、hERG 毒性等性质综合衡量后, 选择了化合物 **4** 作为临床候选药物, 目前该化合物处于临床 I 期研究中 (图 2)。

化合物 (*S*)-**8** (RG1678) 是 Roche 公司^[13]报道的第一个选择性 GlyT1 抑制剂, 用于精神分裂症的治疗。向化合物 **5** 引入氟后, 化合物 **6** 的脂溶性及脑通

透性均有一定的提高, 其 cLogP 由 3.92 提高至 4.13, B/P 由 1.10 提升至 1.15。引入极性的吡啶环时, 化合物 **7** 的脂溶性下降, cLogP 由 3.92 降为 2.82, B/P 由 1.10 降低至 0.2; 然而, 再次引入脂溶性的氟原子, 获得了活性和脑通透性质均更好的化合物 **8**。目前, 化合物 (*S*)-**8** 已经进入临床 II 期研究, 用于精神分裂症的治疗 (表 6)。

表 6 脂溶性对 GlyT1 抑制剂 B/P 的影响

编号	结构	GlyT1		
		$\text{EC}_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	cLogP	B/P
5		0.03	3.92	1.10
6		0.013	4.13	1.15
7		0.037	2.82	0.20
(<i>S</i>)- 8 (RG1678)		0.03	3.00	0.50

化合物 **11** (JNJ-42153605) 是 Janssen 公司^[14]研发的 mGlu2 受体正向变构调节剂, 是潜在的抗焦虑和治疗精神疾病的治疗药物。通过改变其骨架取代基 R_1 和 R_2 , 较大的改善了化合物的脂溶性。不同的取代基对给药后的血和脑内药物浓度有较为明显的影响。如当 R_1 为 $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ 时, 在 R_2 位引入脂溶性更强的 Cl 原子, 其脂溶性有了较大的提高 (化合物 **9** 和 **10**)。通过引入环丙甲基和 CF_3 取代基, 进一步改善了

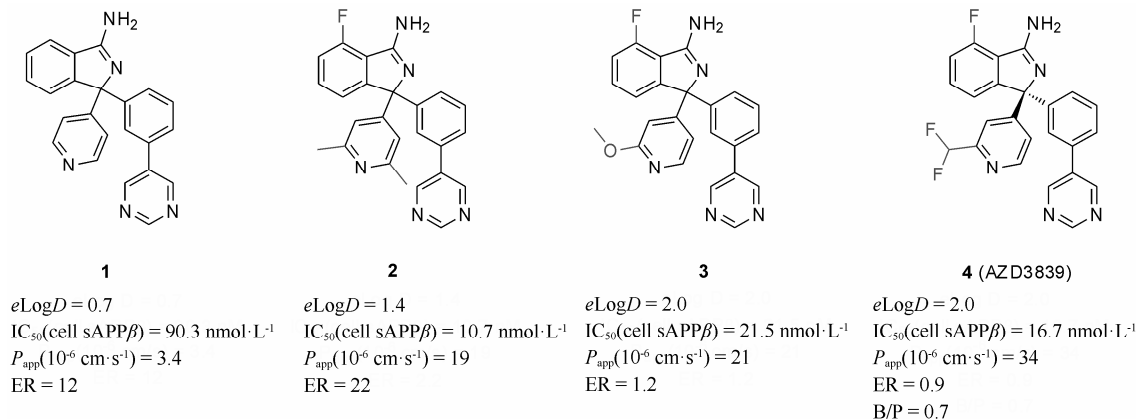


图 2 增加脂溶性提高 BACE1 抑制剂的表观渗透系数

化合物的脂溶性, 获得了临床候选化合物 **11** (表 7)。

表 7 脂溶性对 mGlu2 正向变构调节剂 B/P 的影响

编号	R ₁	R ₂	mGlu2 EC ₅₀ /nmol·L ⁻¹	cLogP	B/P
9		CN	696	3.3	0.2
10		Cl	55	4.6	1.8
11 (JNJ-42153605)		CF ₃	17	5.3	1.3

化合物 **12** 是喹啉类 5-HT₃ 激动剂, 可调节中枢的乙酰胆碱释放, 用于神经变性和失调疾病的治疗^[6, 15]。然而大鼠静脉给药后, 化合物 **12** 血脑屏障通透性较差, 其 B/P 值仅为 0.1。通过引入极性较小的羟甲基后, 化合物 **13** 的脂溶性大大提高, cLogP 由 0.19 升高至 2.3, B/P 达到 20.3。化合物 **12** 具有羧基, 在生理条件下, 易在体内以离子状态存在, 难以透过血脑屏障, 通过羟甲基替代羧基, 不仅使化合物的脂溶性有了较大的提高, 同时避免了羧酸基团, 极大地改善了化合物的血脑屏障通透性 (图 3)。

