

丙型肝炎治疗新药替拉瑞韦

王莹莹^{1,2,3}, 龚莉^{2,3}, 王成港^{2,3}, 王春龙^{2,3*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

3. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 是一种高度变异的正链 RNA 黄病毒, 具有慢性转化率高、病变率高等特征。有研究表明, NS3/NS4A 多功能蛋白酶是 HCV 复制所必须的, 因而 NS3/NS4A 蛋白酶抑制剂在 HCV 治疗中的意义备受关注。替拉瑞韦 (Telaprevir) 是一种可逆的 HCV NS3/NS4A 蛋白酶抑制剂, 动物试验和临床试验都表明它可以有效地直接攻击 HCV 并阻断其复制, 对 HCV 的抑制作用持久, 将成为丙型肝炎病毒的新型治疗药物。

关键词: 替拉瑞韦; 丙型肝炎病毒; NS3/NS4A 蛋白酶; 蛋白酶抑制剂; 1 型丙型肝炎

中图分类号: R978.7 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2011)06-0482-05

Telaprevir used for treatment of hepatitis C

WANG Ying-ying^{1,2,3}, GONG Li^{2,3}, WANG Cheng-gang^{2,3}, WANG Chun-long^{2,3}

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300193, China

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Hepatitis C virus (HCV) is a highly variable positive-strand RNA flavivirus, and has the characteristics of chronic high conversion and pathologic change. There are evidences shown that NS3/NS4A protease activity is essential for viral replication, thus the therapeutic significance of inhibiting the HCV protease NS3/NS4A has been widely concerned. Telaprevir, an orally administered, reversible, and peptidomimetic inhibitor of the HCV protease NS3/NS4A, has been proved to be effective for attacking HCV and breaking viral replication both in animal experiments and clinical trials. It is expected to become a new drug for treatment of HCV.

Key words: Telaprevir; hepatitis C virus (HCV); NS3/NS4A protease; protease inhibitor; hepatitis C

1 药物概况^[1]

通用名: Telaprevir

中文名: 替拉瑞韦

别名: LY 570310; LY-570310; LY570310; MP 424; MP-424; VX 950; VX-950

化学名: (1*S*, 3*aR*, 6*aS*)-(2*S*)-2-环己基-*N*-(羰基吡嗪)-甘氨酸-3-甲基-*L*-缬氨酸-*N*-(1*S*)-1-[(环丙氨基)-氧代乙酰基]丁基-八氢环戊[*c*]吡咯-1-甲酰胺

CAS 号: 402957-28-2

分子式: C₃₆H₅₃N₇O₆

相对分子质量: 679.85

原研公司: 弗特克斯药品有限公司 (Vertex Pharmaceuticals; USA); 美国礼来公司 (Eli Lilly;

USA) 结构见图 1。

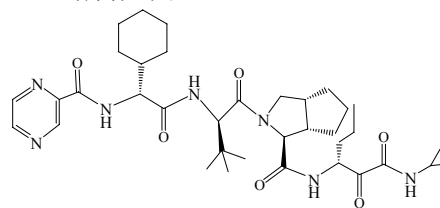


图 1 Telaprevir 的结构

Fig. 1 Structure of Telaprevir

适应症: 丙型肝炎

剂型: 薄膜包衣片

规格: 375 mg/片

用法用量: 1 日 3 次, 1 次 2 片

目前阶段: 美国于 2011 年 5 月 23 日批准上市;

收稿日期: 2011-04-18

作者简介: 王莹莹, 女, 硕士研究生, 研究方向为药物制剂。E-mail: mooyaa@yahoo.cn

*通讯作者 王春龙, 男, 硕士研究生导师; 研究方向为药物制剂。E-mail: dds-wcl@vip.sina.com Tel: (022)23006874

加拿大、欧盟和日本则尚处于新药申请阶段；澳大利亚处于 III 期临床，德国和荷兰尚处于 II 期临床。

2 相关背景

丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 是一种高度变异的正链 RNA 黄病毒。感染 HCV 6 个月以上的患者将逐渐转为慢性感染，发生率为 50%~85%。而感染 20 年后，将发展成为肝硬化，发生率约为 10%~15%；也可发展成为肝细胞癌 (HCC)，发生率为 1%~7%^[2]。丙型肝炎病毒的主要传播方式为血液传播，在我国输血后患丙型肝炎者占 1/3。此外，母婴传播、性传播也是重要的传播途径。HCV 的临床表现为谷丙转氨酶升高不明显，少数病人出现黄疸，HCV 抗体和 HCV RNA 呈阳性等。近年来，丙型肝炎的发病率在全球均呈上升趋势，流行范围也在逐渐扩大，已成为严重的社会和公共卫生问题。

