

• 未来药物 •

新型 PARP 抑制剂 veliparib

徐春秀^{1,2}, 石 玉², 张师愚¹, 刘 日^{1,2}, 李 靖³, 周 祥⁴, 邹美香², 李祎亮^{2*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

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. 中国矿业大学, 江苏 徐州 221116

4. 广西中医药大学, 广西 南宁 530001

摘 要: 肿瘤细胞能够激活自身 DNA 的损伤修复机制进行修复, 从而导致其对抗肿瘤药物和放疗产生耐药性, 而聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 是一种 DNA 修复酶, 在 DNA 修复通路中起关键作用。veliparib 是一种新型高选择抑制 PARP 的苯并咪唑类化合物, 体内实验表明本品具有显著的抑制 PARP 活性的作用。在治疗转移性乳腺癌、结肠癌、转移性黑色素瘤和脑肿瘤方面已取得显著的效果, 其与替莫唑胺联用治疗乳腺癌的研究即将进入 III 期临床。

关键词: veliparib; PARP 抑制剂; 抗肿瘤

中图分类号: R91

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2013)01-0069-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.01.020

Novel PARP inhibitor—veliparib

XU Chun-xiu^{1,2}, SHI Yu², ZHANG Shi-yu¹, LIU Ri^{1,2}, LI Jing³, ZHOU Xiang⁴, ZOU Mei-xiang², LI Yi-liang²

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

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

3. China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, China

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

Abstract: Tumor cells are able to activate their own DNA damage repair so as to repair themselves, thus causing drug resistance against antitumor drugs and radiotherapy. While polyadenylation diphosphate ribose transferase (poly ADP-ribose polymerase, PARP) is a DNA repair enzyme which plays a key role in DNA repair pathways. Veliparib is a novel oral benzimidazole derivative that is a highly potent and selective PARP. The *in vivo* and *in vitro* experiments show that veliparib has a significant inhibition on PARP activity. In the treatment of metastatic breast cancer, colon cancer, metastatic melanoma, and brain tumor, the compound has made a significant effect, and its combination with temozolomide is going to enter phase III in clinic for the treatment of breast cancer.

Key words: veliparib; PARP inhibitors; antitumor

1 药物概况

通用名: veliparib

别名: ABT-888

化学名: 2-[(2R)-2-甲基-2-吡咯烷基]-1H-苯并咪唑-7-甲酰胺

CAS: 912444-00-9

分子式: C₁₃H₁₆N₄O

相对分子质量: 244.29

原研公司: 雅培

结构见图 1

适应症: 转移性乳腺癌、结肠癌和转移性黑色素瘤、脑肿瘤

收稿日期: 2012-12-02

作者简介: 徐春秀 (1986—), 硕士研究生, 研究方向为分子靶向抗肿瘤药物的设计、合成、工艺研究及其药理筛选。

E-mail: 2008abxuxiuxiu@163.com

*通信作者 李祎亮 Tel: (022) 23006023 E-mail: langyil@sina.com

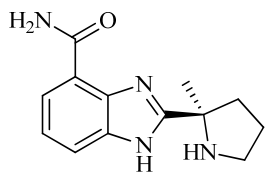


图 1 veliparib 的结构

Fig. 1 Structure of veliparib

目前阶段：即将进入 III 期临床

2 相关背景

癌症的治疗始终是当今世界一大难题。到目前为止，大部分抗肿瘤药物都是通过损伤 DNA 途径来达到杀灭肿瘤细胞的，但由于肿瘤细胞能够激活自身 DNA 的损伤修复机制进行修复，进而在药物治疗和放疗过程中会产生抗性，通过进一步研究发现肿瘤细胞中 DNA 修复酶有过度表达的现象^[1-2]。因此阻断 DNA 修复通路是肿瘤治疗的一个重要新途径。

聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 是一种 DNA 修复酶，PARP 家族至少含有 6 个成员，分别为 PARP-1、PARP-2、PARP-3、PARP-4/VPARP, Tankyrase-1 和 Tankyrase-2 等。PARP 具有催化 ADP-核糖单元的功能，即将 ADP-核糖单元从烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 转移至各种受体蛋白，PARP 还具有保持染色体结构完整、参与 DNA 复制和转录的作用，并且在维持基因组稳定和细胞死亡过程中也发挥着重要作用。经过进一步的研究发现 PARP 是肿瘤发展和炎症发生过程中的主要转录因子，在其转录过程中发挥着关键的作用。DNA 损伤断裂时会激活 PARP，它作为 DNA 损伤的一种分子感受器，具有识别、结合到 DNA 断裂位置的功能，进而激活、催化受体蛋白的聚 ADP 核糖基化作用，参与 DNA 的修复过程^[3]。因此，抑制 PARP 的活性能够增强放疗和 DNA 损伤类化疗药物的效果。进而达到治疗肿瘤的效果。PARP 也是当今癌症治疗的一个新靶点。

veliparib 为苯并咪唑类结构的第 3 代活性高、选择性好的 PARP 抑制剂。主要作用于 PARP-1 和 PARP-2。目前 veliparib 与全脑放疗联合应用治疗转移性脑瘤已经进入 I 期临床阶段，而用于治疗转移性乳腺癌、结肠癌和转移性黑色素瘤也进入 II 期临床阶段。据报道其与替莫唑胺联合应用于治疗乳腺癌的研究即将进入 III 期临床^[4]。

3 PARP 抑制剂的作用机制

PARP-1 是由 1 014 个氨基酸残基组成的，相对分子质量为 1.16×10^5 ，在体内含量最高，PARP-1 主要由 3 个结构域即 N 端、中间区域和 C 端组成；其中，N 端是含有 2 个锌指基序的 DNA 结合结构域，中间区域是由两个紧密相连的核定位信号序列组成且具有 caspase-3 酶切功能，C 端是具有催化功能的结构域，以 NAD⁺ 为底物，催化聚腺苷二磷酸核糖的合成^[5]。目前多数 PARP-1 抑制剂的作用靶点是在 C 端。PARP-1 抑制剂同底物 NAD⁺ 的结构相似，通过竞争 NAD⁺ 与 PARP 催化活性位点的结合，进而对 PARP 产生抑制。

在 DNA 单链修复中，PARP-1 发挥着主导作用，它作为 DNA 损伤的一种分子感受器，在 DNA 损伤后被激活，识别并结合到 DNA 断裂部位，在断裂部位起到减少重组发生的作用，避免受损 DNA 受核酸外切酶的作用。它与 DNA 缺口结合使其催化活性提高，并在结合后通过自身的糖基化作用形成同型二聚体来催化 NAD⁺，将其分解为烟酰胺和 ADP 核糖，再以 ADP 核糖为底物，将核受体蛋白聚 ADP 核糖化形成线状或直链的 PARP-1-ADP 核糖多聚物。这些多聚 ADP 核糖支链能防止附近的 DNA 分子与损伤的 DNA 进行重组；能够降低 PARP-1 与 DNA 的亲合性，将 PARP-1 从 DNA 断裂处解离下来，然后引导 DNA 修复酶与 DNA 缺口结合，在损伤部位进行修复。在细胞内的聚 ADP 核糖水解酶可以将解离下来的 PARP-1-ADP 核糖多聚物裂解，重新形成 PARP-1 与 ADP 核糖。ADP 核糖可重新用于烟酰胺合成 NAD⁺。而 PARP-1 可重新被激活与 DNA 结合，如此反复循环进行 DNA 损伤的修复^[6-9]。在肿瘤细胞中，当 PARP 活性受抑制时 DNA 损伤修复就会出错，随着易错修复的 DNA 损伤增多，肿瘤细胞就会死亡，从而达到治疗肿瘤的目的^[4]。

4 药物合成^[10-11]

首先以 L-丙氨酸乙酯 (1) 为原料，在碳酸钾、碘化钠存在下，于 N,N-二甲基甲酰胺反应溶剂中与 3-溴丙醇反应，得 (S)-N-羟丙基丙氨酸乙酯 (2)；2 与二碳酸二叔丁酯反应得 (S)-N-叔丁氧羰基-N-羟丙基丙氨酸乙酯 (3)；3 在四溴化碳溶剂中与三苯基膦反应得 (S)-N-叔丁氧羰基-N-溴丙基丙氨酸乙酯 (4)；4 在 N,N-二甲基甲酰胺反应溶剂中与六甲基二硅基胺基钾反应得 (R)-1-叔丁氧羰基-2-甲基-2-乙氧

甲酰基吡咯烷 (5); 5 于氢氧化钠水溶液中水解得 (*R*)-1-叔丁氧羰基-2-甲基吡咯烷-2-羧酸 (6); 以 2-氨基-3-硝基苯甲酸 (7) 为原料在二氯亚砷与氨气存在下反应生成 2-氨基-3-硝基苯甲酰胺 (8); 然后 8 在氢气存在下钯碳催化还原生成 2,3-二氨基苯甲酰胺 (9); 6 与 9 在 DCC 与 HOBt 作用下反应得

