

## 膦甲酸钠前药的研究进展

汪燕翔, 蒋建东, 宋丹青\*

(中国医学科学院/中国协和医科大学 医药生物技术研究所, 北京 100050)

**摘要:** 膦甲酸钠(PFA)具有广谱抗病毒活性,但其以钠盐的形式存在,仅适用于静脉注射,制备前药是提高其口服生物利用度的有效手段之一。本文总结了不同结构类型的 PFA 前药,并阐述了它们各自的研究进展及前景。

**关键词:** 膦甲酸钠; 前药; 抗病毒

**中图分类号:** R916.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-0440(2008)06-0425-04

## Prodrugs of trisodium phosphonoformate: a research progress

WANG Yan-xiang, Jiang Jian-dong\*, SONG Dan-qing

(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences &amp; Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Trisodium phosphonoformate is a broad-spectrum antiviral drug. But as a salt, it is suitable for intravenous injection only. Among those ways which can enhance oral bioavailability, preparing prodrugs is an ideal one. Therefore, this article summarizes different kinds of prodrugs, their research progresses and perspectives are also reviewed.

**Key words:** trisodium phosphonoformate; prodrugs; antiviral

膦甲酸钠(trisodium phosphonoformate, PFA)是由阿斯特拉公司研发的非核苷类广谱抗病毒药物<sup>[1]</sup>,于1991年9月在美国上市,现已在15个国家获准使用,结构式见图1。PFA能抑制人类巨细胞病毒、EB病毒等DNA病毒及流感病毒、免疫缺陷病毒等RNA病毒,亦能抑制人免疫缺陷病毒(HIV)。PFA用于治疗免疫功能低下患者的巨细胞病毒感染、肝炎病毒及疱疹病毒感染,以及拉米夫定耐药的慢性乙型肝炎<sup>[2]</sup>,均获得了良好的临床效果。其作用机制和核苷类似物不同,不需要细胞或病毒的激酶激活,可以直接结合到DNA聚合酶磷酸联合位点上,通过非竞争性抑制的方式抑制DNA聚合酶和逆转录酶<sup>[3,4]</sup>。与核苷类抗病毒药合用具有较好的协同或增效作用,毒副作用小并可逆,应用前景广阔。

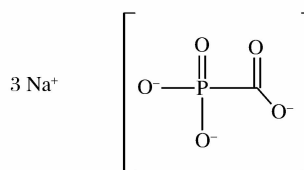


图1 PFA的结构式

但PFA以钠盐形式存在,只适用于注射或静脉滴注给药,口服吸收较差。人每6h口服PFA4000mg,连续3d,吸收量仅为给药量的12%~22%,血药浓度低于 $33 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[5]</sup>。人连续滴注 $0.09 \sim 0.19 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  6~21d,稳态血药浓度达 $228 \sim 261 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,肾功能损伤患者可高达 $727 \sim 777 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,血浆半衰期为2~4h<sup>[4]</sup>。说明该药极性大,大部分通过肾代谢排出体外。

近10年来,有关提高PFA口服生物利用度的研究剧增,国内外众多研究机构都开展了其前药的研究,以期通过连接不同的脂溶性载体,减少PFA的电荷,增加细胞对前药的摄取,进而将其转化成口服抗病毒药物,使广大临床患者用药方便。本文就

收稿日期:2008-06-12

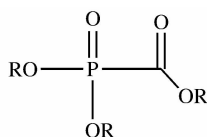
作者简介:汪燕翔,男,在读博士研究生,研究方向:微生物与生化药学,Tel:010-63165268, E-mail:lionking\_0421@yahoo.com.cn

\*通讯作者:宋丹青,女,研究员,博士生导师,研究方向:微生物与生化药学,Tel:010-63165268, E-mail:songdanqingsdq@sina.com

有关 PFA 前药近 10 年的研究加以总结。

### 1 膦甲酸钠的结构

PFA 属焦磷酸盐类物质,为小分子化合物,相对分子质量仅为 192,分子中存在 3 个酸根,包括 2 个磷酸键和 1 个羧酸键。理论上 3 个酸根均能成酯,形成膦甲酸三酯,结构通式见图 2,三酯化合物脂溶性最大,但在体内很难水解完全释放出原药发挥作用。一酯或二酯前药的脂溶性小于三酯化合物,但体内水解比三酯化合物更彻底。因此寻找到最佳的连接载体(R),获得脂溶性适宜、水解完全的 PFA 前药是药物设计的关键。



R: -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>...