丙型肝炎的发病机制仍未确定，但近年来研究表明，其发病机制与乙型肝炎的发病机制相似，HCV 病毒可诱发人体免疫应答，从而造成肝细胞变性坏死，直接损害肝脏，引起肝脏病变。HCV 基因组可先翻译成多蛋白质前体，然后酶解产生结构蛋

白与非结构蛋白，其中非结构蛋白包括 NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B 等。NS3 是一种具有双重功效的分子，在氨基端有丝氨酸类型的蛋白酶可催化分裂，在羧基端剩余部分具有三磷酸核苷酶 (NTPase) 和螺旋酶 (helicase) 活性，是 HCV 基因翻译和复制所必须的酶^[3]，其蛋白酶抑制剂的作用机制包括阻断 NS3 与 NS4A 相互作用、阻断底物与酶活性位点的结合等^[4]。因此，HCV 的 NS3/NS4A 蛋白酶是目前研究最多的抗 HCV 靶位^[5]。

3 药物合成^[6-7]

将硼氢化钠加到 *N*-Cbz-4-氧-环戊烷[c]吡咯-甲酸乙酯 (**1**) 乙醇溶液中，得到中间体 **2**；将氢化钠和二硫化碳加到中间体 **2** 的四氢呋喃 (THF) 溶液中，得到中间体 **3** (黄原酸盐化合物)；将中间体 **3** 溶于甲苯加入 2,2'-偶氮二异丁腈 (AIBN)，然后用三正丁基锡氢化物 (Bu₃SnH) 处理，得到中间体 **4**；在氮气流下将氢氧化铅加到中间体 **4** 的乙醇溶液中，经氢化后得到游离胺中间体八氢环戊[c]吡咯-1-甲酸乙酯 (**5**)，合成路线见图 2，待用。

将 1-羟基苯并三唑 (HOBt) 和 1-乙基-3-(3-二

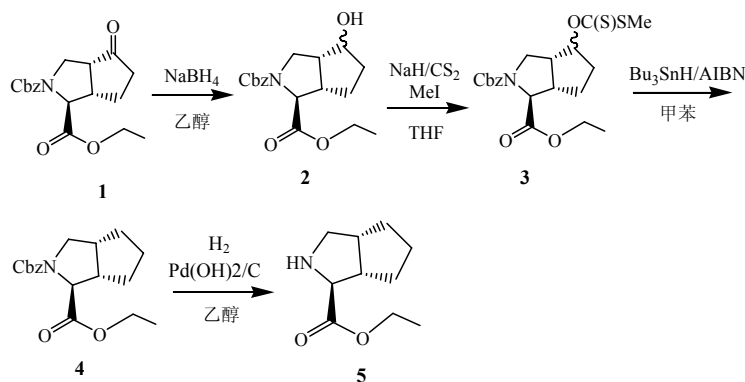


图 2 中间体 5 的合成

Fig. 2 Synthesis of Intermediates five

甲基氨基丙基)-碳化二亚胺盐酸盐 (EDCI) 加到化合物 H-Chg-OH^[6] (**7**) 的四氢呋喃溶液中，然后再将 *L*-叔-亮氨酸甲酯盐酸盐 (**6**) 和二异丙基乙基胺 (DIPEA) 的四氢呋喃和二甲基乙酰胺 (DMF) 溶液加入上述溶液，经偶联得到中间体 **8**；将在二噁烷中的盐酸溶液加到中间体 **8** 的四氢呋喃溶液中，得到中间体 **9**；在中间体 **9** 的 THF 溶液中加入含有 2-吡嗪甲酸、HOBt、EDCI 的 THF 溶液，然后将 DIPEA 加到该混合溶液中，得到中间体 **10**；将氢氧化钠加到中间体 **10** 的甲醇溶液中再用盐酸酸化，经酸脱得到中间体 **11**；用 1-羟基-7-氮杂苯并三唑

