

## 萘普替尼靶向表皮生长因子受体不同突变亚型的抗肿瘤作用研究

姜一朴<sup>1,2</sup>, 邸志权<sup>2</sup>, 胡金芳<sup>2</sup>, 金涌<sup>1\*</sup>, 张宗鹏<sup>2\*</sup>, 周徐雅<sup>3</sup>

1. 安徽医科大学药学院, 安徽 合肥 230032

2. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

3. 安徽省武警总队医院药剂科, 安徽 合肥 230000

**摘要:** 目的 研究萘普替尼对表皮生长因子受体(EGFR)不同突变亚型荷瘤小鼠肿瘤生长的影响。方法 建立野生型EGFR人表皮鳞癌A431、L858R/T790M双突变EGFR非小细胞肺癌H1975、Del19突变型EGFR非小细胞肺癌HCC827及HER2高表达的胃癌N87的裸鼠移植瘤模型,待肿瘤长至100 mm<sup>3</sup>左右将小鼠分组, A431荷瘤小鼠分组:对照组、阿法替尼12 mg/kg和萘普替尼3.50、1.75、0.87、0.29 mg/kg; H1975荷瘤小鼠分组:对照组、阿法替尼30 mg/kg和萘普替尼7.00、3.50、1.75 mg/kg; HCC827荷瘤小鼠分组:对照组、阿法替尼12 mg/kg和萘普替尼3.50、1.75、0.87、0.60、0.29 mg/kg; N87荷瘤小鼠分组:对照组、阿法替尼12 mg/kg和萘普替尼7.00、3.50、1.75、0.87、0.29 mg/kg, 每组10只动物。分组后即开始ig给药, 对照组给予同体积去离子水, A431、H1975、HCC827、N87荷瘤小鼠分别给药14、21、7、14 d。观察相对肿瘤体积(RTV)、肿瘤增殖率及对肿瘤质量的抑制率, 在体考察萘普替尼的抗肿瘤作用。**结果** A431荷瘤小鼠:与对照组比较, 萘普替尼各剂量组RTV均显著减小( $P<0.01$ ), 肿瘤增殖率分别为26.6%、32.5%、34.8%、42.2%; 瘤质量均显著降低( $P<0.01$ ), 抑瘤率范围在48.3%~73.9%; 0.87 mg/kg为起效剂量, 3.5 mg/kg剂量与阿法替尼12 mg/kg效果相当, 3.5 mg/kg组小鼠体质量显著降低( $P<0.01$ )。H1975荷瘤小鼠:与对照组比较, 萘普替尼各剂量组RTV均显著降低( $P<0.05$ 、0.01), 肿瘤增殖率分别为14.5%、38.2%、65.3%; 3.5 mg/kg为起效剂量, 与阿法替尼30 mg/kg作用相当; 7.0、3.5 mg/kg组小鼠体质量显著降低( $P<0.05$ 、0.01)。HCC827荷瘤小鼠:与对照组比较, 萘普替尼3.50、1.75、0.87、0.60 mg/kg组RTV降低极为显著( $P<0.01$ ), 肿瘤增殖率均小于40%; 瘤质量呈不同程度地降低, 抑瘤率范围52.9%~89.7%; 0.6 mg/kg为起效剂量, 1.75 mg/kg剂量与阿法替尼12 mg/kg作用相当, 3.5、1.75 mg/kg组小鼠体质量显著降低( $P<0.01$ )。N87荷瘤小鼠:萘普替尼7.00、3.50、1.75 mg/kg组RTV及瘤质量均显著低于对照组( $P<0.05$ 、0.01), 且肿瘤增殖率均小于40%, 抑瘤率范围54.9%~95.00%; 1.75 mg/kg为起效剂量, 3.5 mg/kg与阿法替尼12 mg/kg作用相当; 7.0、3.5 mg/kg组小鼠体质量显著降低( $P<0.01$ )。**结论** 萘普替尼具有明显的抗肿瘤作用, 其中对EGFR野生型或单突变型荷瘤抗肿瘤作用较好。

**关键词:** 萘普替尼; 表皮生长因子受体; 表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂; 突变; 非小细胞肺癌

中图分类号: R962.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2019)05-0833-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.05.005