图 2 PFA 前药的结构通式

### 2 膦甲酸钠前药的制备及活性

研究表明:P-O 单键与 C-O 单键相比,前者键较长,键能较小,使磷酸酯比羧酸酯更容易在体内发生生物转化,进而水解,因此多数前药都是以磷酸酯的形式存在;另外,由于受 α-羰基电子效应的影响,当羧酸成酯时,α-羰基的吸电子效应强,磷酸酯容易水解;而若羧酸以钠盐的形式存在,α-羰基的斥电子效应增强,磷酸酯不易水解。在磷酸酯中,取代基水解顺序为:芳基 > 烷基。上述研究为 PFA 前药的设计及体内活性研究提供了依据。

#### 2.1 与丙基硫氧基叔丁基载体相连

在制备 PFA 磷酸酯前药中,鉴于丙基硫氧基叔丁基(SATP)载体脂溶性较大,细胞在摄取前药过程中,SATP 容易被酯酶水解释放出原药(结构见图 3),因此常作为良好的载体引入结构中,期望获得脂溶性好、水解完全的前药<sup>[6]</sup>。

以 SATP 为磷酸酯前药载体,不同的羧酸酯水解活性不同,羧酸根与芳基相连成酯,水解活性大于烷基<sup>[7]</sup>,使磷酸酯键更易水解,释放出原药。当羧酸根与脂肪链成酯时<sup>[8]</sup>,PFA 与 SATP 相连形成三酯结构,以抗 1-型单纯疱疹病毒为筛选模型,当 R 为苯基或叔丁基时(图 3),其 IC<sub>50</sub> 值分别为 269 和 542 μmol · L<sup>-1</sup>,原药 PFA 的 IC<sub>50</sub> 值为 173 μmol · L<sup>-1</sup>,说明抑制 1-型单纯疱疹病毒活性主要取决于

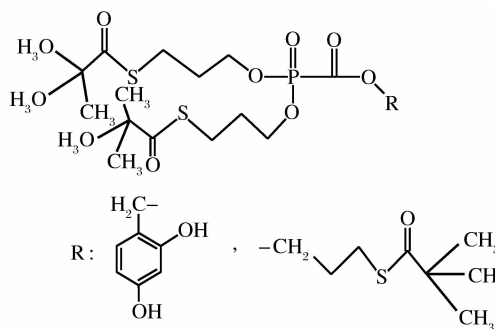


图 3 PFA 与 SATP 相连结构通式

前药的水解能力。体内实验结果表明,口服给药量为 180 μmol · kg<sup>-1</sup>,8 h 内监测小鼠血浆内 PFA 的浓度,均未检测到 PFA 的存在。可能因为三酯在体内水解不完全,同时 PFA 在体内的半衰期仅为 0.5 h,前药释放出的 PFA 被迅速代谢出体外,无法被检测。

#### 2.2 与高分子载体相连

研究人员设计并合成了一种亲脂性的大分子载体与膦甲酸钠分子相连的化合物(图 4)<sup>[9]</sup>。载体为可以发光的共轭大分子,一方面增加了脂溶性,使药物更好地通过细胞膜向细胞内扩散,增加细胞对药物的摄取;另一方面,结构中的发光部分可以被细胞内的氧自由基活化,并通过细胞内的能量转移,使光致发光部分转变为激发态,从而更容易释放出原药,发挥抗病毒活性。研究证明,PFA 与此载体相连,进入体内后,抑制感染 HIV 病毒的人巨噬细胞的活性增加,为单独用药的 5 倍。对感染了佛罗德白血病病毒(逆转录病毒)的小鼠也有效<sup>[9]</sup>。同时证实本品没有毒性,显示出良好的开发前景。

