

手性药物的研究策略

钱鸣蓉,陈亚坤,曾苏(浙江大学药学院,浙江 杭州 310031)

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1007-7693(2004)06-0461-04

近年来,药物手性的临床意义已引起了人们的注意。手性药物的开发已成为国际热点。世界正在开发的1200种新药有三分之一是手性药物。目前,使用的药物中有很大部分为手性分子,但手性药物有的以外消旋体形式上市,有些以单一对映体上市。天然和半合成的手性药物绝大多数以单一对映体给药;相反,合成的手性药物中仅12%左右是以单一对映体给药^[1]。在临床应用中由于没有对手性药物各对映体的药效学或药动学行为的差异进行研究,常常将消旋体药物当作单一化合物来处理,由此得出的结论与疗效或不良反应的发生有时不一致,甚至会错误地指导临床用药。

分子中的结构基团在空间三维排列不同的化合物称为立体异构体。立体异构体可分为两大类:在空间上不能重叠,互为镜像关系的立体异构体称为对映体(enantiomer)。这一对化合物就像人的左右手一样,称为具有手性(chirality),其来源是希腊语Chiro(手)。当药物分子中四面体碳原子上连接有4个互不相同的基团时,该碳原子被称作不对称中心或手性中心,相应的药物称作手性药物(chiral drug)。分子中若含有n个手性中心,将产生 2^n 个立体异构体,其中有 2^{n-1} 对对映体。那些不是对映体的立体异构体称为非对映体(diastereomer)。其他的手性因素还有:手性硫原子、手性磷原子、手性平面、手性轴;另外叔胺和取代联苯具有不稳定的手性因素。对映体对之间,除了使偏振光发生偏转的程度相同而方向相反之外,其他理化性质相同。因此,对映体又称为光学异构体。

因为生物体内的靶点大都具有手性,所以对映体药物在体内的作用常常不同。然而单个对映体的性质一直没有得到深入研究。是否应该发展单个对映体在过去是个理论性很强的问题,因为分离成单个对映体应用于大规模的生产是很困难的。随着立体异构体分析、合成、制备方法的快速发展^[17],手性药物的研发和应用有了很大的进步,已实现了许多单个对映体药物的大规模生产。但简单地认为只需取其活性高的单个对映体作为药物尚有许多困难,为了采用最佳的途径获得安全有效的药物,我们必须考虑很多复杂现实的因素。在加拿大、欧共体、日本和美国,各种机构、科学家、制药企业就手性药物的问题进行了各种探讨,制定了一些政策和条例,讨论的重点涉及两方面:(1)对于新的对映体药物注册所要求的技术法规;(2)从已被批准的外消旋体中开发对映体药物的可能性^[2]。

1 新的单个对映体药物研究

有以下情况时,应开发单个对映体药物:单个对映体具有立体选择性药理活性;消旋体的治疗指数很低;毒性与劣映体相关联;单个对映体在体内不发生手性转化并且大规模的单个对映体的生产是可行的^[3]。

因为新的单个对映体本身就是新的活性物质(新的化学实体),所以必须研究其安全性、合理性和有效性。与对称分子所不同的是必须对它的体内手性转化可能性进行检测。在有关生物转化的研究对象中必须包含可能的体内生物转化的代谢物和已经确认的代谢物,也必须考虑代谢物的进一步代谢及安全性(图1)^[4]。

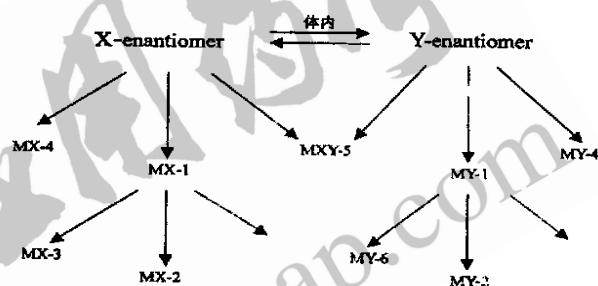


图1 单个对映体在体内可能产生的对映体互换和生物转换
Fig 1 Possible interconversion *in vivo* and biotransformation products of a single enantiomer