(HOAt) 和二环碳化二亚胺 (DCC) 处理中间体 **11** 的二氯甲烷 (DCM) 溶液，而后加入中间体 **5** 的 THF 溶液中，经偶联得到中间体 **12**；在中间体 **12** 的乙醇溶液中加入氢氧化钠，经酸脱得到中间体 **13**；将中间体 **13** 溶于 DCM 中，加入苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基-磷六氟磷酸盐 (PyBOP)^[6]，然后加入化合物 (环丙氨基) 氧代乙酰基丁胺 (**14**)^[7] 和 DIPEA，经偶联得到中间体 **15**；在中间体 **15** 的 DCM 的溶液中加入 DMP 试剂 (Dess-Martin Periodinane 试剂)，经氧化得到目标产物替拉瑞韦，合成路线见图 3。

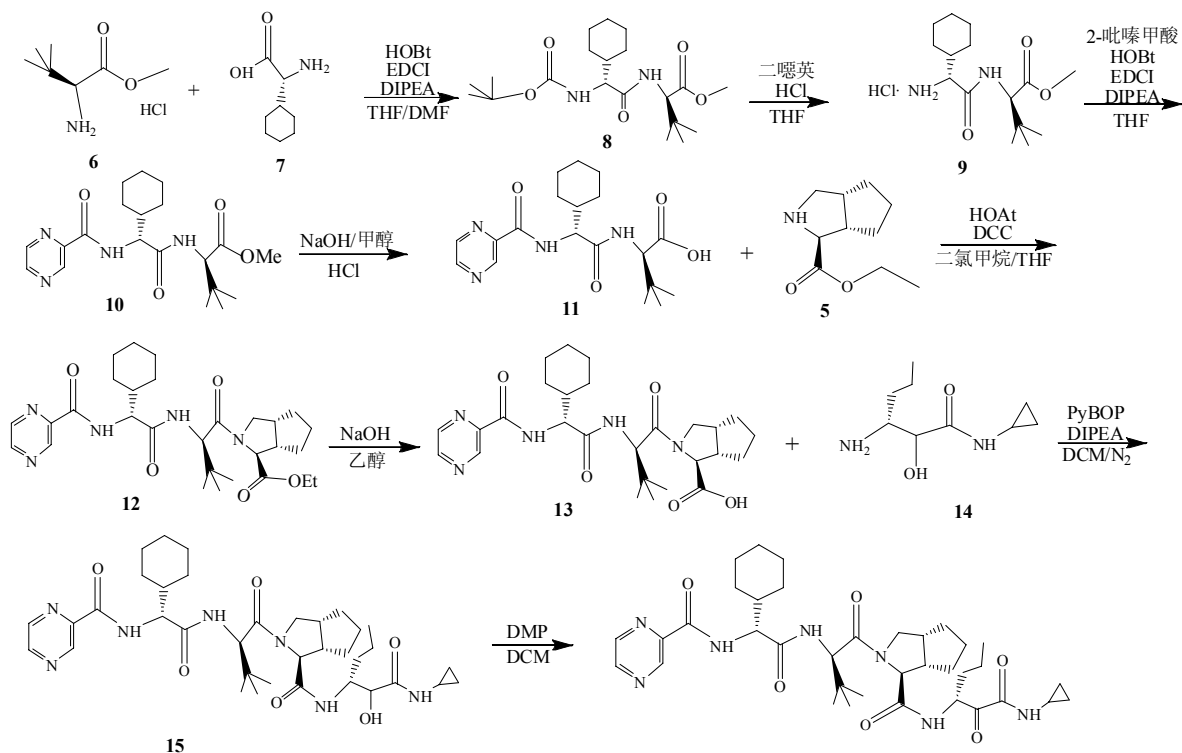


图3 替拉瑞韦的合成

Fig. 3 Synthesis of Telaprevir

4 药理研究^[8-11]