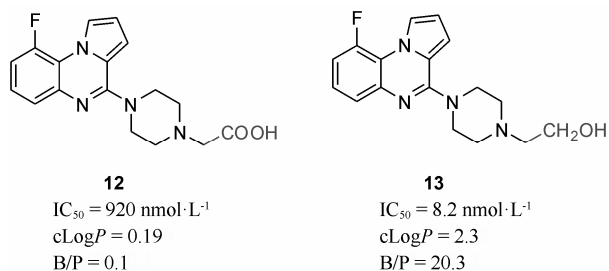


图 3 增加脂溶性对 5-HT₃ 激动剂 B/P 的影响

增加化合物的脂溶性可以有效的改善血脑屏障通透性, 然而也可能对血脑屏障通透性带来负面效应。按照“药理学规则”^[7], 增加化合物的脂溶性往往会增加其在脑中的非特异性结合, 这将会降低脑细胞外液中游离化合物的浓度, 从而降低化合物的活性。因此, 进行脂溶性的结构改造时要注意平衡各项参数, 既要优化化合物的通透性, 又要减少与脑蛋白的非特异性结合, 提高脑内的药物浓度。

4.1.2 减少氢键供体 中枢药物普遍具有更少的氢键供体数目, 且许多具有裸露 NH 的化合物具有较为明显的 P-糖蛋白外排, 故减少化合物氢键供体是中

枢药物优化的重要改造策略之一。常用减少氢键供体的方法包括: 封闭氢键供体、生物电子等排替换氢键供体及形成分子内氢键等。

化合物 **14** 是 GlaxoSmithKline 公司^[16]报道的 CB₂ 激动剂先导化合物, 在急性疼痛模型中有较好活性 (EC₅₀ = 11 nmol·L⁻¹), 但该化合物结构中的咪唑环含有裸露的 NH, 为 P-糖蛋白底物, 存在较为显著的外排 (ER = 74), 所以在大鼠脑中的通透性较差, B/P 小于 0.05。直接对咪唑环裸露的 NH 进行 N-甲基化得到的化合物活性有了较为明显的降低 (EC₅₀ = 654 nmol·L⁻¹)。通过对化合物骨架的修饰, 引入了含有 5-氮杂咪唑环的异构体, 并通过 N-甲基化封闭咪唑的氢键供体, 得到衍生物 **15**, 其外排率降低为 2.9, B/P 升高至 1.04, 同时保持了较好的 CB₂ 激动活性 (EC₅₀ = 8 nmol·L⁻¹) (图 4)。

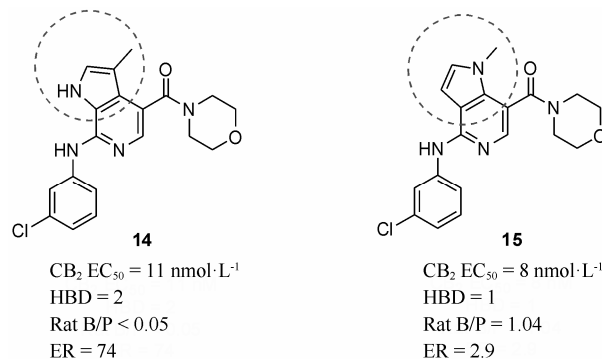


图 4 减少氢键供体对 CB₂ 激动剂 B/P 的影响

化合物 **16** 是 Lundbeck 公司与中国科学院上海药物研究所^[17]通过高通量筛选获得的 GPR139 激动剂, 该化合物 B/P 仅为 0.03。采用生物电子等排策略, 引入亚甲基替换胺基, 减少氢键供体数目, 同时规避了易被 P-糖蛋白识别的脲结构, 得到衍生物 **17**, 其 B/P 值升高到 2.8, 是化合物 **16** 的 93 倍 (图 5)。

化合物 **18** 是 Valerie 等^[18]设计的选择性 NK₁ 受体拮抗剂, 可用于镇痛药物的研发。该化合物具有极

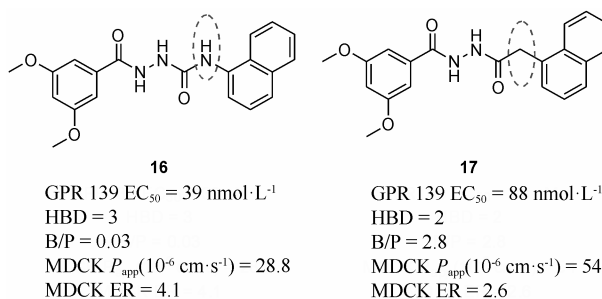


图 5 减少氢键供体对 GPR139 激动剂 B/P 的影响

好的活性和药代动力学性质 ($IC_{50}=1.05\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $F=50\%\sim 60\%$, $t_{1/2}>6\text{ h}$), 但其血脑屏障通透性较低, B/P 仅为 0.6。化合物 **19** 通过引入 *N,N*-二甲氨基与邻近的两个酰胺键的 NH 形成了分子内氢键, 提高了血脑屏障通透性, B/P 达到 6.0, 是 **18** 的 10 倍, 同时活性得到保持 ($IC_{50}=0.46\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 6)。