2 消旋体药物研究

在对加拿大、欧共体、日本及美国的条例比较中,我们发现美国FDA对那些涉及新的单个对映体但不是很复杂的问题给予了很少的重视,他们的重点是有关消旋体以及从已知消旋体中开发的单个对映体。

一般观点认为,真正的外消旋体,虽然是由两种分子组成,并且是对映体,但它是作为一个整体的新的活性物质定义的。在生命有机体中的环境是不对称的,两个对映体不可能表现出相同的生物效应。进一步来说,他们可能相互作用,所以人们对消旋体的要求就是需要提供可靠的证据以达到保护人体健康,而同时又能减轻不必要的负担。

如果外消旋体显示出快速的转化,特别是在体内时,研究外消旋体的任何一个对映体就显得毫无意义,只需研究外消旋体即可。相互快速转化的一个例子是氯噻酮^[5],这一情况曾在加拿大和欧共体的有关条例中提到。有关于非甾体类消炎药,例如布洛芬^[6],在体内互变的情况已经被较深入的研究。另外,若劣映体不良反应很少或无,且能抑制优映体的清除,那么这种相互作用认为是有益的。这样就可以考虑以消旋体的形式给药,不仅可以提高活性体的疗效,而且

作者简介:钱鸣蓉和陈亚坤博士研究生, Tel: (0571)87217406

无必要为纯对映体的开发投入大的费用。

随着对立体特异性影响作用分析方法的进一步发展,对映体药物的要求也就越来越高。但并没有取消外消旋体药物注册的趋势。在日本,含有一个无活性对映体的消旋体不能注册的规定已经被取消^[7]。仅仅当这个无活性的对映体与药物安全性有关时,这个消旋体的注册是不合适的。

3 从消旋体中开发单个对映体

从正在研究的消旋体和已经批准的消旋体中开发单个对映体两者是有区别的,前者在FDA的文件中已有所强调,而后者在欧共体条例中也有提及^[8]。在一般观点看来,前者与开发一个新的单个对映体没有本质的区别。

在实践中,如果要合成新的手性活性物质,一般总是从外消旋体开始,研制者要尽早决定是继续还是转变为单个对映体,然后决定是重复的研究还是延续性研究(图2)。

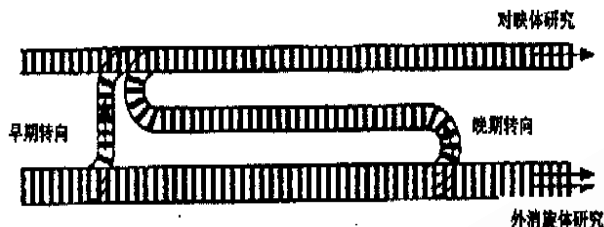


图2 转向单个对映体研究的时间示意图

Fig 2 Timing of switch to single enantiomer during development

从一个已认可的消旋体中开发出它的单个对映体或在消旋体的发展后期转而发展它的单个对映体,条例中就会产生一些不同的规定。在欧共体的有关条例中,从已经认可的外消旋体中开发出来的单个对映体是被认作一个新的活性物质,但同时必须提供所有的实验数据。在实际操作中,这被认为是比较极端的要求,即使是条例制定者也如此认为。现在人们建议外消旋体实验中的部分数据也能部分的支持递交的申请。特别是慢性毒理效应和致癌性的研究非常昂贵并且费时,应该尽量避免重复。FDA^[9]认为:从一个还未用于临床研究的混合物中发展出一个单一立体异构体,可以运用已知的有关于消旋体的知识对单个立体异构体的药理/毒理进行简单、恰当的评估,继续研究一般包括长达3个月的重复剂量的毒理实验和用单个对映体在最敏感的物种中进行第二阶段的毒理实验。所有这些实验都是用消旋体作对照,如果消旋体和单个对映体的毒理概况没什么区别,就没有进一步研究的必要。如果单个对映体的毒理情况更严重,就必须进一步深入研究,该药用于人体的剂量也值得考虑。

