

## 第二代 Bcr/Abl 酪氨酸激酶抑制剂巴氟替尼

范宗兄<sup>1</sup>, 石玉<sup>2</sup>, 刘日<sup>3</sup>, 周祥<sup>1</sup>, 邹美香<sup>2</sup>, 李祎亮<sup>2\*</sup>

1. 广西中医药大学, 广西南宁 530001

2. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193

3. 天津中医药大学, 天津 300193

**摘要:** 酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼对于断裂点集中区/艾贝尔森 (Bcr-Abl) 阳性白血病有着显著的治疗效果, 但由于抗药性的原因影响了其在临床上的应用。作为第二代 Bcr-Abl 酪氨酸激酶抑制剂巴氟替尼在一系列临床前和临床后研究中表现出了良好的应用前景。

**关键词:** 巴氟替尼; Bcr/Abl 酪氨酸激酶受体抑制; 靶向药物; 白血病; 抗肿瘤

**中图分类号:** R97      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1674-5515(2012)03-0268-04

## Second generation Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitor bafetinib

FAN Zong-xiong<sup>1</sup>, SHI Yu<sup>2</sup>, LIU Ri<sup>3</sup>, ZHOU Xiang<sup>1</sup>, ZOU Mei-xiang<sup>2</sup>, LI Yi-liang<sup>2</sup>

1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China

2. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

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

**Abstract:** Although the tyrosine kinase inhibitor imatinib has the obvious efficacy on breakpoint cluster region-Abelson (Bcr-Abl) leukemia. However, clinical application is limited due to its drug-resistance. As the second generation Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitor, bafetinib has a bright prospect in before and after clinical research.

**Key words:** bafetinib; breakpoint cluster region-Abelson (Bcr-Abl) tyrosine kinase inhibitor; target drugs; leukemia; antitumor

### 1 药物概况

名称: 巴氟替尼

曾用名: INNO-406、NS-187

化学名: *N*-[3-(4,5-联吡啶-2-氨基)-4-苯甲基]-4-[(3*S*-(二甲氨基)吡咯烷-1-甲基)-3-(三氟甲烷)苯甲酰胺

分子式: C<sub>30</sub>H<sub>31</sub>F<sub>3</sub>N<sub>8</sub>O

相对分子质量: 576.62

CAS: 859217-05-3

结构式:

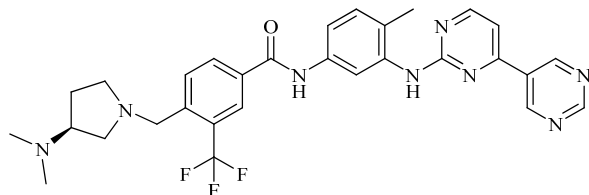


图 1 巴氟替尼的结构

Fig. 1 Structure of bafetinib

研制公司: 美国 CyRx 公司

药理分类: Bcr/Abl 酪氨酸激酶抑制剂

适应症: 慢性骨髓性白血病 (CML)、费城染色体阳性急性淋巴细胞白血病 (Ph+ALL)

目前阶段: II 期临床

### 2 相关背景

诺华公司的甲磺酸伊马替尼 (商品名格列卫) 是全球首个批准上市的酪氨酸激酶抑制剂, 应用于 CML 的治疗, 2009 年的全球销售额达 39.5 亿美元。

伊马替尼在临床上获得显著治疗效果, 但是在临床使用上易引起耐药性问题。目前美国“全国综合癌症网络”定义甲磺酸伊马替尼的原发性耐药是指: (1) 治疗 3 个月未能达到完全血液学响应; (2) 治疗 6 个月没有细胞基因学响应; (3) 治疗 12 个月仅获部分细胞基因学响应; (4) 治疗 18 个月未能达到完全细胞基因学响应。统计资料表明, 在美、日、

收稿日期: 2012-03-19

作者简介: 范宗兄, 男, 药物化学专业硕士研究生, 从事药物研发相关工作。E-mail: 20990440@qq.com

\*通讯作者 李祎亮, 男, 博士, 副研究员。Tel: (022)23006023 E-mail: liyl@tjipr.com

法、德、意、西、英 7 大全球药物市场上, 约 8.4% 新诊出慢性期 CML 患者, 对甲磺酸伊马替尼治疗表现出不耐性或呈原发性耐药; 对甲磺酸伊马替尼治疗最初有很好响应且因此在数年间疾病没有进展的患者, 也可能获得继发性的耐药性, 随后发生疾病复发并面临进展到晚期阶段的风险; 超过 25% 的获得完全细胞基因学响应的 CML 患者会在日后发展产生对甲磺酸伊马替尼的继发性耐药性<sup>[1]</sup>。因此, 解决 CML 获得性耐药已成为迫切需要解决的难题。

