

结核分枝杆菌 DprE1 抑制剂——Macozinone

宋慧娟¹, 娄琨², 吕凯^{1*}, 刘明亮¹

1. 中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所以, 北京 100050; 2. 石药集团中奇制药技术(石家庄)有限公司, 石家庄 050035

【摘要】 结核病(TB), 尤其是耐多药 TB(MDR-TB)是近 20 年全球细菌感染引起死亡的第一杀手, 故寻找具有全新作用机制的抗 TB 新药迫在眉睫。Macozinone(研发代号: PBTZ169)是靶向于 DprE1 的新型抗 MDR-TB 候选药物, 通过抑制结核分枝杆菌细胞壁的合成发挥杀菌作用, 目前处于 II 期临床研究阶段。本文就 Macozinone 的基本信息、作用机制、临床前研究及临床研究等方面作一概述。

【关键词】 Macozinone; PBTZ169; 结核病; DprE1 抑制剂

【中图分类号】 R978.3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1672-3384(2022)04-0011-05

Doi: 10.3969/j.issn.1672-3384.2022.04.003

Mycobacterium tuberculosis DprE1 inhibitor——Macozinone

SONG Hui-juan¹, LOU Kun², LYU Kai^{1*}, LIU Ming-liang¹

1. Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. CSPC Zhongqi Pharmaceutical Technology (Shijiazhuang) Co., Ltd., Shijiazhuang 050035, China

【Abstract】 Tuberculosis (TB), especially multidrug-resistant TB (MDR-TB), is the leading cause of death from bacterial infections in the past 20 years globally. Thus, there is an urgent need to develop new anti-TB drugs with novel mechanism. Macozinone (development code: PBTZ169), a new anti-MDR-TB candidate targeting DprE1, exerts bactericidal effect through inhibiting the synthesis of *Mycobacterium tuberculosis* cell wall, is currently being tested in phase II clinical trial. Basic information, mechanism of action, pre-clinical and clinical research of Macozinone were summarized in this review.

【Key words】 Macozinone; PBTZ169; tuberculosis; DprE1 inhibitor

结核病(tuberculosis, TB)是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, Mtb)引起的一种严重危害人类健康的慢性传染病^[1]。据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)统计, 2019 年约有 140 万人死于 TB; 在新型冠状病毒肺炎大流行的影响下, 2020 年死亡人数增加至 150 万^[2]。目前, 针对敏感型 TB 的推荐疗法为 4 种一线抗 TB 药物(利福平、异烟肼、乙胺丁醇及吡嗪酰胺)6~9 个月的联合给药, 该方案可使 85% 以上的敏感型 TB 患者痊愈, 但其治疗周期长、不良反应较多、临床依从性差^[2]。此外, 耐药 TB, 尤其是耐多药 TB (multidrug-resistant TB, MDR-TB) 和广泛耐药 TB (extensively drug-resistant TB,

XDR-TB)的发病率不断上升使 TB 的流行态势更为严峻^[3]。因此, 尽快研发具有全新作用机制的抗 TB 新药, 实现对 TB 的有效治疗与控制刻不容缓。

近年来, 抗 TB 新药的研发取得了重大突破, 贝达喹啉(Bedaquiline, 研发代号: TMC-207)、德拉马尼(Delamanid, 研发代号: OPC-67683)和普托马尼(Pretomanid, 研发代号: PA-824)相继获批用于治疗 TB 以及 MDR-TB^[4-5]。此外, 超过 13 个新化合物处于临床研究阶段, 包括 BTZ043、Delpazolid、GSK-3036656、Macozinone(研发代号: PBTZ169)、OPC-167832、Q203、SQ109、SPR720、Sutezolid、TBAJ-876、TBA-7371、TBI-166 和 TBI-223^[2]。其中, BTZ043 和 Ma-