## Anti-tumor effect of neptinib targeting different mutant subtypes of EGFR

JIANG Yipu<sup>1,2</sup>, DI Zhiquan<sup>2</sup>, HU Jinfang<sup>2</sup>, JIN Yong<sup>1</sup>, ZHANG Zongpeng<sup>2</sup>, ZHOU Xuya<sup>3</sup>

1. School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co., Ltd., Tianjin 300301, China

3. Department of pharmacy, Hospital of Armed Police of Anhui Province, Hefei 230000, China

**Abstract: Objective** To study the effect of neptinib on the growth of tumors in mice bearing different EGFR mutant subtypes.

**Methods** Xenograft models of wild-type EGFR human epidermal squamous cell carcinoma cell line A431, double mutant EGFR (L858R/T790M) non-small cell lung cancer cell line H1975, Del19 mutant EGFR non-small cell lung cancer cell line HCC827 and HER2 highly expressed gastric cancer cell line N87 in nude mice were established. The mice were divided into groups when the tumor grew to 100 mm<sup>3</sup>. A431 mice were divided into control group, alfatnib 12 mg/kg, naphtinib 3.50, 1.75, 0.87, 0.29 mg/kg; H1975 mice were divided into control group, alfatnib 30 mg/kg, naphtinib 7.00, 3.50, 1.75 mg/kg; HCC827 mice were divided into

收稿日期: 2018-12-11

第一作者: 姜一朴(1994—),女,安徽人,硕士研究生,研究方向为药理学。E-mail: jiyipu94@163.com

\*通信作者: 金涌,男,教授,硕士生导师。E-mail: jinyong@ahmu.edu.cn

张宗鹏,男,研究员,硕士生导师。E-mail: zhangzp166@163.com

control group, alfatnib 12 mg/kg, naphthinib 3.50, 1.75, 0.87, 0.60, 0.29 mg/kg; N87 mice were divided into control group, alfatnib 12 mg/kg, naphthinib 7.00, 3.50, 1.75, 0.87, 0.29 mg/kg. Ten animals in each group. The mice in control group were given deionized water of the same volume. The mice bearing A431, H1975, HCC827 and N87 were ig given for 14, 21, 7 and 14 days respectively. To observe the relative tumor volume (RTV), the tumor growth rate and the tumor inhibition rate, which aims to investigate the anti-tumor effect of neptinib *in vivo*. **Results** A431 tumor-bearing mice: Compared with the control group, the RTV of each dose of Naprotinib decreased significantly ( $P < 0.01$ ), the proliferation rate of tumors was 26.6%, 32.5%, 34.8%, 42.2%, the tumour quality was significantly reduced ( $P < 0.01$ ), the inhibition rate ranged from 48.3% to 73.9%; 0.87 mg/kg was the effective dose, 3.5 mg/kg was equivalent to 12 mg/kg of Alphatinib, and the body weight of mice in 3.5 mg/kg group was significantly decreased ( $P < 0.01$ ). H1975 tumor-bearing mice: Compared with the control group, the RTV of each dose group of Naprotinib decreased significantly ( $P < 0.05, 0.01$ ), the proliferation rate of tumor was 14.5%, 38.2%, 65.3%, 3.5 mg/kg was the effective dose, which was equivalent to 30 mg/kg of Alfatnib, and the body weight of mice in 7.0 and 3.5 mg/kg groups decreased significantly ( $P < 0.05, 0.01$ ). HCC827 tumor-bearing mice: Compared with the control group, the RTV of Naprotinib 3.50, 1.75, 0.87, 0.60 mg/kg group decreased significantly ( $P < 0.01$ ), and the proliferation rate of tumors was less than 40%. The tumour quality decreased in varying degrees, and the inhibition rate ranged from 52.9% to 89.7%. The effective dose was 0.6 mg/kg, and the dose of 1.75 mg/kg was equivalent to that of alfatnib 12 mg/kg, and the body weight of mice in 3.5 and 1.75 mg/kg groups decreased significantly ( $P < 0.01$ ). N87 tumor-bearing mice: RTV and tumor mass of naphthinib 7.00, 3.50, 1.75 mg/kg group were significantly lower than those of control group ( $P < 0.05, 0.01$ ), and the tumor proliferation rate was less than 40%, the inhibition rate ranged from 54.9% to 95.00%. 1.75 mg/kg was the effective dose, and the effect of 3.5 mg/kg was the same as that of afatinib 12 mg/kg; the body mass of mice in 7.0 and 3.5 mg/kg groups decreased significantly ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Neptinib has obvious anti-tumor effect, especially on tumors with wild-type or single-mutant EGFR.