巴氟替尼是第二代 Bcr/Abl 酪氨酸激酶抑制剂, 体外活性试验中, 巴氟替尼能够抑制 13 种 Bcr/Abl 蛋白中的 12 种, 对 Bcr/Abl 的抑制活性约是伊马替尼的 25~55 倍, 除此以外本品还能抑制 Lyn 活性而不影响 Src、Blk 和 Yes 的磷酸化作用 (Lyn 的超表达与伊马替尼耐药性产生有关<sup>[2]</sup>)。巴氟替尼显著抑制 Bcr/Abl 突变的裸鼠肿瘤生长, 约是伊马替尼的 10 倍, 并且能够显著地延长肿瘤小鼠的存活时间, 巴氟替尼可以治疗对伊马替尼产生抗药作用的费城染色体阳性白血病<sup>[3]</sup>。

### 3 作用机制

9 号染色体长臂上 C-abl 原癌基因易位至 22 号染色体长臂的断裂点集中区 (Bcr), 形成 Bcr/Abl 融合基因。此基因产生一种新的 mRNA, 编码的蛋

白为 P210。P210 具有增强酪氨酸激酶的活性, 改变了细胞多种蛋白质酪氨酸磷酸化水平和细胞微丝机动蛋白的功能, 扰乱了细胞内正常的信号传导途径, 使细胞失去了对周围环境的反应性, 并抑制了凋亡的发生。Bcr/Abl 抑制剂的作用机制是竞争性地与 Bcr/Abl 蛋白结合, 阻止磷酸基从 ATP 向底物的传递, 从而阻止 CML 和 Ph+All 细胞的增殖<sup>[4]</sup>。

### 4 合成路线<sup>[4]</sup>

以 5-乙酰基嘧啶为原料, 与 *N,N*-二甲基甲酰胺二甲缩醛混合加热, 得到 3-(二甲氨基)-1-(5-嘧啶)-2-丙烯-1-酮 (1), 以化合物 1 为原料, 2-丙醇为溶剂, 在胍的硝酸盐中加入 NaOH, 加热到 120 °C, 成环后得到 1-甲基-4-硝基-2-[4-(5-嘧啶基)嘧啶-2-氨基]-苯 (2)。以化合物 2 为原料, 在 THF/MeOH 中, 加入甲酸和 Pd/C, 氢化还原得到相应的苯胺 (3)。以 4-甲基-3-(三氟甲基)苯甲酸为原料, 在异丙基醋酸盐中加入氯化钠和亚硫酸氢钠, 得到 4-(乙基溴)-3-(三氟甲烷)-苯甲酸(4), 以化合物 4 为原料, 在 COCl<sub>2</sub> 中处理, 并在二氯甲烷中用 DMF 催化得到盐酸盐化合物 (5)。以化合物 5 和 3 为原料, 在 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 存在的二氧六环中连接生成化合物 6, 在 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 存在的无水 DMF 中, X 上的 Br 被 (-)-(*S*)-3-(二甲胺)吡咯烷取代。合成路线见图 2。