*通信作者: 吕凯, 博士研究生, 副研究员, 研究方向: 主要从事抗感染药物研发。E-mail: lvkai@imb.pumc.edu.cn

cozinone 为苯并噻嗪酮类化合物,目前分别处于临床 I 期和 II 期研究阶段。该类化合物靶向作用于癸异戊烯磷酸基 β -D-核糖 2'-差向异构酶 1 (decaprenylphosphoryl- β -D-ribose-2'-epimerase-1, DprE1), 通过抑制细菌细胞壁的合成发挥抗结核活性^[6]。与 BTZ043 相比, Macozinone 结构更简单, 活性更好。本文就 Macozinone 的基本信息、作用机制、临床前研究及临床研究等方面作一概述。

1 基本信息

2009 年, 俄罗斯莫斯科科学家 Vadim Makarov 等在 *Science* 期刊上首次发表了具有优秀抗结核活性的苯并噻嗪酮类化合物, 其中优选化合物 BTZ043 对 Mtb H37Rv 的最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 达 1 ng/mL, 远优于对照药异烟肼 (0.02 ~ 0.2 μ g/mL) 和乙胺丁醇 (1 ~ 5 μ g/mL)^[7]。由于 BTZ043 在小鼠模型上的体内活性未达到预期且化合物的疏水性相对较大 (LogP = 2.84), 因此研究人员对 BTZ043 的结构进行了优化。将 BTZ043 的 2-位手性螺环片段替换为 4-环己基亚甲基-哌嗪得到体外活性更优的 PBTZ169, 其体外对 Mtb H37Rv 的 MIC 为 0.19 ng/mL^[8]。2018 年 9 月, WHO 授予 PBTZ169 国际非专利名称 Macozinone^[9]。Macozinone 化学结构式见图 1, 分子式为 $C_{20}H_{23}F_3N_4O_3S$, 相对分子质量为 456.48, LogP 为 3.20。

2 作用机制

DprE1 和 DprE2 是 DprE 家族的 2 个亚单位, 通过氧化还原反应介导 Mtb 细胞壁中阿拉伯半乳糖层

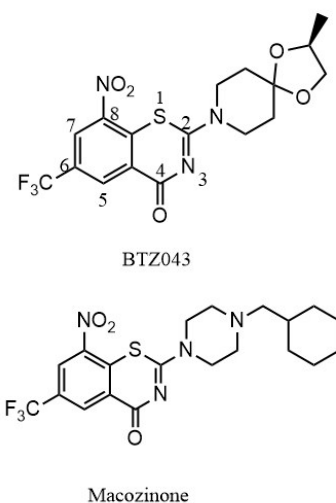


图1 BTZ043 和 Macozinone 的化学结构式

的形成^[10]。其中 DprE1 催化癸异戊烯磷酸基- β -D-核糖氧化反应, 而 DprE2 催化癸异戊烯磷酸基-2-酮基- β -D-赤式-五呋喃糖还原反应^[11-12]。研究表明, 苯并噻嗪酮类化合物靶向作用于 DprE1, 通过共价键与 DprE1 形成不可逆的结合, 影响 Mtb 细胞壁的合成从而导致细菌的死亡^[6-7]。João 等^[13]在 2012 年获得了 BTZ043 和 DprE1 的共结晶复合物 (PDB 数据库代码: 4F4Q); Makarov 等^[8]于 2014 年获得了 Macozinone 和 DprE1 的共晶复合物 (PDB 数据库代码: 4NCR)。苯并噻嗪酮母核的 8-位硝基在 DprE1 酶的催化作用下, 由还原型黄素腺嘌呤二核苷酸 ($FADH_2$) 提供电子, 被还原为亚硝基, 随后与 DprE1 的 Cys387 的巯基形成共价键, 导致 DprE1 不可逆失活, 从而抑制 Mtb 细胞壁的合成, 起到杀菌作用 (见图 2)^[6]。人体的还原代谢系统并无活化该类药物的能力, 因此 Macozinone 具有适宜的安全窗^[14]。