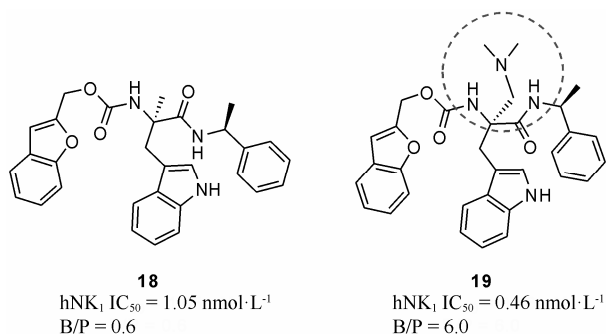


图 6 分子内氢键对 NK₁ 受体拮抗剂 B/P 的影响

4.1.3 简化结构 对化合物结构进行简化, 从而减小体积和降低相对分子质量, 可以有效改善化合物的脑通透性, 增加中枢的药物浓度。mGlu4 受体正向变构调节剂是帕金森症的潜在治疗药物, 但是报道的大部分 mGlu4 受体正向变构调节剂具有类药性、药代动力学性质或血脑屏障通透性差的不足, 如化合物 **20** 具有较好的 mGlu4 受体正向变构调节活性, 但是其脑通透性较差, B/P 不足 0.1; 而结构简化的化合物 **21** 和 **22** 的脑通透性则大大提高, 尤其是化合物 **22** 的 B/P 值可达到 4.1, 有效地改善了化合物的脑通透性。Jones 等^[19]通过进一步的结构修饰, 最终获得

活性和脑通透性均适中的化合物 **23** (ML182), 用作 mGlu4 受体正向变构调节剂工具分子, 在氟哌啶醇介导的肌肉僵直模型中表现出较好的疗效 (图 7)。

化合物 **24~27** 是 Johnson & Johnson 公司^[20]报道的 γ -分泌酶调控剂。在对其进行 SAR 研究时, 发现化合物脑通透性呈现较为明显的随分子减小而增大的趋势。如将 R₁ 中的三氟甲基苯基简化为苯基时, 化合物 B/P 值提升至 0.34; 去掉 R 取代基, 化合物 B/P 值进一步提高; 将 R₁ 位的苯基替换为甲基时, 化合物的 B/P 值达到 0.88, 获得了更好的脑通透性 (表 8)。

表 8 分子大小对 γ -分泌酶调控剂 B/P 的影响

编号	R	R ₁	$A\beta_{42}$ $IC_{50}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	MW	B/P
24	Me	2-CF ₃ -Ph	26	477.18	0.24
25	Me	Ph	78	409.19	0.34
26	H	Ph	339	395.17	0.66
27	H	Me	442	333.16	0.88

化合物 **13** 是一个 5-HT₃ 激动剂, 羟甲基被羰基置换后, 化合物 **28** 的脂溶性得到较大的提高 (cLogP 由 2.3 提高到 6.0), 但是其 B/P 值却下降到 2.8, 这可能是由于羰基的引入增大了分子体积, 使透过血脑屏障的能力下降。同样, 在化合物 **29** 和 **30** 的改造中, 也发现了类似的规律。因此, 在改善化合物血脑屏障通透性时, 需综合考虑分子大小等因素, 不能盲目引