一般立体异构体是表示原子空间排布方向不同的化合物。它不仅包括镜像对称立体异构体,还包括几何异构体(反式/顺式)和非对映异构体(指含有多个手性中心,彼此之间不成镜像对称)。非对映异构体和几何异构体在化学性质上及药理作用方面都是相对独立的,除非它们在体内发生了相互转换。通常不用手性技术即可以分离。因此上述的两类异构体在不发生体内相互转换的前提下是作为单独的藥物来开发的。一般情况下,不考虑开发几何异构体和非对映异构体的混合物,除非发现它们以固定的比例混合存在。即使在这种情况下,也需搞清楚这种比例是天然存在的还是由生产过程产生的。

4 化学性质与质量控制

药物化学性质部分的申请必须包括以下几方面的信息,对药物的特点、质量、纯度、原料药及其制剂的效价加以认证。另外,当药物具有手性时,还必须考虑以下几方面:

化学性质:对映体和消旋体药物的申请应该包括它的立体化学特异性的认证测试或是确定一种立体化学选择性分析方法,这种控制方法的选择应考虑其生产方式和它的稳定性特点。

稳定性:关于含对映体原料药及其制剂的稳定性研究应包括能测定原料药及其制剂光学纯度的方法。一旦光学稳定性通过验证,就表明药品的立体化学结构就不会发生变化,那么可以免去立体选择性的检测。

杂质限度:非常有必要限定每种异构体的含量,并对所有的异构体组成,杂质含量和即将用于临床的被试化合物中所含污染物的量进行限定,对用于临床的立体异构体产品所允许的最大杂质含量不能超过用于非临床毒理研究实验产品所含的杂质量。

5 药效学、药动学和毒理学研究

当对映体的活性和清除之间不存在什么差别时,药品可以以消旋体形式给药。在某些情况下,单个对映体形式给药就特别必要(例如,一种对映体具有毒性和所不需要的药理作用,而另外一种不具备)。当使用临床剂量的消旋体时,出乎预料的毒理现象发生或是消旋体出现了出乎意料的药理作用,就必须对单个对映体及其代谢物的特点进行研究。这些现象有可能在动物体内出现,但进行人体内实验也是必需的。

仅当两种对映体都具有药理活性,但它们的作用强度、特异性、最大效应有较大差异时,可以考虑研发它的单个对映体。当两种对映体具有不同但都为人所需的特点时,可以运用它的混合物,这不同于本质上的消旋体,应该看作一种合理的组合。

如果对消旋体进行研究,就必须对两种异构体的药物代谢进行研究。要对它们潜在的相互转化加以检测。基于对目标人群进行的I相和II相代谢研究所得药动学数据的分析,如果两个对映体的药动参数存在一定的固定比,就应考虑采用非手性分析方法,或是对某一个单个对映体进行监测所得的结果是否能充分评估该药的药动学特征。从已批准的消旋体中开发其单个对映体,必须对该对映体是否会转变成另外一种形式以及该种对映体的药动学参数是否与它作为消旋体一部分时药动学参数一致等问题加以考虑。

药效学:先在动物和人体身上研究外消旋体和对映体的主要作用,在组织安全的前提下,再研究消旋体与对映体的其他作用。对所选择的单个对映体与外消旋体进行比较。单个对映体的药理活性必须列出它的基本药理作用以及考虑它的疗效、特殊性、最大效应方面的药理作用。

药动学:对所选择的单个对映体与外消旋体进行比较,包括相关的毒代动力学。为了监测体内药物的手性结构互变现象及它们的排泄,必须在动物体内对每种异构体的药动

学进行分析,最后与临床药动力学进行比较。

为了研究单个对映体或消旋体的药动力学,必须在药品开发的早期对单个对映体进行体液中药物含量的定量分析。这样可以对对映体的吸收、分布、代谢、排泄以及是否发生手性转化做出评价。如果产品是消旋体形式的,每个对映体的药动力学是不同的,就必须对每个对映体分别研究,考查它们的剂量与药效的线性关系、代谢与清除功能以及药物之间的相互作用。如果两个对映体的药动力学是相似的或是在目标人群的血药浓度存在固定的比例,即可仅对其中的一种对映体进行分析。在体内对单个对映体进行测量可以评价药物的毒性,有时也可以在人体内对它们的药动参数进行研究。