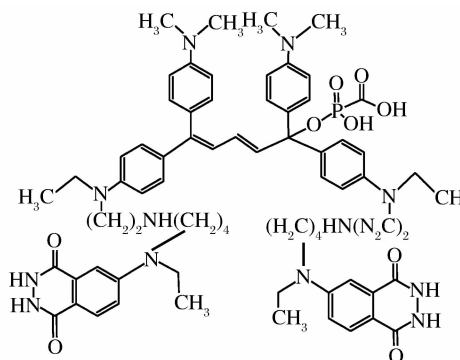


图 4 PFA 与高分子载体相连化合物的结构通式

#### 2.3 与已知药物及其类似物相连

众所周知,齐多夫定(zidovudine, ZAT)是临床用来治疗艾滋病的最主要的药物之一,因此将 PFA

与此药相连制成前药,期望这两种有效药物能通过酯键偶联(图 5),并在体内水解发挥它们各自的作用,得到二者单一用药的加合<sup>[10]</sup>。

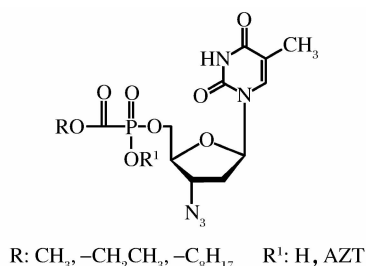


图 5 PFA 与 AZT 相连结构通式

当 R<sup>1</sup> 基团是一级碳时,如乙基,苯乙基,活性显著增加;而当 R<sup>1</sup> 基团是二级碳时,药物的毒性变大,可能是形成了亲核的 C<sup>+</sup> 离子进攻生物大分子所致;当引入三级碳时,化合物的活性则大大降低。

经研究发现<sup>[11]</sup>,当 R 为甲基,乙基;R<sup>1</sup> 为 H 时,虽然这两个化合物在 AZT 耐受的 HIV 感染细胞上均表现出较好的活性,但是并没有发现两药作用加合的预想效果。当 R 为 -C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>,SATP; R<sup>1</sup> 为 AZT 时,虽然长脂肪链的存在使药物更易进入胞内,但是这类化合物在解离时非常不稳定,不适宜进一步开发。

值得提出的是<sup>[11]</sup>,将 OR<sup>1</sup> 基团替换为各种不同的取代氨基时,磷酸二酯键水解,产生的主要是 AZT 原药及各种 PFA 酯,但后者可被进一步水解释放出原药 PFA,显示了良好的应用前景。

将 PFA 衍生物与 4'-硫-5-乙基-2'-脱氧尿嘧啶(TEDU)相连<sup>[12]</sup>,当 R 分别为氨基,羟基,乙基;R<sup>1</sup> 为 H 时,结构见图 6,其抗病毒活性与阿昔洛韦和喷昔洛韦相似,可抑制对阿昔洛韦耐药的单纯疱疹病毒的复制,细胞毒作用低,应用前景良好。但是如果将 RO-C(O)- 基团替换为 F 原子时,又有很强的细胞毒活性,不适宜开发。

## 2.4 与氨基酸相连

同样考虑了 PFA 的口服吸收利用度差的特点,

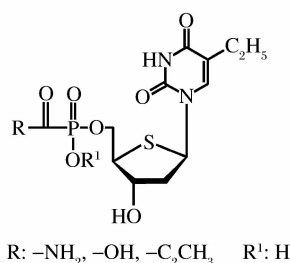


图 6 PFA 与 TEDU 相连结构通式

科研人员期望在 PFA 上连接氨基酸制成前药,提高脂溶性,并在体内水解出原药,产生预期的活性。

研究发现,当 PFA 结构中的羧酸和磷酸均制成三酯时(图 7),在胃内酸性条件下 P-C 键极易发生断裂,原药本身分解;在 pH 为 7 的中性条件下,当羧酸和磷酸均制成为甲酯时,化合物水解不完全难以释放 PFA 原药<sup>[13]</sup>。在合成三酯化合物时,PFA 和保护的氨基酸经缩合剂和碱处理后,得到三电荷化合物,此化合物可在人体内 pH 环境下进一步发生 P-N 断裂,进而释放出 PFA<sup>[14]</sup>。但此类氨基酸前药终因脂溶性偏小没有进一步开发。