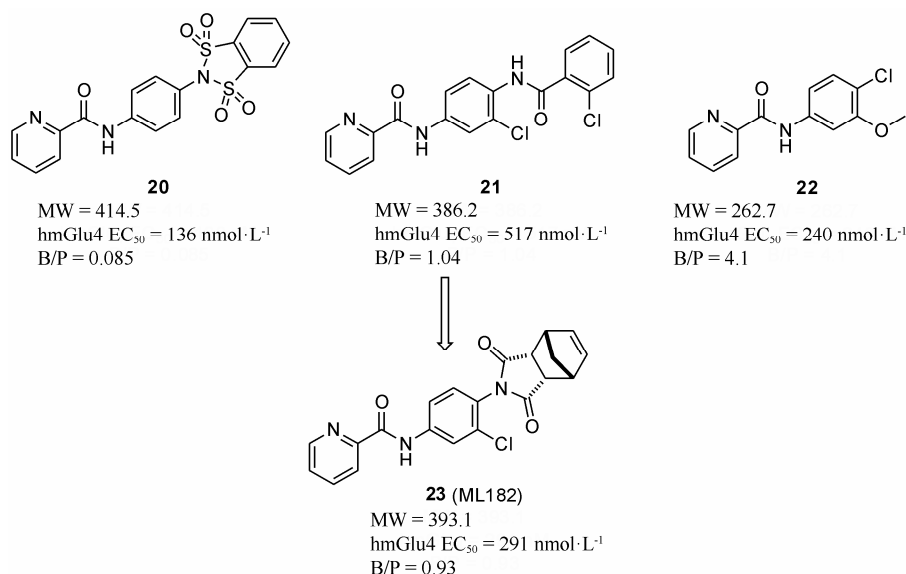


图 7 相对分子质量对 mGlu4 正向变构调节剂 B/P 的影响

入脂溶性大基团来调节脑通透性^[6, 15](图 8)。

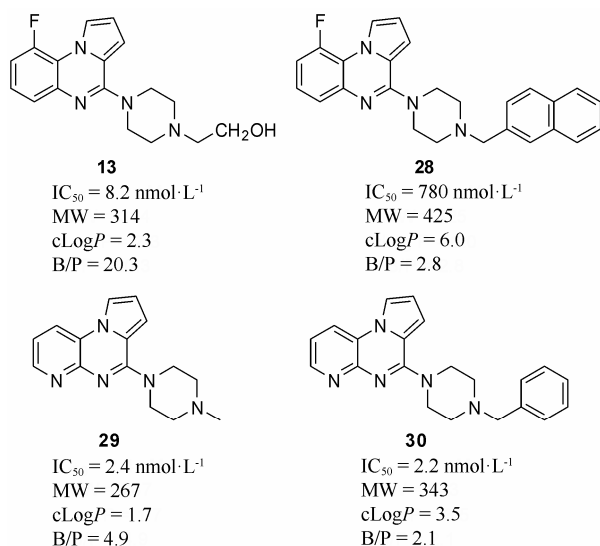


图 8 分子大小对 5-HT₃ 激动剂 B/P 的影响

4.1.4 增加刚性 中枢神经系统药物普遍含有更低的分子柔性, 因此通过成环等手段增加分子刚性也是改善化合物血脑屏障通透性的策略之一。化合物 **31** (SB-271046) 是第一个进入临床 I 期的 5-HT₆ 受体选择性拮抗剂, 但因其血脑屏障通透性较差 ($B/P = 0.05$) 被中止研发。GlaxoSmithKline 公司^[21]通过对其骨架进行修饰形成骈环, 增加了分子刚性, 成环后化合物 **32**~**34** 的 B/P 值均有较为明显的提升, 分别达到 3.0、2.6 和 0.7, 明显改善了化合物的脑通透性(图 9)。

化合物 **35** 是 Wyeth 公司^[22]研发的胍类 BACE1 抑制剂, 其脑通透性较低, B/P 仅为 0.04。将胍基替换为 2-氨基吡啶, 增加了分子刚性, 有效地增加了化合物的脑通透性, 化合物 **36** 的 B/P 值升高至 1.7, 是化合物 **35** 的 42 倍(图 10)。

4.1.5 降低极性表面积 近年来, 分子极性表面积

(PSA) 参数引起了人们越来越多的关注^[23], 中枢药物的分子极性表面积较其他治疗领域药物分子更小。降低化合物的分子极性表面积, 可以有效的增加化合物的血脑屏障通透性。化合物 **38** (URMC-099) 是 Biofocus 公司^[24]报道的蛋白激酶 3 (MLK3) 抑制剂, 可用于帕金森及伴随 HIV-1 的认知失调的治疗。在其研发中, 通过降低化合物 **37** 的分子极性表面积获得化合物 **38** (PSA 从 72 Å² 降低至 51 Å²), 有效地增加了化合物的脑通透性, 最大脑浓度 $C_{\max}$ 由 3 736 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 提高至 4 685 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 同时 B/P 由 0.99 提高至 1.6 (表 9)。

4.1.6 剔除羧基 含有羧基的药物在体内 pH 条件下易以离子形式存在, 难以透过血脑屏障而发挥药

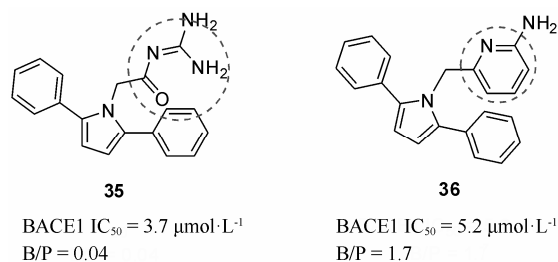


图 10 增加分子刚性对 BACE 抑制剂 B/P 的影响

表 9 分子极性表面对 MLK3 抑制剂 B/P 的影响

化合物	PSA/Å ²	MLK3 $IC_{50}/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$C_{\max}/\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	B/P
37	72	3	3 736	0.99
38 (URMC-099)	51	14	4 685	1.6

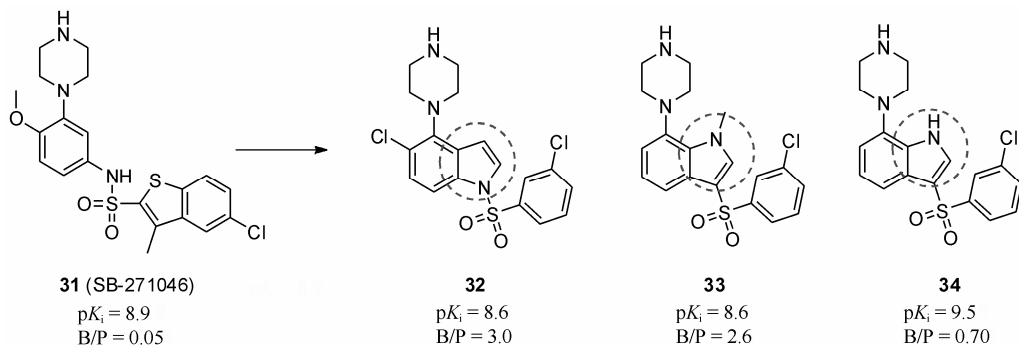


图 9 增加分子刚性对 5-HT₆ 受体选择性拮抗剂 B/P 值的影响

效。因此,在中枢药物设计时,应尽量规避羧酸基团。如 Bristol-Myers Squibb 公司^[25]开发的第一代 γ -分泌酶抑制剂 **39**, 由于羧基的存在,使得脑通透性较差,其 B/P 值仅为 0.2, 在临床 I 期试验中被终止。他们在此基础上剔除了羧酸基团,研发出第二代 γ -分泌酶抑制剂 **40** (BMS-708163), 其 B/P 值获得了较大的突破,由 0.2 提高至 2.4, 且活性也获得一定的提升。目前,该化合物已经进行临床 II 期试验,用于阿尔兹海默症的治疗 (图 11)。