1-[(*R*)-1-叔丁氧羰基-2-甲基吡咯烷基甲酰基]-2-氨基-3-氨基甲酰基苯胺 (10); 10 与醋酸反应得 2-[(2*R*)-2-甲基-1-叔丁氧羰基吡咯烷基]-1*H*-苯并咪唑-7-甲酰胺 (11); 11 脱保护得 2-[(2*R*)-2-甲基-2-吡咯烷基]-1*H*-苯并咪唑-7-甲酰胺 (veliparib)。合成路线见图 2。

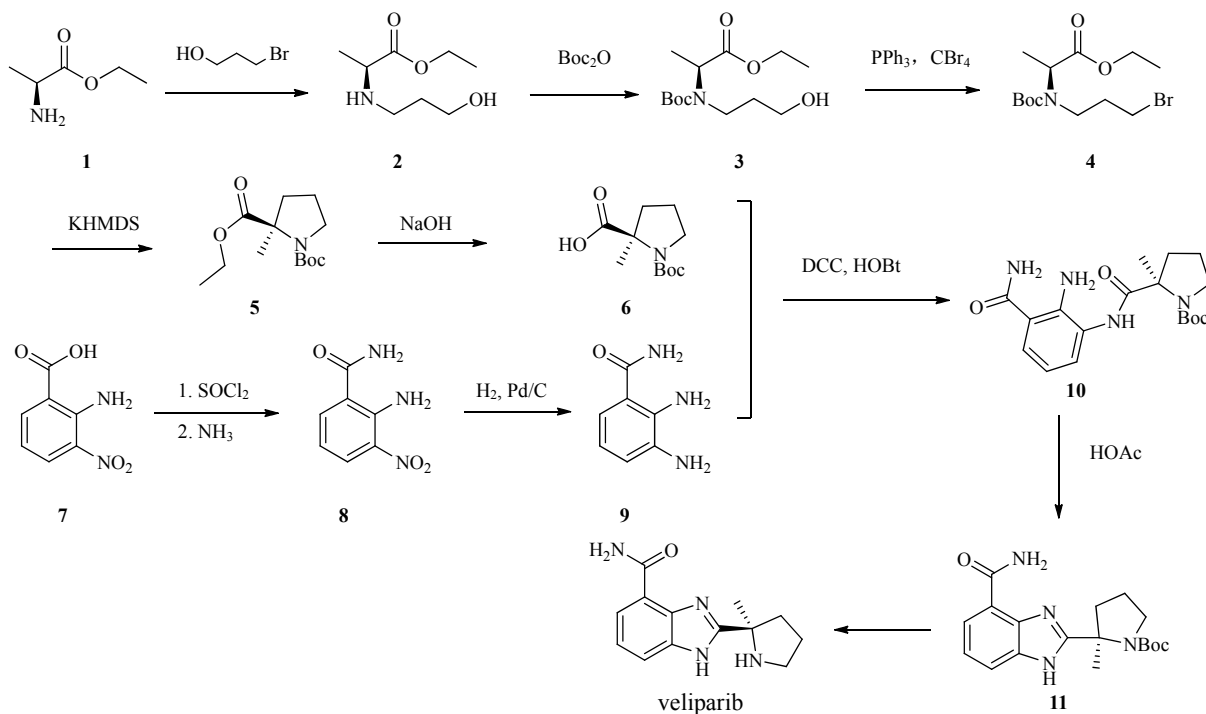


图 2 Veliparib 的合成路线

Fig. 2 Synthetic route of veliparib

5 药理作用

veliparib 能有效抑制 PARP。体外激酶选择性活性筛选实验表明,其对 PARP-1 和 PARP-2 具有显著抑制作用,IC₅₀ 值分别为 5.2、2.9 nmol/L。此外,veliparib 对人的 H₁ 受体、5-HT_{1A} 受体和 5-HT₇ 受体也有抑制作用,其 IC₅₀ 值分别为 5.3、1.5、1.2 μmol/L。可以看出 veliparib 有一定的生物选择性,避免了选择性差而引起的副作用。体外细胞激酶选择性活性筛选试验显示,veliparib 抑制 C41 细胞,EC₅₀ 为 2 nmol^[12]。

veliparib 在 B16F10 小鼠黑色素瘤模型和 9L 原位鼠神经胶质瘤模型中抑制 PARP,从而增强替莫唑胺的抗癌活性。在 B16F10 小鼠黑色素瘤模型中,替莫唑胺的给药浓度为 62.5 mg/(kg·d),veliparib 的给药浓度分别为 3.1、12.5、25 mg/(kg·d) 时出现最大功效的时间在第 19 天,并且没有观察到明显的细胞