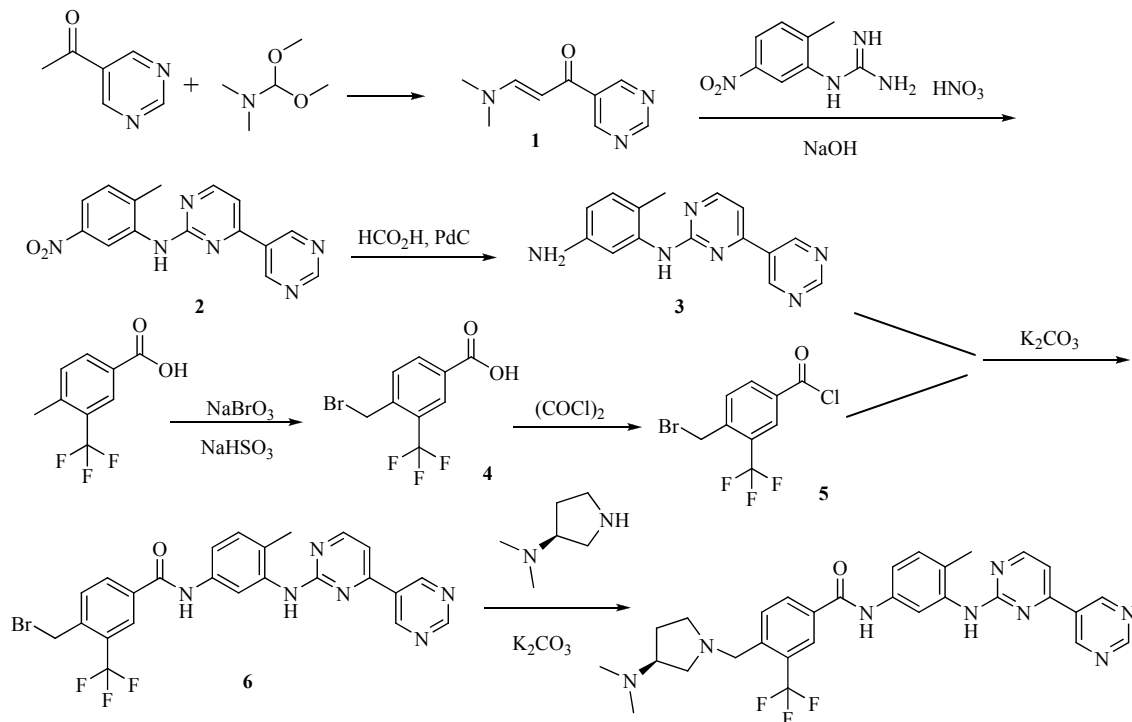


图 2 巴氟替尼的合成

Fig. 2 Synthesis of bafetinib

## 5 临床前研究

### 5.1 体外活性研究

0.1  $\mu\text{mol/L}$  巴氟替尼和 10  $\mu\text{mol/L}$  伊马替尼对 Abl 的抑制率相同, 因此在该浓度下对比测试二者对于 79 种酪氨酸激酶(包括 5 种 src 激酶家族、Blk、Src、Fyn、Lyn、Yes) 的抑制效果。巴氟替尼在 0.1  $\mu\text{mol/L}$  时仅对 79 种酪氨酸激酶中的 4 种[Abl、Abl-related gene (Arg)、Fyn、Lyn]有抑制效果, 尤其是在该浓度下对于 PDGFR、PDGFR、Blk、Src、Yes 均无抑制效果。伊马替尼在 10  $\mu\text{mol/L}$  时抑制了 9 种酪氨酸激酶, 分别是 Abl、Arg、Blk、FMS-like TK-3 (Flt3)、Fyn、Lyn、PDGFR、PDGFR、p70S6K。经过测试巴氟替尼对 Abl、Src、Lyn 的  $\text{IC}_{50}$  分别为 5.8、1 700、19 nmol/L, 作为对比伊马替尼的  $\text{IC}_{50}$  分别为 106、>10 000、352 nmol/L。结果表明巴氟替尼对于 Abl 有着更高的特异性。

目前已经发现 Abl 激酶蛋白有 30 多处突变点, 一个实验对比了巴氟替尼和伊马替尼对其中 13 种突变蛋白的抑制效果, 见表 1。结果表明巴氟替尼能抑制 13 种突变蛋白中除 T315I 以外的 12 种蛋白, 对 Bcr/Abl 的抑制活性约是伊马替尼的 25~55 倍。提示巴氟替尼对突变的 Abl 激酶蛋白有着更好的抑制效果<sup>[3]</sup>。

表 1 巴氟替尼和伊马替尼对突变蛋白的抑制

Table 1 Inhibition of bafetinib and imatinib on mutuin

Abl kinase	$\text{IC}_{50}/(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1})$	
	巴氟替尼	伊马替尼
Wild type	72	1 100
M244V	240	3 500
G250E	160	2 000
Q252H	410	2 100
Y253F	81	1 500
E255K	540	5 800
E255V	1 400	>10 000
T315I	>10 000	>10 000
F317L	760	1 900
M351T	150	3 900
E355G	580	7 100
E359V	1 300	>10 000
H396P	95	1 400
F486S	470	9 500