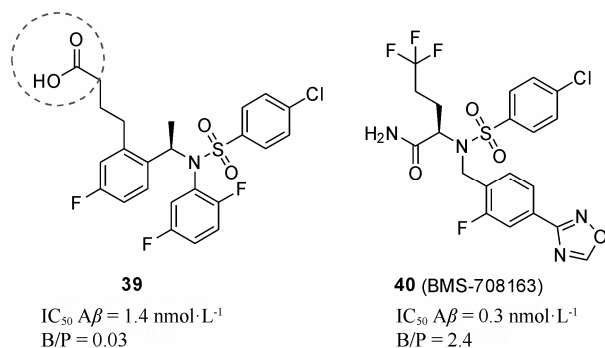


图 11 剔除羧酸基团对 γ -分泌酶 B/P 的影响

4.1.7 前药策略 通过对化合物进行前药修饰是中枢药物研发的常用策略之一。前药修饰策略通常包括酯化、酰化、酰胺化和拼合等^[26]。经典的前药包括镇痛药吗啡的乙酰化药物海洛因、神经递质左旋多巴的酯化药物左旋多巴甲酯和左旋多巴乙酯、赛奥芬的乙酰化前药乙酰化赛奥芬及酯化前药醋托酚等^[27]。

化学递送系统 (chemical delivery system, CDS)^[28] 是一种较为独特的前药递送方式 (图 12)。活性化合物需要与二氢吡啶等片段进行拼合, 形成脂溶性前药, 进而快速达到中枢及外周的分布平衡。达到分布平衡后, 二氢吡啶部分氧化形成渗透性较差的吡啶盐, 中枢外的吡啶盐可以被快速清除, 而中枢系统中的吡啶盐则会停留在中枢系统, 通过水解缓慢释放出活性化合物。采用化学递送系统的前药修饰策略, 可以有效增加药物进入中枢系统的浓度^[28]。但二氢吡啶前药不稳定, 需要注射给药^[6]。

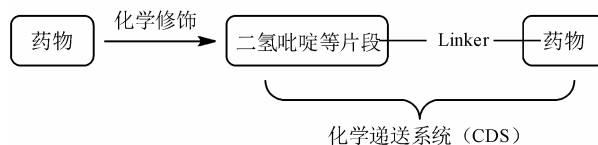


图 12 化学递送系统示意图

将 γ -分泌酶抑制剂 **41** 与 *N*-甲基二氢吡啶片段拼合, 形成化学递送系统前药 **42**。其给药后, 2 h 脑浓度可达到 $345 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 约为化合物 **41** ($240 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$) 的 1.5 倍。因此, 通过化学递送系统前药修饰, 可以有效改善化合物的脑通透性, 增加了化合物的脑内浓度 (图 13)^[6]。

4.2 修饰为主动转运体底物

对于不能通过被动扩散进入中枢神经系统的化合物, 可以将其修饰为主动转运体的底物以增加其进入中枢系统的能力, 提高脑内化合物浓度。尽管化合物需同时与靶标蛋白和转运体结合, 在一定程度上限制了该策略的广泛应用^[6], 但是该方法能有效改善某些化合物的跨膜能力, 具有良好的应用前景。目前研究较多的主动转运体主要包括: 氨基酸转运体 (LAT1)、葡萄糖转运体 (GLUT1)、钠依赖转运体 (SVCT2)、单羧酸转运体 (MCT1)、阳离子氨基酸转运体 (CAT1) 和核苷转运体 (CNT2) 等。

中枢神经介质多巴胺 (dopamine, **44**) 具有儿茶酚基结构, 在体内生理 pH 的条件下易完全电离并以质子化形式存在, 极难通过血脑屏障。多巴胺的前体化合物左旋多巴 (**43**) 具有氨基酸结构, 可以被氨基酸转运体识别; 透过血脑屏障后, 在脑内脱羧酶的作用下, 脱羧生成多巴胺而发挥药理作用^[28]。NMDA 受体拮抗剂 *L*-4-氯犬尿素 (**45**) 也是利用该方式进入中枢神经系统, 进而发挥药效^[28] (图 14)。

另外, 通过与转运体的底物拼合也是增加药物进入中枢能力的改造策略之一。如将化合物 **47** 和 **49** 分别与 *L*-酪氨酸^[28]、葡萄糖^[29]、*L*-抗坏血酸^[6] 进行拼合, 可使得化合物易被氨基酸转运体、葡萄糖转运体和钠依赖转运体识别, 增强化合物脑通透性, 提高化