替拉瑞韦是一种可逆性的 HCV NS3/NS4A 蛋白酶抑制剂,能直接攻击 HCV 并阻断其复制^[8]。HCV 同 NS3/NS4A 蛋白酶的结合方式是可逆的共价结合,但解离缓慢,两者一旦形成复合物,解离半衰期约为 1 h。这使得 NS3/NS4A 蛋白酶对 HCV 的抑制作用更为持久^[9]。一项体外试验研究显示,替拉瑞韦与 HCV 共同孵育 48 h 后, HCV RNA 的 IC₅₀ 和 IC₉₅ 分别为 0.35、0.83 pmol/L;经过 72 或 120 h 共同孵育后, IC₅₀ 则分别达到 0.210、0.139 pmol/L^[9]。而在 40% 人血清白蛋白存在的情况下,其抑制浓度的数值增加 10 倍左右^[10]。上述实验结果表明,替拉瑞韦降低 HCV RNA 的数量与浓度和时间呈相关性,作用较强。

现在也已在多种体内模型中测试了替拉瑞韦对 HCV 的影响。给腺病毒介导的 HCV 蛋白酶 SCID 小鼠模型(该模型小鼠体内可表达活性 HCV NS3/NS4A 蛋白酶,引起脂肪变性和出现血清碱性磷酸酶水平的升高)使用替拉瑞韦 10 或 25 mg/kg (ig, bid)。结果显示,用药 24 h 后,模型小鼠的血清碱性磷酸酶活性明显下降,比对照组降低了 18%;而停药 24 h 后,该酶又恢复到原来的高水平^[11]。用一

种感染了 HCV 1b 的嵌合性人/鼠 HCV 模型小鼠(其肝脏的一半以上由人的肝细胞构成)验证其对 HCV 的影响。结果,这种体内有高病毒负荷的小鼠在每日 2 次、连续 7 d 或每日 3 次、连续 3 d 使用后,体内的病毒负荷有所下降;而且当血药浓度达到一定水平之后,病毒负荷可减少^[11]。

而给大鼠、实验犬分别 iv、ig 给予替拉瑞韦后,实验结果显示,替拉瑞韦能有效抑制 HCV,并具有达峰时间快、半衰期长、生物利用度较高、无毒等特点。

5 临床研究

5.1 临床药理学^[11-12]

在一项有 25 名健康志愿者参加的临床试验中,受试者分别口服替拉瑞韦 450、750、1 250 mg,每天 3 次,连续 5 d。测得的血药浓度峰值 (C_{max}) 分别为 1.92、1.72、2.15 mg/L; AUC 分别为 9.28、9.48、13.9 μg·h/mL; 半衰期 (t_{1/2}) 为 2~6 h^[11]。在一项有 34 位 HCV 基因 1 型的患者参加的随机、双盲、安慰剂对照的临床试验中,分别服用替拉瑞韦 450、750、1 250 mg,发现能较快地减少 HCV RNA 的量,其平均稳态血药浓度分别为 781.1、1 054.6、675.5 ng/mL,半衰期与健康受试者接近^[12]。

5.2 对 HCV 患者的疗效

在一项有 1 088 例患者参加的双盲、随机、安慰剂对照 III 期临床研究中,将患者按 1:1:1 比例随机分为 3 个研究组,分别是:(1) T8PR 组,替拉瑞韦(750 mg/8 h),口服,联合聚乙二醇化干扰素(PEG-IFN α -2a, 180 μ g/周)及利巴韦林(1 000~1 200 mg/d)治疗 8 周,随后应用聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林治疗;(2) T12PR 组,替拉瑞韦 750 mg/8 h,口服,联合聚乙二醇化干扰素和利巴韦林治疗 12 周,随后应用聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林治疗;(3) 对照组(PR48 组),聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林治疗 48 周。联合替拉瑞韦的两组患者获得持续快速病毒应答(eRVR)的患者接受共 24 周的治疗,没有获得 eRVR 的患者接受共 48 周的治疗。结果显示,与对照组相比,包含替拉瑞韦的 12 周、8 周联合治疗方案组患者获得持续病毒应答(SVR)的比例更高,分别为 75%、69%^[12]。这些 III 期临床试验结果使在 II 期临床试验的临床获益得到了验证^[13]。为进一步评价替拉瑞韦的疗效,进行了 Illuminate III 期研究($n=540$),结果显示,口服替拉瑞韦 24 周,92% 患者的病毒载量降至可检测水平以下,而使用 48 周后的比例只有 88%;获得总的 SVR 为 72%。替拉瑞韦在该研究中的安全性和耐受性与在 Advance III 期研究中观察到的一致。该研究结果证实了 Advance III 期研究的发现,后者研究替拉瑞韦对初治 1 型 HCV 感染患者的治疗效果,其短期用药能最有效地将 HCV 水平降低至可检测水平以下。结果显示,对替拉瑞韦有广泛快速病毒性反应(治疗 4 周和 12 周后病毒下降至可检测水平以下)的 1 型 HCV 患者,疗程可以减半^[12]。