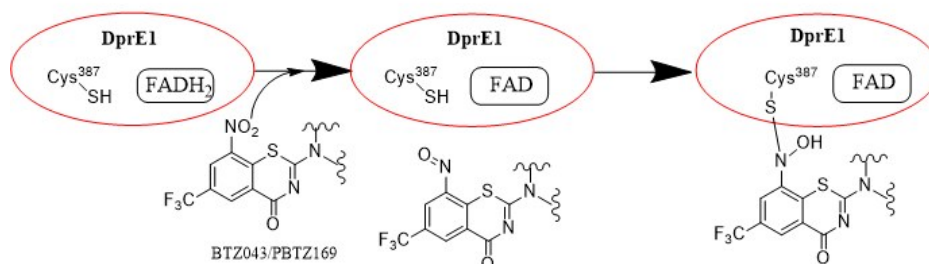


图2 苯并噻嗪酮类化合物作用机制

3 临床前研究

3.1 体外抗菌活性

Makarov 等^[8]报道 Macozinone 对 Mtb、牛分枝杆菌 BCG (*Mycobacterium bovis* BCG)、海鱼分枝杆菌 (*Mycobacterium marinum*)、耻垢分枝杆菌 (*Mycobacterium smegmatis*)、谷氨酸棒状杆菌 (*Corynebacterium glutamicum*) 均具有优秀的抗菌活性 (MIC_{99} : 0.0003 ~ 0.003 $\mu\text{g/mL}$); 对非典型的分枝杆菌, 如脓肿分枝杆菌 (*Mycobacterium abscessus*)、Boletti 分枝杆菌 (*Mycobacterium boletti*)、马赛分枝杆菌 (*Mycobacterium massiliense*) 和母牛分枝杆菌 (*Mycobacterium vaccae*) 无杀菌或抑菌活性 ($MIC_{99} > 100 \mu\text{g/mL}$)。此外, Shi 等^[15]报道 Macozinone 对 107 种 MDR-TB 和 104 种 XDR-TB 均具有优秀的体外活性 ($MIC_{90} < 0.016 \mu\text{g/mL}$)。

3.2 药物代谢动力学

Wang 等^[16]评估了 Macozinone 的药物代谢动力学性质, 在 SD 雌性大鼠模型尾部, 静脉注射给药 (2.5 mg/kg), Macozinone 的末端消除半衰期 ($t_{1/2}$) 为 1.64 h, 药物峰浓度 (C_{max}) 为 1445 ng/mL, 药-时曲线下面积 (AUC_{0-1}) 为 1543 h·ng/mL; 口服灌胃给药 (5、50 和 200 mg/kg), Macozinone 的 C_{max} 为 463~804 ng/mL, $t_{1/2}$ 为 4.23~5.76 h, AUC 为 1604~4725 h·ng/mL, 达峰时间 (T_{max}) 为 0.91~2.50 h, 生物利用度为 3.82%~10.70%。

3.3 体内药效学

Makarov 等^[8]在慢性结核感染小鼠模型上开展了 Macozinone 的体内药效学研究。口服 Macozinone 5、10、25、50 和 100 mg/kg 后, 所有剂量组均可显著降低小鼠脾和肺中的菌落形成单位 (colony forming unit, CFU)。在给药 5~50 mg/kg 时, 小鼠肺部 CFU 的降低呈剂量相关; 除 5、10 mg/kg 组外, 另 3 个剂量组小鼠脾和肺部中 $\text{Log}_{10}\text{CFU}$ 值与对照药异烟肼和利福平组基本相当, 见表 1。此外, 研究表明, 与异烟肼、利福平和吡嗪酰胺的联合给药标准疗法相比, Macozinone、贝达喹啉和吡嗪酰胺联合给药能更有效地减少慢性结核感染小鼠模型肺和脾中的分枝杆菌数量^[8]。

表 1 不同药物在慢性结核小鼠体内药效学参数

药物	剂量 (mg/kg)	肺 ($\text{Log}_{10}\text{CFU}$)		脾 ($\text{Log}_{10}\text{CFU}$)	
		实测值	降低值 ^a	实测值	降低值 ^a
空白对照	—	5.9	—	5.8	—
异烟肼	25	4.7	1.3	3.3	2.5
利福平	10	4.4	1.5	3.6	2.3
Macozinone	5	5.0	0.9	4.3	1.5
	10	4.8	1.1	3.8	2.0
	25	4.8	1.2	3.5	2.4
	50	4.7	1.3	3.5	2.3
	100	4.6	1.2	3.2	2.6