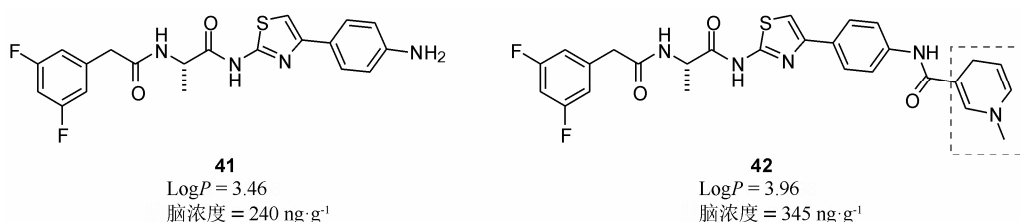


图 13 CDS 增加 γ -分泌酶抑制剂的脑浓度

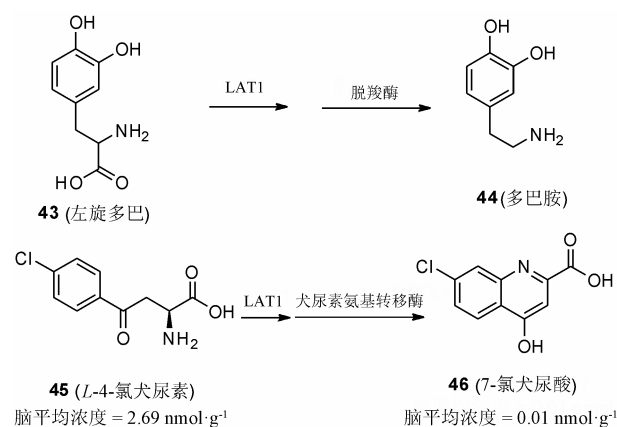


图 14 通过修饰为转运体底物的策略增加脑通透性

合物脑内含量 (图 15)。

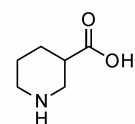
4.3 减少外排

外排使得中枢药物研发变得更加复杂。中枢的外排转运体包括 P-糖蛋白 (P-gp) 转运体、多药耐药蛋白 (MRP) 转运体、乳腺癌耐药蛋白 (BCRP) 转运体、有机阴离子转运体 (OAT) 和谷氨酸转运体 (EAAT) 等, 其中 P-糖蛋白是最主要的外排转运体。为减少化合物的 P-糖蛋白外排, 化合物不仅要符合非 P-糖蛋白底物的一般理化特征 (如氮氧数目之和不大 4, 相对分子质量小于 400, p*K*_a 小于 8 等^[10]), 还应尽量避开易被 P-糖蛋白识别的基团, 如含有 NH 的杂环、磺胺基、脲等^[30]。

4.3.1 含有 NH 杂环的结构优化 化合物 **52** 是 Merck 公司^[31]发现的 OX₁/OX₂ 双重抑制剂的先导化合物, 用于睡眠失调治疗药物的研发。尽管化合物 **52** 具有较好的生物活性 (hOX₁ *K*_i = 28 nmol·L⁻¹, hOX₂ *K*_i = 1 nmol·L⁻¹), 但是对其 SAR 研究发现化合物 **52** 和 **53** 都是 P-糖蛋白的底物, 其外排率高达 6.8 和 13。他们通过 *N*-甲基化, 封闭了 P-糖蛋白的识别的杂环 NH, 使化合物 **54** 和 **55** 外排明显下降 (ER=2), 提高了脑内化合物含量 (表 10)。

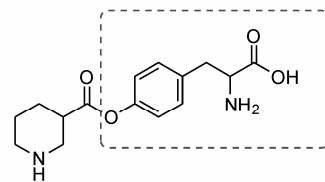
4.3.2 磺胺基的结构改造 化合物 **56** 是 Glaxo Smith Kline 公司^[32]报道的 AMPA 受体正向变构调节剂, 用

氨基酸转运体



47 (哌啶甲酸)

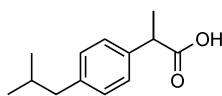
组内单个动物最大
癫痫响应值 = 3.44



48

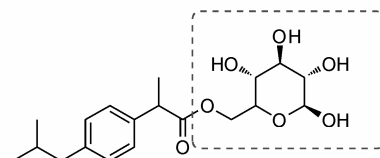
组内单个动物最大癫痫响应值 = 0.4

葡萄糖转运体



49 (布洛芬)

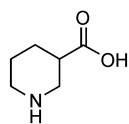
脑浓度 = 17.37 mg·L⁻¹
AUC = 1931.84 μg·mL⁻¹·min⁻¹