6 耐药性

在替拉瑞韦的临床研究结果中通过未实现 SVR 的所有 HCV 基因型受试者的 NS3/NS4A 蛋白酶的基因分析,结果显示:1) 在替拉瑞韦联合聚乙二醇化干扰素及利巴韦林疗法中,替拉瑞韦可以有效抑制野生型病毒和低耐药变异,而聚乙二醇化干扰素和利巴韦林可以有效清除任何残留的替拉瑞韦耐药变异;2) 替拉瑞韦可以良好地持续抑制临床研究受试者中的 1 型 HCV,包括低度或中度耐药的 V36A/M、T54A/S、R155K/T 与 A156S 变异,高度耐药的 A156T/V 与 V36M+R155K 变异;3) 替拉瑞韦的耐药变异少于野生型病毒并对聚乙二醇化干扰素及利巴韦林敏感;4) 替拉瑞韦的耐药变异很少,

V36M、T54A 和 R155K 位点的变异均小于 1%,T54S 位点的变异则为 2.7%,其中 T54S 位点的变异已被证实与替拉瑞韦的耐药无关,并且不会妨碍替拉瑞韦联合聚乙二醇化干扰素及利巴韦林疗法的 SVR 实现;4) 分析受试者的病毒无应答结果显示,病毒无应答在替拉瑞韦治疗期主要与高度耐药变异相关并通常发生在基因 1a 型,而在替拉瑞韦联合聚乙二醇化干扰素及利巴韦林疗法中病毒无应答率很低;5) 分析受试者的复发结果显示,复发通常与低耐药变异相关;6) 在后期无替拉瑞韦参与的疗程中,耐药变异将随疗程的进行而被野生型病毒所替代^[1]。

在一项由 150 例我国不同地区的丙型肝炎患者参与的临床研究中,经过基因芯片法分析,150 例患者 HCV 基因分型结果分别为:1b, 66.7% (100/150); 2a, 22.7% (34/150); 3a, 4% (6/150); 3b, 4% (6/150); 6 型, 2% (3/150); 1a, 0.7% (1/150)。与此同时,对 NS3 区序列采用进化树分析进行分型,其结果与基因芯片法分型结果高度一致,主要基因型(1b, 2a)的 NS3 区序列无明显地区性聚集倾向。在 NS3 耐药相关变异分析中,并未检出与替拉瑞韦耐药相关的 V36A/M、T54A/S、R155K/T 和 A156S/T/V 变异,只检测到少数患者在所分析的位点上存在其他形式的 3 种变异。该研究结果显示,我国慢性丙型肝炎患者以 1b 型感染为主,采用 NS3 蛋白酶编码区序列分析可同时进行基因分型和针对蛋白酶抑制剂的耐药变异检测,我国天然存在的相对优势变异株发生替拉瑞韦原发耐药的可能性很小^[14]。

7 安全性

HCV 患者在替拉瑞韦治疗剂量内用药时,乏力、瘙痒、恶心、头痛、贫血、皮疹、流感样症状、失眠、发热及腹泻等不良反应较为常见。Advance III 期临床研究结果表明,由于不良反应中断治疗的比例仅为 4%~8%^[12]。其中皮疹虽然较为严重,在治疗 4 周后就开始出现,但由于皮疹而中断治疗的比例也仅为 0.5%~1.4%^[15]。该试验中替拉瑞韦的安全性与前期报道一致,由于不良事件而中断治疗的比例也相对减少。