**Key words:** neptinib; epidermal growth factor receptor (EGFR); epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs); mutation; non-small cell lung cancer (NSCLC)

表皮生长因子受体(EGFR)是一种细胞膜表面的糖蛋白受体,其结构由胞外配体结合区、跨膜结构域和具有酪氨酸激酶活性的胞内区域三部分组成<sup>[1]</sup>。酪氨酸激酶受体EGFR家族,也被称为人表皮生长因子受体(HER)或ErbB家族,由HER1/ErbB1(即EGFR)、HER2/ErbB2、HER3/ErbB3、HER4/ErbB4组成<sup>[2]</sup>。既往研究表明,多种恶性肿瘤都与EGFR家族成员的突变或表达增加相关,包括肺癌、胃癌、乳腺癌、头颈癌等<sup>[3-6]</sup>,EGFR信号转导通路在肿瘤细胞的增殖、侵袭及新生血管形成等方面起重要作用,是极具潜力的抗肿瘤药物靶点之一<sup>[7]</sup>。

奈普替尼是一种靶向EGFR的表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI),其结构是参考抗肿瘤药阿法替尼的母核加以优化改造而得。结合替尼类抗肿瘤药物的治疗靶点,本研究拟通过动物实验探究奈普替尼对肿瘤的抑制作用及对EGFR不同突变亚型荷瘤的敏感性差别,为进一步的临床研究提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 瘤株

人源表皮鳞癌A431、人源非小细胞肺癌H1975、人源非小细胞肺癌HCC827、人源胃癌N87,均购自中国科学院上海生命科学研究院。

### 1.2 药物与主要试剂

奈普替尼,批号20140807,深圳海王药业有限公司提供;阿法替尼,批号HW14M2910-2,深圳海王药业有限公司提供。Trypan Blue,批号1128B054,Solarbio公司。

### 1.3 实验动物

SPF级BALB/c-nu小鼠,雌性,体质量14~18 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2012-0001。饲养于天津药物研究院新药评价有限公司动物实验楼(屏障环境,GLP认证,AAALAC认证),动物使用许可证号SYXK(津)2011-0005。

### 1.4 主要仪器

游标卡尺,0.02 mm精度,上海申量;分析天平,PL203型,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;天平,G&G2000型,美国双杰兄弟(集团)有限公司。

## 2 方法

### 2.1 异种移植瘤动物模型的建立<sup>[8]</sup>

取对数生长期细胞,常规消化离心重悬,取少量悬液稀释一定倍数,0.4%台盼蓝溶液镜下计数细胞密度及成活率,成活率大于90%时调整细胞密度为 $(1\sim 2)\times 10^7/\text{mL}$ 。用1 mL注射针抽取单细胞悬液,接种于裸鼠右前肢腋下,每只0.2 mL。使用游标卡尺测量各鼠肿瘤的长、宽,按公式 $V=0.5\times a\times$

$b^2$  ( $V$ 为肿瘤体积,  $a$ 为长,  $b$ 为宽)计算肿瘤体积。待肿瘤长至约300 mm<sup>3</sup>时,取肿瘤生长良好的荷瘤裸鼠脱颈处死,常规消毒后剥离肿瘤,选取透亮肉色部分切成约2 mm×2 mm×2 mm小块,接种裸鼠右前肢腋下进行肿瘤传代,至少体内传代1次后用于正式实验。