注:^a降低值 = 空白实测值 - 药物实测值; — 表示无数据

4 临床研究

4.1 临床 I 期研究

一项 I 期单剂量和多剂量爬坡试验 (NCT03036163)^[17]评估了 Macozinone 单次或多次给药的安全性、耐受性和药物代谢动力学特征。入组 40 名健康志愿者 (18~45 岁), 分为 7 组, 前 5 组每组 6 名受试者, 后 2 组每组 5 名受试者。前 5 组均单次给药 Macozinone (胶囊, 40 mg/粒), 分别给予 40、80、160、320、640 mg/次, 空腹口服; 后 2 组为多次给药, 给药 14 d, 每日 1 次, 剂量分别为 320、640 mg/次。研究结果显示, 80 mg 剂量组中有 1 例给药 2 h 后血糖水平升高, 在其他受试者中未发现该不良反应^[18]; 药物代谢动力学研究表明, Macozinone 的吸收较快, T_{max} 为 1.5~2.5 h; 前 5 组单次给药的 $t_{1/2}$ 为 10.2~18.2 h, 后 2 组的 $t_{1/2}$ 为 10.0~12.4 h; 单次给药的体内滞留时间为 13.0~19.3 h; 单次或多次给药剂量在 640 mg/次以下时, C_{max} 和 AUC_{0-1} 随着剂量的升高呈线性增加。

一项 I a 期随机、双盲、安慰剂对照的单剂量爬坡试验 (NCT03423030)^[19]评估了喷雾干燥固体分散体与原始晶体粉末 Macozinone 单次给药的安全性、耐受性和药物代谢动力学特征。入组 32 名成年健康男性志愿者 (18~48 岁), 随机分成 4 组 (A、B、C、D 组), 每组 8 名受试者 (6 名试验组, 2 名安慰剂组), 每组参与 2 个剂量组试验 (A: 10 和 40 mg 固体分散体; B: 20 和 80 mg 固体分散体; C 组: 160 mg 固体分散体和 160 mg 粉末; D 组 320 mg 固体分散体和 320 mg 粉末)。该项试验的研究结果尚未公布。

一项 I 期临床试验(NCT04150224)^[20]评价了饮食对 Macozinone 的安全性、耐受性及药物代谢动力学的影响。入组 60 名成年健康志愿者(18~45 岁),分为 6 组(C1A、C1B、C2、C3、C4 和 C5),每组 10 名。其中 C1A 组给药 2 次,640 mg/次,第 1 天空腹给药,第 7 天餐后给药;C1B 组给药 2 次,640 mg/次,第 1 天餐后给药,第 7 天空腹给药;C2 组单次空腹给药,960 mg/次;C3 空腹给药 2 次,640 mg/次,给药间隔大于 12 h;C4 组单次空腹给药 1280 mg;C5 组为餐后给药,1280 mg/次,每日 1 次,连续给药 14 d,以上均口服给药。研究表明,所有剂量组均未见严重不良反应,高剂量 C4 和 C5 组(1280 mg/次)出现一定程度的头痛、腹泻等不良反应。在 C1A 和 C1B 组中,Macozinone 餐后给药的 C_{\max} 和 AUC_{0-1} 为空腹给药的 2.29 倍和 3.16 倍;与空腹给药相比,餐后给药后药物的吸收和清除均较慢,其 T_{\max} 和 $t_{1/2}$ 分别延长了 1.67 倍和 1.41 倍^[18,20]。以上结果表明,Macozinone 适合餐后给药^[18]。