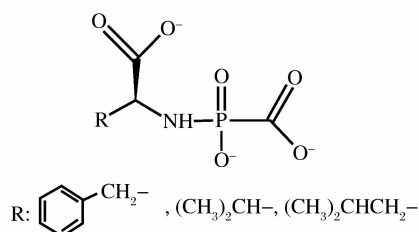


图 7 PFA 与氨基酸相连结构通式

## 2.5 与烷基甘油相连

甘油作为一种小分子载体广泛存在于人体内,甘油酯扮演了第二信使、调节血脂等多种角色,因此尝试以烷基甘油酯作为 PFA 的载体。

烷基甘油为载体的 PFA 前药<sup>[15]</sup>(图 8),PFA 通过酯键连接在 sn-3 位置,sn-1 位置为脂肪长链,而 sn-2 位可以为 H、羟基、甲基等简单烷基取代。当前药进入细胞内后,胞内的酯酶将前药水解并释放出游离的 PFA 和无毒的烷基甘油。对于 sn-1、sn-2 位的结构修饰,主要目的是增加抗病毒活性以及降低细胞毒性。构效关系研究发现,sn-1 位脂肪长链的碳原子个数在 14~22 个之间,sn-2 位为甲基、乙基、正丙基时,显示出更强的抗 HIV 活性。与 PFA 相比,前药对野生型 HIV-1 显示出更高的选择性,并且其生物利用度提高,对核苷类逆转录酶抑制剂耐药的 HIV-1 有效<sup>[16]</sup>。将该系列前药注射入兔晶状体中水解缓慢,半衰期大约 4~5 周,前药及原药 PFA 均可在晶状体内检测到<sup>[15]</sup>。但是在体外培养的晶状体中则检测不到原药 PFA 的存在。

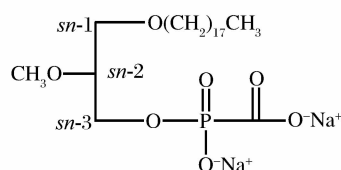


图 8 PFA 与甘油相连结构通式

## 2.6 结构母核修饰的前药

研究发现<sup>[17]</sup>,将 PFA 中 P=O 双键中的 O 替换为 S,形成 P=S 双键(图 9)。它是一类非核苷类逆转录酶抑制剂,具有广谱抗病毒活性。结构修饰后,其抗病毒活性大幅增加,分子药理学机制仍在研究中,推测其作为前药,进入体内后,通过体内的酶转化为 PFA 原药发挥作用。此药由美国 Adventrx 公司开发,2006 年向美国 FDA 提出 I 期和 II 期临床试验申请,用于艾滋病的治疗。

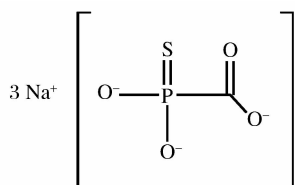


图 9 硫代 PFA 的结构式

## 3 结语

综上所述,PFA 的抗病毒活性广泛,作用机制独特,与其他抗病毒药,如干扰素<sup>[18]</sup>等联合用药,具有协同和增效的作用。另外其毒性小,在治疗乙型肝炎时,对拉米夫定耐药的乙肝病人有效<sup>[19]</sup>。由于用药不便而限制了 PFA 在临床上的使用。因此制备适宜口服的前药,具有极其重要的意义。