## 2.2 实验分组及给药

待肿瘤长至100 mm<sup>3</sup>左右,依肿瘤体积大小按随机区组法将动物分组,依据前期实验摸索,萘普替尼对各细胞系荷瘤小鼠敏感性不同,剂量设定有所不同。A431荷瘤小鼠分组:对照组、阿法替尼12 mg/kg和萘普替尼3.50、1.75、0.87、0.29 mg/kg; H1975荷瘤小鼠分组:对照组、阿法替尼30 mg/kg和萘普替尼7.00、3.50、1.75 mg/kg; HCC827荷瘤小鼠分组:对照组、阿法替尼12 mg/kg和萘普替尼3.50、1.75、0.87、0.60、0.29 mg/kg; N87荷瘤小鼠分组:对照组、阿法替尼12 mg/kg和萘普替尼7.00、3.50、1.75、0.87、0.29 mg/kg。每组10只动物。

分组后即开始ig给药,对照组给予同体积去离子水,20 mL/kg,于给药期间测量肿瘤的长径、短径及体质量,2次/周,给药天数依据实验结果确定,

A431、H1975、HCC827、N87组分别为14、21、7、14 d。末次给药后24 h,称量体质量并测量瘤径后处死动物,剖取肿瘤组织并称质量。实验至少重复1次。

## 2.3 检测指标及评价标准

2.3.1 检测指标 ①相对肿瘤体积(RTV)= $V_t/V_0$  ( $V_0$ :给药前肿瘤体积,  $V_t$ :每次测量的肿瘤体积);②肿瘤增殖率=治疗组RTV/对照组RTV;③抑瘤率=(对照组瘤质量-给药组瘤质量)/对照组瘤质量

2.3.2 有效评价标准 肿瘤增殖率≤40%,且给药组RTV与对照组比较差异具有统计学意义。

## 2.4 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用SPSS 20.0统计软件分析,先进行方差齐性检验,方差齐时,以单因素方差分析进行多组间比较,两两比较采用Dunnett's t检验,方差不齐时,采用非参数检验进行多组间比较,两两比较采用Kruskal-Wallis检验。

## 3 结果

### 3.1 对野生型EGFR表皮鳞癌A431的影响

如表1和图1所示,萘普替尼各剂量组与对照组比较,RTV均显著减小( $P < 0.01$ ),肿瘤增殖率分

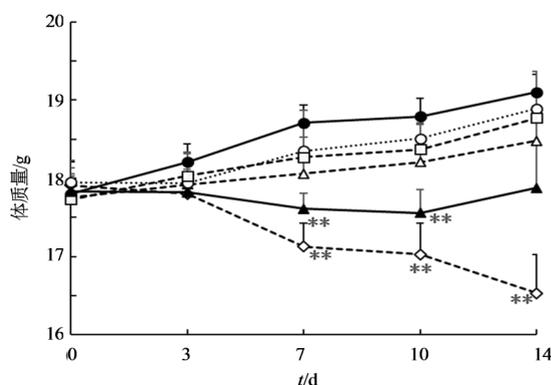
表1 萘普替尼对A431荷瘤小鼠RTV、肿瘤增殖率、瘤质量及抑瘤率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effects of neptinib on RTV, tumor proliferation rate, tumor weight and inhibition rate of A431 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	RTV	肿瘤增殖率/%	瘤质量/g	抑瘤率/%
对照	—	3.48±0.90	100.0	1.139±0.515	—
萘普替尼	3.50	0.92±0.27**	26.6	0.298±0.194**	73.9
	1.75	1.13±0.23**	32.5	0.428±0.181**	62.4
	0.87	1.21±0.27**	34.8	0.503±0.198**	55.9
	0.29	1.47±0.29**	42.2	0.589±0.246**	48.3
阿法替尼	12	0.93±0.22**	26.6	0.302±0.099**	73.5

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs control group



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group

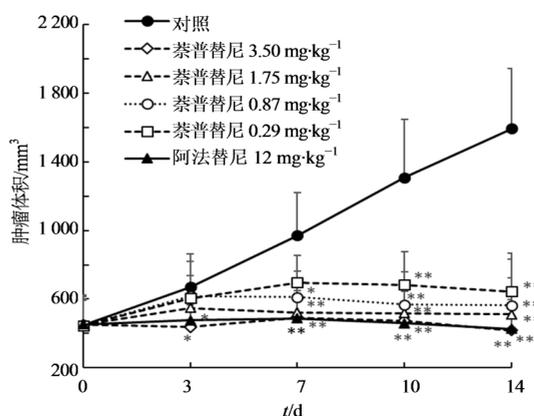


图1 A431荷瘤小鼠体质量变化及肿瘤生长曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 1 Change curve of body weight and growth curve of tumor in A431 mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