以外消旋体给药后,对映体在血浆中的浓度可有显著性差异,因此在评价手性药物动力学参数和测定手性药物浓度-效应关系时,应考虑到手性药物动力学过程的立体选择性,根据生物体液中消旋体药物浓度得到的结果,其临床意义不明确,甚至产生误导作用^[10,11]。所以需采用对映体特异性分析方法在动物与人体内分别研究对映体的药物动力学参数。评估各个对映体的生物利用度、对照人体与动物的不同情况来分析立体异构体的药物动力学参数,同时分析对映体可能的体内手性转化。最近10年对映体特异性的分析方法得到了很大的发展。但是手性药物体液样品的分析很容易受到内源物的影响,特别是在分布量比较大、用药剂量比较小、血浆浓度较低的情况下,对映体选择性分析的研究就很困难、耗时^[12,13]。当对对映体药物动力学的相互作用进行研究时,必需应用对映特异性检测方法。

毒理学:对所选择的单个对映体与外消旋体进行比较,包括急性毒理概况、最长为3个月的重复剂量毒理研究、从最初到后续延伸的毒理重复性研究。

通常情况下用消旋体进行毒理研究,如果超出估计的药理作用的毒理现象出现,并且所用剂量相对于临床试验计划用量较低,这种出乎预料中的中毒现象发生时,应该对单个异构体的毒理研究进行重复试验,以便确定哪种异构体引起中毒。如果单个对映体的毒性强于外消旋体,则应对消旋体加以研究,确定对映体的复合物是否能降低毒性。

就药物研究开发来说,搞清楚出现的毒理效应是由两个对映体或是由一个对映体引起的,哪个更有发展前途是很重要的。评估这些结果时需考虑的综合因素有^[14-16]:(1)对映体可能存在不同的激动/拮抗作用;(2)对映体在受体位点或消除位点相互作用。

对映体的相似性引起的药物相互作用,大多与受体和酶介导的效应有关^[16]。一些对映体在药动力学上的相互作用已有报道,这也可以类推到药效学和毒理学的领域。人们甚至希望立体异构体在药效方面的不同是一种规律而不是例外。对映体的相互抑制作用可能引起药效的减弱(图3)。由于对映体的亲和力不同,反应效应也不同,并且受体亚型不同,对映体的效应也不同。如果只有一种有活性的对映体存在,它可能显示出有一定强度的另外一种作用效应。

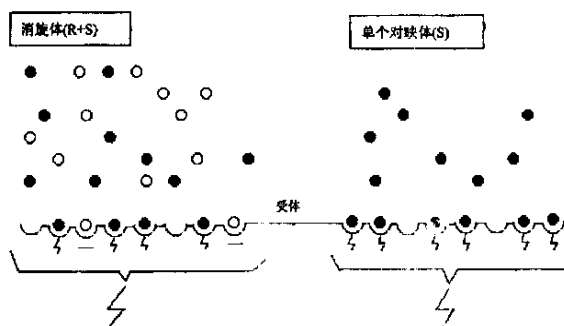


图3 消旋体产生的相互抑制作用

Fig 3 “Blunting” of effect by a race mate

○ = R-对映体; ● = S-对映体

在这一点上,FDA没有像欧共体一样对药动力学和急性毒理学研究有特殊的要求。从一个还未用于临床研究的混合物中发展出一个单一立体异构体,可以运用已知的有关于消旋体的知识对单个立体异构体的药理/毒理进行简单、恰当的评估,继续研究一般包括长达3个月的重复剂量的毒理实验和用单个对映体在最敏感的物种中进行第二阶段的毒理实验^[4]。所有这些实验都是用消旋体作对照,如果消旋体和单个对映体的毒理学没什么差别,就没有必要进一步研究。如果单个对映体的毒性较严重,就必须进一步深入研究。该药用于人体的剂量也值得考虑。