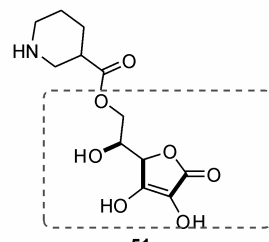
50

脑浓度 = 54.59 mg·L⁻¹
AUC = 5800.48 μg·mL⁻¹·min⁻¹

钠依赖转运体



47 (哌啶甲酸)
延迟痉挛百分率
低于检测限



51

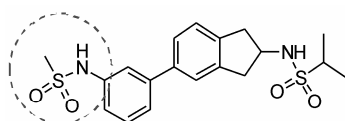
延迟痉挛百分率 = 50%

图 15 药物与转运体底物拼合

表 10 *N*-甲基化对 OX₁/OX₂ 双重抑制剂外排率 (ER) 的影响

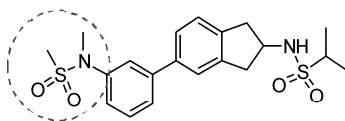
52 X = S, R = H
53 X = CH₂, R = H
54 X = S, R = Me
55 X = CH₂, R = Me

编号	<i>K</i> _i /nmol·L ⁻¹		外排率
	hOX ₁	hOX ₂	
52	28	1	6.8
53	130	11	13
54	9	0.3	2
55	49	2	2



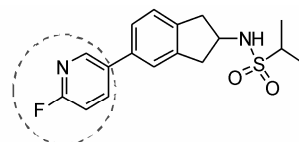
56

hGluA2 pEC₅₀ = 6.1
HBD = 2
B/P = 0.1
ER = 5.8



57

hGluA2 pEC₅₀ = 5.9
HBD = 1
B/P = 0.4
ER = 3.2



58

hGluA2 pEC₅₀ = 5.6
HBD = 1
B/P = 2.1
ER = 1.1

图 16 规避磺胺基对 AMPA 受体正向变构调节剂 B/P 和 ER 的影响

于阿尔兹海默症、帕金森症、抑郁症和注意力缺陷多动症等的治疗。口服后在体内的 B/P 值仅为 0.1。研究发现该化合物是 P-糖蛋白的底物 (ER = 5.8), 通过对磺胺进行 *N*-甲基化, 化合物 **57** 的外排率降低至 3.2, 其 B/P 由 0.1 提高到 0.4; 引入 2-氟吡啶环后, 化合物不再是 P-糖蛋白底物, 外排率降低为 1.1, B/P 升高至 2.1, 有效地提高了脑内药物浓度 (图 16)。

5 总结与展望

近年来, 全球范围内中枢神经系统药物发展迅猛, 但是血脑屏障的存在使很多活性化合物不能进入中枢神经系统发挥药效, 因此如何使活性化合物透过血脑屏障成为近年来研究的热点, 也是中枢神经系统药物开发中亟待解决的难题。

通过增加分子的脂溶性、降低氢键数目和减小分子大小、将化合物修饰成主动转运体底物或者规避易被外排转运体识别的结构, 可以有效改善化合物血脑屏障通透性、提高脑内浓度; 但是对化合物进行结构修饰时, 仍需综合考虑药物的理化性质、结构及靶点特点等, 通过合理的结构优化, 使药物达到活性、代谢及毒性及脑暴露量的最佳平衡, 才能有效提高中枢神经系统药物的研发成功率。