别为26.6%、32.5%、34.8%、42.2%，瘤质量均显著降低( $P < 0.01$ )，抑瘤率范围在48.3%~73.9%，其中0.29 mg/kg剂量组肿瘤增殖率超过40%，为无效剂量，0.87 mg/kg为起效剂量，3.5 mg/kg剂量与阿法替尼12 mg/kg效果相当。奈普替尼3.5 mg/kg组小鼠体质量显著降低( $P < 0.01$ )，1.75、0.87 mg/kg剂量对小鼠体质量无明显影响。

### 3.2 对L858R/T790M双突变EGFR非小细胞肺癌H1975的影响

解剖该肿瘤时发现，瘤体包膜内存在大量黏性液体，肿瘤实质很小，易破裂，因此未对肿瘤进行称量。结果见表2、图2，奈普替尼各剂量组RTV与对照组比较均显著降低( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )，肿瘤增殖率分别为14.5%、38.2%、65.3%，其中1.75 mg/kg剂量组肿瘤增殖率超过40%，为无效剂量，3.5 mg/kg为起效剂量，与阿法替尼30 mg/kg作用相当。奈普替尼7.0、

表2 奈普替尼对H1975荷瘤小鼠RTV及肿瘤增殖率的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	RTV	肿瘤增殖率/%
对照	—	19.66±6.47	100.0
奈普替尼	7.00	2.85±0.29**	14.5
	3.50	7.50±1.01**	38.2
	1.75	12.83±5.79*	65.3
阿法替尼	30	4.89±2.68**	24.9

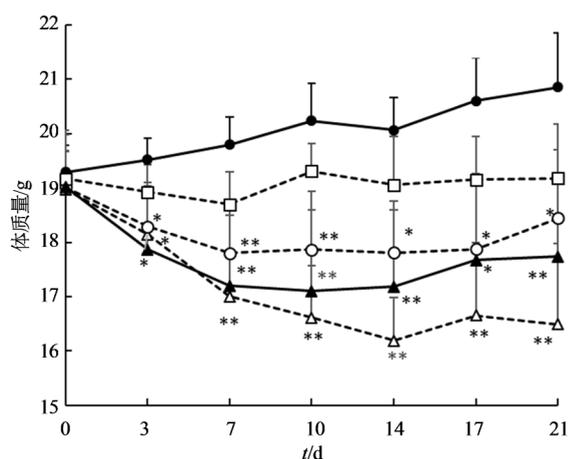
与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group

3.5 mg/kg组小鼠体质量显著降低( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。

### 3.3 对Del19突变型EGFR非小细胞肺癌HCC827的影响

如表3、图3所示，奈普替尼3.50、1.75、0.87、



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group

图2 H1975荷瘤小鼠体质量变化曲线及肿瘤生长曲线( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 2 The change curve of body weight and the growth curve of tumor in H1975 mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