加拿大没有特殊要求但要求在适当种类中进行足够长时间的重复剂量的研究,在日本的有关条例中没有有关要求。

6 小结

6.1 具有手性中心的药物必须明确它在药理、毒理、临床研究中的立体异构体组成。

6.2 必须采用合理的生产工艺和质量控制手段来保证产品的立体异构组成,同时还必须确保它的单一性、疗效、性质和立体化学纯度。必须对这些研究及其方法做出一定的解释。

6.3 如果对映体的清除是不同的,不采用手性分析方法分析得出的结果可能产生误导作用,应该在早期对单个对映体的药动参数进行分析。如果两个对映体的药物动力学参数在目标人群中存在一个固定的比例,就可以用非手性分析的方法或是对某个对映体进行监控。

参考文献

- [1] Tucker GT, Lennard MS. Enantiomer specific pharmacokinetics [J]. Pharmacol Ther, 1990, 45(3): 309.
- [2] Adalber GR, Kees G. Current regulatory (Draft) guidance on chiral medicinal products: Canada, EEC, Japan, United States [J]. Chirality, 1994, 6: 72.
- [3] Mitchell N. Race mic mixtures and single stereoisomers: industrial concerns and issues in drug development [J]. Chirality, 1991, 3: 94.
- [4] FDA. Food and drug administration policy statement for the development of new stereoisomeric drugs [J]. Chirality, 1992, 4: 338.

- [5] Severin G. Spontaneous racemisation of chlorthalidone: Kinetics and activation parameters[J]. Chirality 1992 ; 4 :222 .
- [6] Sanins S M , Adams W J , Kaiser D G , *et al* . Mechanistic studies on the chiral inversion of *R*-ibuprofen in the rat[J]. Drug Metab Dispos , 1991 , 19 :405 .
- [7] Takeda Y , Penal presentation[A]. In: Proceedings of the First international Conference on Harmonisation . D' Aey P F , Harron D W G , eds[C]. Brussels : Greystone Books , 1991 :124-127 .
- [8] Committee for Proprietary Medicinal Products . Document III/3501/91- EN , draft 13 . Note for Guidance : " Investigation of chiral active substances . " August 1993 .
- [9] Cross M , Cartwright A , Campbell B , *et al* . Regulatory requirements for chiral drugs[J]. Drug Inf J , 1993 , 23 :453 .
- [10] 曾苏 . 手性药物与手性药理学[M]. 杭州 : 浙江大学出版社 , 2002 .
- [11] Wainer I W , Drayer E E . Drug Stereochemistry : Analytical Methods and Pharmacology[M]. New York : Marcel Dekker , 1998 .
- [12] Hefnawy M M . Stereoselective determination of pyridoglutethimide enantiomers in serum with a chiral cellulose-based high-performance liquid chromatographic column using solid phase extraction and UV detection[J]. J Pharm Biomed Anal , 2003 , 31 (5) :999-1005 . 9 .
- [13] Yao T W , Zeng S , Wang T W , *et al* . Phenotype analysis of cytochrome P450 2C19 in Chinese subjects with mephenytoin S/R enantiomeric ratio in urine measured by chiral GC[J]. Biomed Chromatogr , 2001 , 15 (1) :9 .
- [14] Powell J R , Ambre J J , Ruo T L . The efficacy and toxicity of drug stereoisomers [A] : Wainer L W , Drayer D E . Drug Stereochemistry [M]. New York : Marcel Dekker , 1998 :245 .
- [15] Jamali F , Mehvar R , Passuto F M . Enantioselective aspects of drug action and disposition : Therapeutic pitfalls[J]. J Pharm Sci , 1989 , 78 :695 .
- [16] Higaki K , Kadoka K , Nakano M . Stereoselective pharmacokinetics of a novel uricosuric and hypertensive diuretic in rats : pharmacokinetic interaction between enantiomers[J]. J Pharm Sci , 1992 , 81 :935 .
- [17] 崔宏杰 , 吉爱国 , 李从发 . 以磺酰化 β -环糊精为手性选择剂高效毛细管电泳拆分手性药物中间体 . 中国现代应用药学 , 2004 , 21 (3) :188

收稿日期 : 2003-05-01