一项 I b 期随机、双盲、安慰剂对照的多剂量爬坡试验(NCT03776500)^[21]评估了 Macozinone 多次给药的安全性、耐受性和药物代谢动力学特征。32 名成年健康男性志愿者(18~48 岁),随机分成 4 组(A、B、C、D 组),每组 8 名受试者(6 名试验组,2 名安慰剂组),连续给药 14 d(A 组:150 mg/次,每日 2 次;B 组:300 mg/次,每日 2 次;C 组:600 mg/次,每日 1 次;D 组:600 mg/次,每日 2 次)。该项试验的研究结果尚未公布。

在以上 I 期临床试验中,Macozinone 单次、多次给药、增加剂量、更改给药方案(空腹或餐后给药)情况下,均未见死亡或严重不良反应以及与药物相关不良反应^[18]。此外,随着剂量的增加,未见不良反应的发生频率升高或严重程度增加。生命体征、各项生化指标以及试验监测数据的变化与 Macozinone 的给药剂量无剂量相关性^[18]。因此,Macozinone 在所研究的剂量范围内表现出良好的耐受性和安全性。

4.2 临床 II 期试验

一项 II a 期临床试验(NCT03334734)^[22]评估了 Macozinone 对敏感型 TB 患者的疗效、安全性以及药物代谢动力学特征。以异烟肼为对照药物,开展了 Macozinone 治疗敏感型 TB 的多中心、开放、随机研

究。因入组缓慢该研究提前终止,仅 16 例成年 TB 患者(18~65 岁)入组,其中 4 例口服 Macozinone(胶囊,80 mg/粒)160 mg/d、4 例 320 mg/d、7 例 640 mg/d、1 例异烟肼 600 mg/d,单用 14 d。早期杀菌活性(early bactericidal activity, EBA)结果显示,虽然 Macozinone 的所有剂量组 0~7 d 和 0~14 d 的 EBA 均小于对照药异烟肼,但 0~2 d 的 EBA 值大于异烟肼;另外,640 mg 和 160 mg 剂量组 0~14 d 的 EBA 为 0.061~0.071 $\text{Log}_{10} \text{CFU}/(\text{mL} \cdot \text{d})$,表明 Macozinone 具有明确的 EBA。见表 2。

表 2 不同时间及剂量 Macozinone 和异烟肼组的早期杀菌活性比较 [$\text{Log}_{10} \text{CFU}/(\text{mL} \cdot \text{d})$]

时间 (d)	Macozinone 组			异烟肼组 (600 mg/d)
	160 mg/d	320 mg/d	640 mg/d	
0~2	0.496±0.615	0.124±0.095	-0.003±0.452	-0.243
0~7	0.078±0.136	0.026±0.069	0.064±0.102	0.090
0~14	0.061±0.085	0.015±0.025	0.071±0.126	0.237

综上所述,TB 仍是全球性的公共卫生问题和社会问题,随着现有药物耐药率的不断上升,针对 TB 的新药需求也越来越迫切。Macozinone 作为一种新型作用机制的抗 TB 药物,在细胞和动物模型上对 MDR-TB 和 XDR-TB 均具有较好的抑制活性。Macozinone 的 I 期和初步 II 期临床研究结果表明,其具有良好的耐受性和安全性,以及明确的 EBA。因此,Macozinone 很有潜力成为治疗敏感型和耐药型 TB 的新药。相信未来 Macozinone 的上市会优化 TB 的治疗方案,从而提高和改善 TB 患者的生存质量。

【参考文献】

- [1] Miethke M, Pieroni M, Weber T, et al. Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics [J]. Nat Rev Chem, 2021, 5(10): 726-749.
- [2] World Health Organization. Global tuberculosis report 2021 [R]. Geneva: WHO, 2021.
- [3] Wallis RS, Maeurer M, Mwaba P, et al. Tuberculosis—advances in development of new drugs, treatment regimens, host-directed therapies, and biomarkers [J]. Lancet Infect Dis, 2016, 16(4): e34-e46.
- [4] Nicola JR, Jin HL. Delamanid: first global approval [J]. Drugs, 2014, 74(9): 1041-1045.
- [5] Stancil SL, Mirzayev F, Abdel-Rahman SM. Profiling pretomanid as a therapeutic option for TB infection: evidence to date [J]. Drug Des Dev Ther, 2021, 15: 2815-2830.
- [6] Trefzer C, Rengifo-Gonzalez M, Hinner MJ, et al. Benzothi-