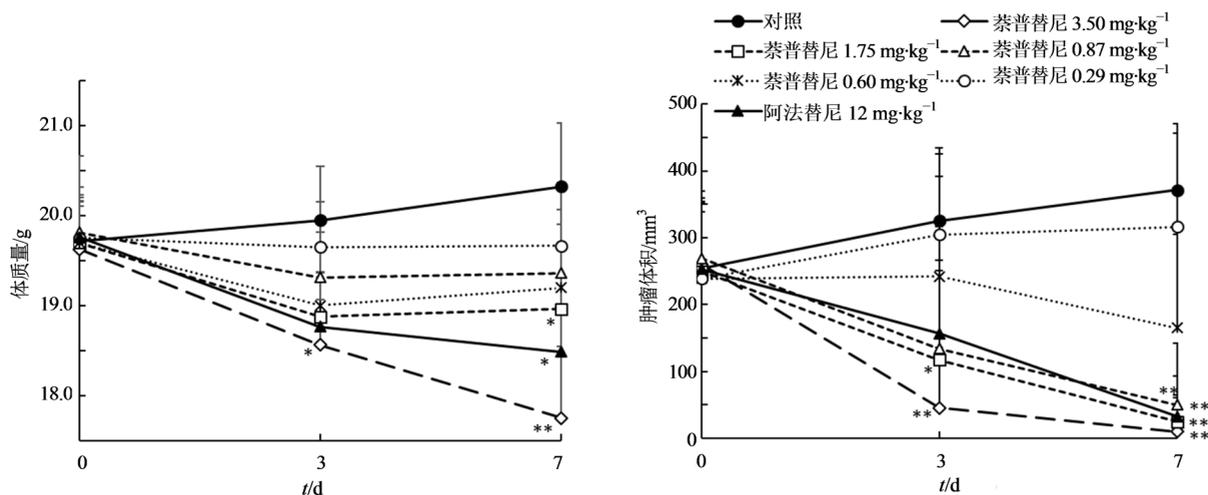
表3 奈普替尼对HCC827荷瘤小鼠RTV、肿瘤增殖率、瘤质量及抑瘤率的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effects of neptinib on RTV, tumor proliferation rate, tumor weight and inhibition rate of HCC827 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	RTV	肿瘤增殖率/%	瘤质量/g	抑瘤率/%
对照	—	1.62±0.39	100.0	0.273±0.160	—
奈普替尼	3.50	0.18±0.07**	11.1	0.028±0.031**	89.7
	1.75	0.16±0.07**	10.2	0.043±0.068**	84.3
	0.87	0.18±0.08**	11.2	0.027±0.023**	90.0
	0.60	0.51±0.50**	31.8	0.128±0.167	52.9
	0.29	1.31±0.30	81.2	0.196±0.142	28.3
	阿法替尼	12	0.28±0.09**	17.1	0.041±0.039**

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group

图3 HCC827荷瘤小鼠体质量变化曲线及肿瘤生长曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 3 Change curve of body weight and the growth curve of tumor in HCC827 mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

0.60 mg/kg 组 RTV 与对照组比较降低极为显著 ( $P < 0.01$ ), 肿瘤增殖率均小于 40%, 瘤质量呈不同程度地降低, 抑瘤率范围 52.9%~89.7%。0.29 mg/kg 剂量组与对照组比较 RTV 无明显变化, 为无效剂量, 0.6 mg/kg 为起效剂量, 1.75 mg/kg 剂量与阿法替尼 12 mg/kg 作用相当, 奈普替尼 3.5、1.75 mg/kg 组小鼠体质量显著降低 ( $P < 0.01$ ), 0.87、0.60 mg/kg 剂量对体质量无明显影响。

### 3.4 对 HER2 高表达型胃癌 N87 的影响

结果如表 4、图 4 所示, 奈普替尼 7.00、3.50、1.75 mg/kg 组 RTV 及瘤质量均显著低于对照组 ( $P < 0.05、0.01$ ), 且肿瘤增殖率均小于 40%, 抑瘤率范围 54.9%~95.00%。0.87 mg/kg 剂量 RTV 虽显著低于对照组 ( $P < 0.01$ ), 但肿瘤增殖率为 54.9%, 未低于 40%, 为无效剂量, 1.75 mg/kg 为起效剂量, 3.5 mg/kg 与阿法替尼 12 mg/kg 作用相当。奈普替

尼 7.0、3.5 mg/kg 组分别于给药 3、7 d 小鼠体质量出现负增长 ( $P < 0.01$ ), 1.75 mg/kg 组对小鼠体质量影响较小。

### 4 讨论

目前, 靶向 EGFR 的药物主要有两类: 一类是作用于 EGFR 胞外区的单克隆抗体, 如西妥昔单抗; 另一类是作用于 EGFR 胞内区的 EGFR-TKI, 即替尼类, 其通过结合胞内的酪氨酸激酶, 阻断分子内酪氨酸的自身磷酸化, 干扰下游信号通路的传导而抑制肿瘤细胞增殖<sup>[2]</sup>。