## 参 考 文 献

- [1] 李俊萍. 膦甲酸钠的研究现状及临床应用[J]. 天津药学, 2002, 14(6):12-13.
- [2] 薛蓉, 韩彦新, 赵伟, 等. 膦甲酸钠治疗拉米夫定耐药患者的临床研究[J]. 临床肝胆病杂志, 2007, 23(2):126-128.
- [3] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(6):324-329.
- [4] McMillan JS, Shaw T, Angus PW, et al. Effect of immunosuppressive and antiviral agents on hepatitis B virus replication *in vitro*[J]. *Hepatology*, 1995, 22(1):36-43.
- [5] 易毛, 傅维方, 宋克. 膦甲酸钠及其制剂在国内外的研究现状及临床应用前景[J]. 国外医药·抗生素分册, 1996, 17(4):302-305.
- [6] Moss RA, Morales-Rojas H, Vijayaraghavan S, et al. Metal-cation-mediated hydrolysis of phosphonoformate diesters: chemoselectivity and catalysis[J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(35):10923-10936.
- [7] Meier C, Muus U, Renze J, et al. Comparative study of bis (benzyl) phosphate triesters of 2',3'-dideoxy-2',3'-dideoxythymidine (d4T) and cyclosal-d4TMP hydrolysis, mechanistic insights and anti-HIV activity[J]. *Antivir Chem Chemother*, 2002, 13(2):101-114.
- [8] Briggs AD, Camplo M, Freeman S, et al. S-Acylthioethyl prodrugs of phosphonoformate[J]. *Eur J Pharm Sci*, 1997, 5(4):199-208.
- [9] Mills R, Wu GZ. Synthesis and evaluation of novel prodrugs of foscarnet and dideoxycytidine with a universal carrier compound comprising a chemiluminescent and a photochromic conjugate[J]. *J Pharm Sci*, 2004, 93(5):1320-1336.
- [10] Rosowsky A, Fu H, Pai N, et al. Synthesis and *in vitro* activity of long-chain 5'-O-[(alkoxycarbonyl) phosphinyl]-3'-azido-3'-deoxythymidines against wild-type and AZT- and foscarnet-resistant strains of HIV-1[J]. *J Med Chem*, 1997, 40(16):2482-2490.
- [11] Shirokova EA, Jasko MV, Khandazhinskaya AL, et al. New phosphonoformic acid derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine[J]. *Rus J Bioorg Chem*, 2004, 30(3):242-249.
- [12] Aleksandrova LA, Andronova VL, Karpenko IL, et al. 4'-Thio-5-ethyl-2'-deoxyuridine 5'-phosphonates: synthesis and antiviral activity[J]. *Rus J Bioorg Chem*, 2002, 28(5):412-418.
- [13] Li HY, Chen RY, Ren KT. Hydrolysis of *N*-(methoxycarbonyl- or isopropylcarbamoyl-methoxyphenyl)- $\alpha$ -amino acid esters[J]. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elements*, 1996, 119(1):279-283.
- [14] Marma MS, Kashemirov BA, McKenna CE. Synthesis and stability studies of phosphonoformate-amino acid conjugates; a new class of slowly releasing foscarnet prodrugs[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14(7):1787-1790.
- [15] Cheng L, Hostetler KY, Gardner MF. Intravitreal pharmacokinetics in rabbits of the foscarnet lipid prodrug; 1-*O*-octadecyl-*sn*-glycerol-3-phosphonoformate (ODG-PFA)[J]. *Curr Eye Res*, 1999, 18(3):161-167.
- [16] Cheng L, Hostetler KY, Gardner MF. Intravitreal toxicology and therapeutic efficacy of the carboxymethyl ester of the 1-*O*-octadecyl-*sn*-glycerol-3-phosphonoformate (ODG-PFA-*O*-Me), a novel lipid antiviral prodrug for intraocular drug delivery[J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 1999, 15(4):363-377.
- [17] Waninger S, Ramos S, Robbins J. Combinations of thiovir and neuraminidase inhibitors exert synergistic antiviral activity on human, equine and avian influenza *in vitro*[J]. *Antivir Res*, 2007, 74(3):A82.
- [18] 王松贤, 武俊, 刘朝阳. 膦甲酸钠联合干扰素治疗慢性乙型肝炎 56 例[J]. 中国基层医药, 2006, 13(1):123-124.
- [19] Han YX, Xue R, Zhao W, et al. Antiviral therapeutic efficacy of foscarnet in hepatitis B virus infection[J]. *Antivir Res*, 2007, 68(3):147-153.