### 5.2 体内活性研究

BALB/c 裸鼠在第 0 天注射突变的 KU812 细胞, 第 7~17 天分别 ig 巴氟替尼或伊马替尼, 结果表明, 伊马替尼在 20 mg/(kg·d) 开始出现抑制肿瘤生长作用, 200 mg/(kg·d) 下几乎完全抑制肿瘤生长。巴氟替尼在 0.2 mg/(kg·d) 就能显著地抑制肿瘤的生长, 在 20 mg/(kg·d) 就能完全抑制肿瘤生长并且没有不良反应。裸鼠在巴氟替尼 0.2 mg/(kg·d) 剂量治疗下的  $C_{\text{max}}$  为 4 nmol/L, 20 mg/(kg·d) 剂量治疗下的  $C_{\text{max}}$  为 400 nmol/L, 分别相当于巴氟替尼体外活性浓度。巴氟替尼的体外活性浓度为伊马替尼的 1/10, 完全抑制肿瘤生长的浓度也要小 100 倍。巴氟替尼在小鼠模型上表现出了很好的耐受性<sup>[3]</sup>。

BALB/c 裸鼠注射 M244V、G250E、Q252H、Y253F、E255K、T3151、M351T 和 H396P 突变的 Ba/F3 细胞, 灌胃巴氟替尼或伊马替尼 11 d, 第 23 天空白组小鼠全部死亡, 第 25 天伊马替尼 400 mg/(kg·d) 治疗的小鼠全部死亡。与空白组小鼠相比巴氟替尼表现出剂量相关地延长存活时间<sup>[3]</sup>。Bafetinb 在 200 mg/(kg·d) 下, 对于野生型 Bcr/Abl 或者变异的 Bcr/Abl (除 T3151) Ba/F3 的小鼠具有明显延长存活时间的效果, 且没有明显的毒性。伊马替尼在 400 mg/(kg·d) 仍然表现出很小的活性。巴氟替尼能够延长 Bcr/Abl 表达突变的 Q252H 或者 M351T 的 BA/F3 细胞小鼠的平均存活率, 巴氟替尼抑制细胞生长的  $\text{IC}_{50}$  和小鼠的成活率呈负相关。这一点也与体外活性测试相一致。另外, 神经系统复发成为近年来阻碍伊马替尼治疗 Ph 阳性白血病的因素。中枢神经系统复发原因可能是伊马替尼不能透过 P-糖蛋白组成的血脑屏障。巴氟替尼和伊马替尼一样作用于 P-糖蛋白, 其中枢神经系统中的浓度是其血浆中浓度的 10%, 这点残余的浓度能抑制野生型 Bcr/Abl 突变的 Ph+ 白血病细胞在中枢神经系统中的生长。环孢素作为一种 P-糖蛋白抑制剂, 能够增强巴氟替尼对中枢神经系统 Ph+ 的抑制效果<sup>[5]</sup>。这些研究表明巴氟替尼是一种有希望的治疗中枢神经系统 Ph+ 白血病的药物。因此, 在小鼠白血病模型的实验室研究中巴氟替尼的表现揭示出其在临床上的价值<sup>[6]</sup>。

### 5.3 药动学

BALB/C 小鼠灌胃巴氟替尼 30 mg/kg 的药动学参数: 最大有效时间 ( $t_{\text{max}}$ ) 2 h, 血浆最大浓度 ( $C_{\text{max}}$ ) 661 ng/mL, 曲线下面积 ( $\text{AUC}_{0-\infty}$ ) 2294 ng·h/mL,

半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 1.0 h, 生物利用度 32%。巴氟替尼在 BALB/C 或 BALB/C nu 小鼠的最大耐受浓度为 200 mg/(kg·d), 小鼠治疗剂量在 100 mg/kg 时估计巴氟替尼最大有效浓度为 2.226  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[3]</sup>。