8 小结

目前对丙型肝炎的标准治疗方案使用抗病毒药利巴韦林联合干扰素(聚乙二醇化干扰素、白蛋白干扰素、IFN α 等)。这些方案存在的主要问题是疗效或安全性方面尚不理想并且价格昂贵,对于感

染1型HCV的患者用时长达48周,并伴随较为严重的不良反应。临床试验结果表明替拉瑞韦能将疗程减半,显著减少上述疗法伴随的不良反应,有助于提高耐受性^[12]。而且缩短疗程的治疗方案还有助于降低治疗的费用。同时,与替拉瑞韦的竞争药物 Boceprevir 相比,替拉瑞韦的不良反应相对温和,皮疹和贫血等不良反应程度均比 Boceprevir 轻^[16]。替拉瑞韦是靶向性治疗 HCV 的新药,为治疗 HCV 提供了一种新的选择。

参考文献

- [1] FDA. Briefing Document [R/OL]. (2011-4-28) [2011-5-4]. <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/AntiviralDrugsAdvisoryCommittee/UCM252562.pdf>.
- [2] Huang Z, Murray M G. Recent development of therapeutics for chronic HCV infection [J]. *Antiviral Res*, 2006, 71(2/3): 351-362.
- [3] Kolykhalov A A, Mihalik K, Feinstone S M, *et al*. Hepatitis C virus encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3'nontranslated-region are essential for virus replication *in vivo* [J]. *J Virol*, 2000, 74(4): 2046-2051.
- [4] Pawlotsky J M, Gish R G. Future therapies for hepatitis C [J]. *Antivir Ther*, 2006, 11(4): 397-408.
- [5] Raney K D, Sharma S D, Moustafa I M, *et al*. Hepatitis C virus non-structural protein 3 (HCV NS3): A multi-functional antiviral yarget [J]. *Biol Chem*, 2010, 285(30): 22725-22731.
- [6] 美国礼来公司. 模拟肽蛋白酶抑制剂 [P]. 中国:ZL01815055. 1, 2009-8-5.
- [7] 弗特克斯药品有限公司. 模拟肽蛋白酶抑制剂 [P]. 中国: 200910147487. 5, 2010-1-27.
- [8] Forestier N, Reesink H W, Weegink C J, *et al*. Antiviral activity of Telaprevir (VX-950) and peginterferon alfa-2a in patients with hepatitis C [J]. *Hepatology*, 2007, 46(3): 640-648.
- [9] Kronenberger B, Zeuzem S. Current and future treatment options for HCV [J]. *Hepatology*, 2009, 8(2): 103-112.
- [10] Lin K, Kwong P, Lin C. VX-950, a novel hepatitis C virus (HCV) NS3-4A protease inhibitor, exhibits potent antiviral activities in HCV replicon cells [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(5): 1813-1822.
- [11] Gentile I, Viola C, Borgia F, *et al*. Telaprevir: A promising protease inhibitor for the treatment of hepatitis C virus infection [J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(9): 1115-11217.
- [12] Adis Data Information BV. Telaprevir [J]. *Drugs R D*, 2010, 10(3): 179-202.
- [13] Mchutchison J G, Everson G T, Gordon S C, *et al*. Provel: Results from a phase 2 study of Telaprevir with Peginterferon Alfa-2a and Ribavirin in treatment-naive subjects with Hepatitis C [J]. *Hepatology*, 2008, 2(48): 4.
- [14] 李筱涵, 王琳, 叶海燕, 等. 150例慢性丙型肝炎患者 HCV 基因型和 NS3 蛋白酶编码区序列的分析 [J]. *解放军医学杂志*, 2010, 35(10): 1201-1204.
- [15] Gentile I, Carleo M A, Borgia F, *et al*. The efficacy and safety of telaprevir—a new protease inhibitor against hepatitis C virus [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2010, 19(1): 151-159.
- [16] 朱宝益. 激动人心的丙肝治疗革命 [J]. *中国处方药杂志*, 2010, 7(100): 16.