- azinones: prodrugs that covalently modify the decaprenylphosphoryl-beta-D-ribose 2'-epimerase DprE1 of mycobacterium tuberculosis[J]. JACS, 2010, 132(39): 13663-13665.
- [7] Makarov V, Manina G, Mikusova K, et al. Benzothiazinones kill mycobacterium tuberculosis by blocking arabinan synthesis[J]. Science, 2009, 324(5928): 801-804.
- [8] Makarov V, Lechartier B, Zhang M, et al. Towards a new combination therapy for tuberculosis with next generation benzothiazinones[J]. Embo Mol Med, 2014, 6(3): 372-383.
- [9] World Health Organization. International nonproprietary names for pharmaceutical substances [EB/OL]. (2018-09-09) [2021-07-01]. [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/international-nonproprietary-names-\(inn\)/rl80.pdf?sfvrsn=1d084e80_6&download=true](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/international-nonproprietary-names-(inn)/rl80.pdf?sfvrsn=1d084e80_6&download=true).
- [10] Chikhale RV, Barmade MA, Murumkar PR, et al. Overview of the development of DprE1 inhibitors for combating the menace of tuberculosis[J]. J Med Chem, 2018, 61(19): 8563-8593.
- [11] Brecik M, Centárová I, Mukherjee R, et al. DprE1 is a vulnerable tuberculosis drug target due to its cell wall localization[J]. ACS Chem Biol, 2015, 10(7): 1631-1636.
- [12] Piton J, Vocat A, Lupien A, et al. Structure-based drug design and characterization of sulfonyl-piperazine benzothiazinone inhibitors of DprE1 from mycobacterium tuberculosis[J]. Antimicrob Agents Ch, 2018, 62(10): e00681-e00718.
- [13] João N, Florence P, Elisabetta M, et al. Structural basis for benzothiazinone-mediated killing of mycobacterium tuberculosis[J]. Sci Transl Med, 2012, 4(150): 150-121.
- [14] Motoyoshi H, Horigome M, Ishigami K, et al. Structure-activity relationship for FR901464: a versatile method for the conversion and preparation of biologically active biotinylated probes[J]. Biosci Biotech Bioch, 2004, 68(10): 2178-2182.
- [15] Shi J, Lu J, Wen S, et al. In vitro activity of PBTZ169 against multiple mycobacterium species[J]. AAC, 2018, 62(11): e01314-e01318.
- [16] Wang A, Lv K, Tao Z, et al. Identification of benzothiazinones containing an oxime functional moiety as new anti-tuberculosis agents[J]. Eur J Med Chem, 2019, 181: 111595.
- [17] ClinicalTrials.gov. Phase 1 study of PBTZ169 [EB/OL]. (2020-04-13) [2021-07-01]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03036163>.
- [18] Vadim M, Katarína M. Development of macoizinone for TB treatment: an update[J]. Appl Sci, 2020, 10(7): 2269.
- [19] ClinicalTrials.gov. Study to evaluate the safety, tolerability, pharmacokinetics and ex-vivo antitubercular activity of PBTZ 169 formulation [EB/OL]. (2018-07-13) [2021-07-01]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03423030>.
- [20] ClinicalTrials.gov. Safety, tolerability, pharmacokinetics and food effects study of PBTZ169 [EB/OL]. (2020-02-28) [2021-07-01]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04150224>.
- [21] ClinicalTrials.gov. Study to evaluate the safety, tolerability and pharmacokinetics of PBTZ169 in multiple dosing [EB/OL]. (2020-10-22) [2021-07-01]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03776500>.
- [22] ClinicalTrials.gov. Phase 2a study of PBTZ169 [EB/OL]. (2020-03-09) [2021-07-01]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03334734>.

收稿日期: 2021-07-31 本文编辑: 任洁