## 6 临床研究

### 6.1 I 期临床<sup>[7]</sup>

I 期临床研究中, 41 名伊马替尼抵抗型或耐受型 Ph+ 白血病患者, 平均年龄 61 岁 (20~76 岁), 患病时间 6 年 (0.1~23 年), 伊马替尼平均治疗时间 0.8 年 (0.1~6.5 年)。CML 病人慢性期 (CP,  $n=21$ ), 加速阶段 (AP,  $n=7$ ), 爆发期 (BP,  $n=6$ ), Ph+All ( $n=7$ )。口服巴氟替尼, 剂量为每天 30~480 mg/次, 或者每天两次, 120~480 mg。前期治疗, 包括尼罗替尼 ( $n=9$ ), 达沙替尼 ( $n=13$ ), 达沙替尼/尼罗替尼 ( $n=10$ )。巴氟替尼平均治疗时间 42 d。产生突变的患者: Y253H ( $n=4$ ), F311L ( $n=3$ ), E317L ( $n=2$ ), T315I ( $n=2$ )。14 名患者继续进行, 22 名患者因为病情恶化中断了研究, 4 名患者不在进行其他疗法治疗, 1 名患者因为毒性终止了研究。血液学和细胞遗传学方面的评价, 之前接受伊马替尼治疗失败的 7 名 CP 患者中, 有 2 人产生了细胞学响应, 其中 1 名患者是主要分子响应, 另外 1 名患者也产生了较小的细胞学响应。在至少 1 种酪氨酸激酶抑制剂治疗失败的 CP 患者中, 有 1 名患者产生了完全的细胞学响应, 该患者在之前的治疗中无法耐受伊马替尼 (肺和皮肤毒性) 和达沙替尼 (胸腔积液)。7 名多重酪氨酸激酶抑制剂治疗失败的患者中, 2 名患者产生完全的血学响应。另外 1 名 Y253H 突变患者出现恢复迹象, 1 名患者 F317L 突变消失。相关的不良事件包括可逆性的转氨酶降低。1 名患者被报道在 480 mg 时出现剂量限制毒性, 表现为肝损伤和骨髓抑制。临床研究表明, 患者对巴氟替尼具有很好的耐受性, 甚至在一些其他治疗失败后的重病人中也有效果, 因此巴氟替尼治疗是一种可行的 CML 治疗方法。

### 6.2 II 期临床

目前巴氟替尼处于多项 II 期临床测试, 包括 B-

细胞慢性白血病和前列腺癌, 以及一项进行中的对脑瘤的治疗。

## 7 结语

巴氟替尼是一种对 Abl 酪氨酸激酶抑制剂具有高效、高选择性的药物。基于临床研究, 巴氟替尼不仅适用于伊马替尼治疗的病人, 并且还能用于一些 ABL TKI-抵抗或耐受的病人。I 期临床研究表明在有效剂量下病人对巴氟替尼有很好的耐受性。因此巴氟替尼是一种很有价值的 CML 治疗药物。

## 参考文献

- [1] 马培奇. 慢性骨髓性白血病治疗药物及其市场发展趋势 [J]. 上海医药杂志, 2011, 32(1): 25-26.
- [2] Donato N J, Wu J Y, Stapley J, *et al.* BCR-ABL independence and LYN kinase overexpression in chronic myelogenous leukemia cells selected for resistance to STI-571 [J]. *Blood*, 2003, 101: 690-698.
- [3] Kimura S, Naito H, Segawa H, *et al.* NS-187, a potent and selective dual Bcr-Abl/Lyn tyrosine kinase inhibitor, is a novel agent for imatinib-resistant leukemia [J]. *Blood*, 2005, 106(12): 3948-54.
- [4] Takeuchi M, Kimura S, Ashihara E, *et al.* Dual BCR/ABL and Lyn tyrosine kinase inhibitor treatment of chronic myeloid leukemia [J]. *Drug Fut*, 2009, 34(4): 261-269.
- [5] Yokota A, Kimura S, Oyama T, *et al.* INNO-406, a novel BCR-ABL/Lyn dual tyrosine kinase inhibitor, suppresses the growth of Ph+ leukemia cells in the central nervous system, and cyclosporine A augments its *in vivo* activity [J]. *Blood*, 2007, 109(1): 306-314.
- [6] Naito H, Kimura S, Nakaya Y, *et al.* *In vivo* antiproliferative effect of NS-187, a dual Bcr-Abl/Lyn tyrosine kinase inhibitor, on leukemic cells harbouring Abl kinase domain mutations [J]. *Leuk Res*, 2006, 30(11): 1443-1446.
- [7] Kantarjian H M, Cortes J, Le Coutre P, *et al.* A phase I study of INNO-406 in patients with advanced Philadelphia (Ph plus) chromosome-positive leukemias who are resistant or intolerant to imatinib and second generation tyrosine kinase inhibitors [J]. *Blood*, 2007, 110: 144A.