以吉非替尼为代表的可逆型单靶点 EGFR-TKI 对 EGFR 激活突变 (主要是 19 外显子缺失突变 (Del19) 和 21 外显子 L858R 突变) 的晚期 NSCLC 患者的治疗具有明显的效果, 但随着治疗时间的延长多数患者发生 T790M 等二次突变, 使治疗有效的患者大都发生了获得性耐药<sup>[9-10]</sup>。以阿法替尼为代

表4 奈普替尼对 N87 荷瘤小鼠 RTV、肿瘤增殖率、瘤质量及抑瘤率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Effects of neptinib on RTV, tumor proliferation rate, tumor weight and inhibition rate of N87 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	RTV	肿瘤增殖率/%	瘤质量/g	抑瘤率/%
对照	—	3.21±1.27	100.0	0.427±0.190	0
奈普替尼	7	0.14±0.06**	4.3	0.021±0.025**	95.0
	3.5	0.34±0.23**	10.5	0.059±0.082**	86.2
	1.75	0.97±0.29**	30.2	0.192±0.182*	54.9
	0.87	1.76±0.37**	54.9	0.307±0.210	27.9
	0.29	2.39±0.38	74.4	0.435±0.280	-1.9
阿法替尼	12	0.64±0.30**	19.9	0.102±0.144**	76.0

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group

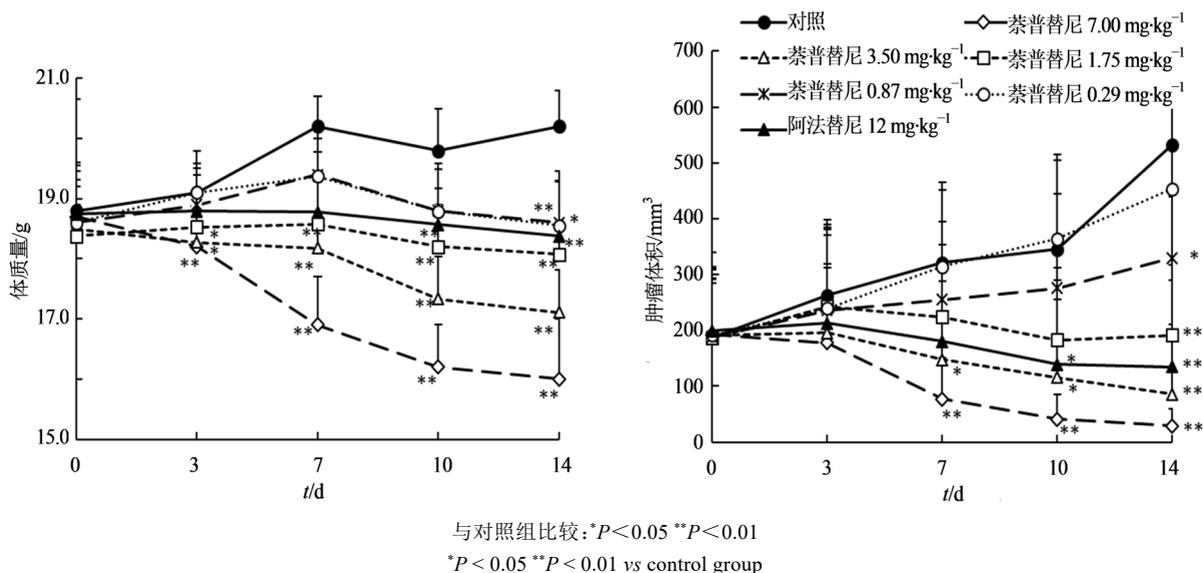


图4 N87荷瘤小鼠体重变化曲线及肿瘤生长曲线( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 4 Change curve of body weight and growth curve of tumor in N87 mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

表的多靶点不可逆EGFR-TKI可以共价键形式牢固的与EGFR、HER2结合,不可逆地阻断其信号传导,克服获得性耐药问题的同时抗肿瘤活性也更好<sup>[11]</sup>。以奥斯替尼为代表的选择性的不可逆EGFR-TKI则是特异性的针对EGFR活性突变而对野生型EGFR作用较小<sup>[12]</sup>。