随着人们对血脑屏障研究的日益成熟, 相信会有许多很有价值的治疗中枢神经系统疾病的药物问世, 为患者带来福音, 同时也为社会产生巨大的经济效益。

References

- [1] Di L, Rong H, Feng B. Demystifying brain penetration in central nervous system drug discovery [J]. *J Med Chem*, 2013, 56: 2–12.
- [2] Gabathuler R. Approaches to transport therapeutic drugs across the blood-brain barrier to treat brain diseases [J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 37: 48–57.
- [3] Wang J, Liu H. Lead compound optimization strategy (1) – changing metabolic pathways and optimizing metabolism stability [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2013, 48: 1521–1531.
- [4] Liu H, Wang J, Lin D, et al. Lead compound optimization strategy (2) – structure optimization strategy for reducing toxicity risks in drug design [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2014, 49: 1–15.
- [5] Palmer AM, Alavijeh MS. Translational CNS medicines research [J]. *Drug Discov Today*, 2012, 17: 1068–1078.
- [6] Hitchcock SA, Pennington LD. Structure-brain exposure relationships [J]. *J Med Chem*, 2006, 49: 7559–7583.
- [7] Kerns E, Di L. *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods: from ADME to Toxicity Optimization* [M]. Beijing: Academic Press, 2008: 122–135, 311–328.
- [8] Ghose AK, Herbertz T, Hudkins RL, et al. Knowledge-based, central nervous system (CNS) lead selection and lead optimization for CNS drug discovery [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2012, 3: 50–68.
- [9] Di L, Kerns EH, Carter GT. Strategies to assess blood-brain barrier penetration [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2008, 3: 677–687.
- [10] Mensch J, Oyarzabal J, Mackie C, et al. *In vivo, in vitro* and *in silico* methods for small molecule transfer across the BBB [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98: 4429–4468.
- [11] Lin JH. CSF as a surrogate for assessing CNS exposure: an industrial perspective [J]. *Curr Drug Metab*, 2008, 9: 46–59.
- [12] Swahn BM, Kolmodin K, Karlstrom S, et al. Design and synthesis of β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme (BACE1) inhibitors with *in vivo* brain reduction of β -amyloid peptides [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 9346–9361.
- [13] Pinard E, Alanine A, Alberati D, et al. Selective GlyT1 inhibitors: discovery of [4-(3-fluoro-5-trifluoromethylpyridin-2-yl)piperazin-1-yl][5-methanesulfonyl-2-((S)-2, 2, 2-trifluoro-1-methylethoxy) phenyl] methanone (RG1678), a promising novel medicine to treat schizophrenia [J]. *J Med Chem*, 2010, 53: 4603–4614.
- [14] Cid JM, Tresadern G, Vega JA, et al. Discovery of 3-cyclopropylmethyl-7-(4-phenylpiperidin-1-yl)-8-trifluoromethyl [1, 2, 4] triazolo [4, 3-a] pyridine (JNJ-42153605): a positive allosteric modulator of the metabotropic glutamate 2 receptor [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 8770–8789.
- [15] Campiani G, Morelli E, Gemma S, et al. Pyrroloquinoxaline derivatives as high-affinity and selective 5-HT₃ receptor agonists: synthesis, further structure-activity relationships, and biological studies [J]. *J Med Chem*, 1999, 42: 4362–4379.
- [16] Giblin GM, Billinton A, Briggs M, et al. Discovery of 1-[4-(3-chlorophenylamino)-1-methyl-1*H*-pyrrolo [3, 2-*c*] pyridin-7-yl]-1-morpholin-4-ylmethanone (GSK554418A), a brain penetrant 5-azaindole CB₂ agonist for the treatment of chronic pain [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 5785–5788.
- [17] Shi F, Shen JK, Chen D, et al. Discovery and SAR of a series of agonists at orphan G protein-coupled receptor 139 [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2011, 2: 303–306.
- [18] Ashwood VA, Field MJ, Horwell DC, et al. Utilization of an intramolecular hydrogen bond to increase the CNS penetration of an NK₁ receptor antagonist [J]. *J Med Chem*, 2001, 44: 2276–2285.
- [19] Jones CK, Engers DW, Thompson AD, et al. Discovery,

- synthesis, and structure-activity relationship development of a series of *N*-4-(2, 5-dioxopyrrolidin-1-yl) phenylpicolinamides (VU0400195, ML182): characterization of a novel positive allosteric modulator of the metabotropic glutamate receptor 4 (mGlu4) with oral efficacy in an antiparkinsonian animal model [J]. *J Med Chem*, 2011, 54: 7639–7647.
- [20] Bischoff F, Berthelot D, De Cleyn M, et al. Design and synthesis of a novel series of bicyclic heterocycles as potent γ -secretase modulators [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 9089–9106.
- [21] Ahmed M, Briggs MA, Bromidge SM, et al. Bicyclic heteroaryl piperazines as selective brain penetrant 5-HT₆ receptor antagonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 4867–4871.
- [22] Malamas MS, Barnes K, Hui Y, et al. Novel pyrrolyl 2-aminopyridines as potent and selective human β -secretase (BACE1) inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20: 2068–2073.
- [23] Clark DE. What has polar surface area ever done for drug discovery? [J]. *Fut Med Chem*, 2011, 3: 469–484.
- [24] Goodfellow VS, Loweth CJ, Ravula SB, et al. Discovery, synthesis, and characterization of an orally bioavailable, brain penetrant inhibitor of mixed lineage kinase 3 [J]. *J Med Chem*, 2013, 56: 8032–8048.
- [25] Gillman KW, Starrett JE Jr, Parker MF, et al. Discovery and evaluation of BMS-708163, a potent, selective and orally bioavailable γ -secretase inhibitor [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2010, 1: 120–124.
- [26] Sozio P, Cerasa LS, Abbadessa A, et al. Designing prodrugs for the treatment of Parkinson's disease [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2012, 7: 385–406.
- [27] Denora N, Trapani A, Laquintana V, et al. Recent advances in medicinal chemistry and pharmaceutical technology-strategies for drug delivery to the brain [J]. *Curr Top Med Chem*, 2009, 9: 182–196.
- [28] Pavan B, Dalpiaz A, Ciliberti N, et al. Progress in drug delivery to the central nervous system by the prodrug approach [J]. *Molecules*, 2008, 13: 1035–1065.
- [29] Chen Q, Gong T, Liu J, et al. Synthesis, *in vitro* and *in vivo* characterization of glycosyl derivatives of ibuprofen as novel prodrugs for brain drug delivery [J]. *J Drug Target*, 2009, 17: 318–328.
- [30] Hitchcock SA. Structural modifications that alter the P-glycoprotein efflux properties of compounds [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 4877–4895.
- [31] Bergman JM, Roecker AJ, Mercer SP, et al. Proline bis-amides as potent dual orexin receptor antagonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 1425–1430.
- [32] Ward SE, Harries M, Aldegheri L, et al. Discovery of *N*-[(2*S*)-5-(6-fluoro-3-pyridinyl)-2, 3-dihydro-1*H*-inden-2-yl]-2-propanesulfonamide, a novel clinical AMPA receptor positive modulator [J]. *J Med Chem*, 2010, 53: 5801–5812.