萘普替尼是一种多靶点不可逆EGFR-TKI,其结构与阿法替尼类似,化合物中含有的 $\alpha, \beta$ 不饱和双键能与表皮生长因子受体酪氨酸激酶(EGFR-TK)中的Cys797的巯基发生迈克尔加成反应,形成共价键达到不可逆的共价抑制作用。不同的是,萘普替尼以能形成阳离子的集团修饰噻唑啉母核C7位旨在提高化合物的活性。本研究旨在验证萘普替尼对EGFR不同突变类型肿瘤的体内抑制作用。综合临床上常见的EGFR突变类型,本研究选择了表达EGFR野生型的人表皮鳞癌A431、Del19突变的非小细胞肺癌HCC827、L858R/T790M双突变非小细胞肺癌H1975及HER2高表达胃癌N87的癌细胞系,建立异体移植瘤模型进行体内研究。

研究结果显示,萘普替尼起效剂量为0.6 mg/kg,具有显著的抗肿瘤增殖作用,对EGFR不同突变类型肿瘤的抑制作用亦明显不同,敏感性由高到低为:非小细胞肺癌HCC827>人表皮鳞癌A431>胃癌N87>非小细胞肺癌H1975,萘普替尼对野生型或单突变EGFR荷瘤抑制作用较好,对双突变EGFR荷瘤的抑制作用相对较差。给予萘普替尼较小剂量即可产生与阿法替尼相对较大剂量相当的药效,提示萘普替尼较阿法替尼具有较宽的安全范围,在本

实验室进行的大鼠给药4周的长毒试验显示,萘普替尼1.5 mg/kg剂量下(相当于大鼠药效学等效剂量的5倍)未出现严重的不可逆的毒性反应,也对此进行了验证。

萘普替尼在体内具有显著的抗肿瘤作用,其中对EGFR野生型或单突变型荷瘤抗肿瘤作用较好。目前,萘普替尼已先后获国家CFDA及美国FDA批准进入临床试验研究,期待萘普替尼具有较好的临床治疗作用。

#### 参考文献

- [1] 王星星, 谷少伟, 米立志. EGFR家族受体的分子结构与药物作用机制[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(7): 735-744.
- [2] 朱海游, 胡昌华. 基于表皮生长因子受体的靶向治疗药物研发进展[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(20): 2376-2382.
- [3] Langer C J. Exploring biomarkers in head and neck cancer [J]. Cancer, 2012, 118(16): 3882-3892.
- [4] Lin J H, Lin D, Xu L, et al. The association between clinical prognostic factors and epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) efficacy in advanced non-small-cell lung cancer patients: A retrospective assessment of 94 cases with EGFR mutations [J]. Oncotarget, 2017, 8(2): 3412-3421.
- [5] Jeong W J, Cha P H, Choi K Y. Strategies to overcome resistance to epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy in metastatic colorectal cancer [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(29): 9862-9871.

- [6] Elbaz M, Ahirwar D, Ravi J, et al. Novel role of cannabinoid receptor 2 in inhibiting EGF/EGFR and IGF-I/IGF-IR pathways in breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(18): 29668-29678.
- [7] 覃玲艳, 王华新, 王立波, 等. CD147、EGFR 及 HIF-1 $\alpha$  与肿瘤的侵袭及转移 [J]. *中国肿瘤*, 2015, 24(2): 127-133.
- [8] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [9] 鞠娜, 史美祺, 寇莹莹, 等. 阿法替尼在克服一代 EGFR-TKI 耐药方面的研究进展 [J]. *中南药学*, 2016, 14(5): 511-515.
- [10] 陈亚楠, 张菊, 刘文超. EGFR 突变种类与临床疗效关联 [J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(5): 943-945.
- [11] 刘丹, 栾天, 袁莹, 等. 多靶点酪氨酸激酶抑制剂阿法替尼及其类似物的研究进展 [J]. *中国药学杂志*, 2014, 49(24): 2145-2149.
- [12] 郭芷汛, 刘欢, 李艳, 等. 表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂在治疗非小细胞肺癌方面的研究进展 [J]. *实用医院临床杂志*, 2018, 15(1): 208-210.