毒性反应^[12]。

在 40 名健康志愿者的外周血液单核细胞中,使用 0.21 μmol/L veliparib 处理 2 h 获得的 PAR(PARP 的一个产物)的水平为 47.5%,相对于用靶向药物控制时的 50%,显现出更好的水平^[13]。

在体内肿瘤模型研究中,veliparib 和其他细胞毒素药剂如顺铂、卡铂和环磷酰胺联合应用于 MX-1 转移性乳腺癌模型时显示出强抗癌效力,veliparib 给药量为 25 mg/(kg·d),卡铂给药量为 10、15 mg/(kg·d) 时,第 38 天出现最大功效。相对肿瘤增殖率为 34% ($P=0.011$)、18% ($P<0.0001$); veliparib 给药量为 25 mg/(kg·d),环磷酰胺给药量为 12.5 mg/(kg·d) 时,第 38 天出现最大功效相对肿瘤增殖率为 35% ($P=0.0011$)^[12]。

此外,veliparib 可降低肺癌 H460 细胞中克隆基因的存活率,且抑制 DNA 修复。veliparib 推迟

NCI-H460 移植瘤模型的肿瘤生长。在 A375 和 Colo829 移植瘤模型中按肿瘤大小, 分别加 3、12.5 mg/kg veliparib, 可以看到肿瘤内 95%以上 PAR 被抑制^[14]。

由于具有良好的血脑屏障通过性, veliparib 与替莫唑胺联用治疗脑部多形性胶质母细胞瘤时, 有明显的抑制作用, 肿瘤收缩率达 67%。

6 药动学和新陈代谢^[12]

分别在 CD-1 小鼠、大鼠、狗和猴子体内对 veliparib 的药动学情况进行了评价。veliparib 的体内清除率为 0.6~4.1 L/(h·kg), 稳态时的分布容积 (V_{ss}) 为 2.36~4.42 L/kg, 半衰期为 1.2~2.7 h。以溶液形式口服时, 生物利用度为 56%~92% (表 1、2)。结果显示, veliparib 表现出很好的生物利用度。

表 1 静脉给药的药动参数

Table 1 Pharmacokinetic parameters of iv administration

动物	剂量/(mg·kg ⁻¹)	$t_{1/2}$ /h	V_{ss} /(L·kg ⁻¹)	AUC/(μg·h·mL ⁻¹)	清除率/(L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹)
CD-1 小鼠	10.0	1.6	2.43	4.10	4.1
大鼠	5.0	1.2	2.46	2.46	2.0
狗	2.5	2.7	4.42	4.42	0.6
猴子	2.5	1.9	2.36	2.36	1.1

表 2 口服给药的药动参数

Table 2 Pharmacokinetic parameters of oral administration

动物	剂量/(mg·kg ⁻¹)	C_{max} /(μg·mL ⁻¹)	$t_{1/2}$ /h	AUC/(μg·h·mL ⁻¹)	生物利用度/%
CD-1 小鼠	10	1.6	1.3	2.24	92
大鼠	5	0.5	1.6	1.52	62
狗	2.5	2.7	0.5	3.22	73
猴子	2.5	2.5	2.3	1.33	56

7 临床研究

临床前研究表明 veliparib 具有良好的口服生物利用度, 在动物模型上也表现了抗肿瘤活性。在 0 期临床试验中评价了单次口服 veliparib 10、25、50 mg 对肿瘤组织的影响, 以及在外周血单核细胞实时计数 (可作为 PARP 活性的替代指标), 在 14 名患者体内进行试验, 结果没有观察到明显的毒性。在本次试验中, 单剂量 (25 mg 或 50 mg) 3~6 h 后, 6 名患者有 4 名的肿瘤活性组织中 PAR 水平降低 90%以上, 这一结果与动物模型相符, 外周血单核细胞中的反应也同样, 并获得了靶点完全抑制所需要的最适剂量。免除了 I 期临床, 直接考察了 veliparib 与其他细胞毒性药物的联用^[16]。

I 期临床研究显示, veliparib 与拓扑替康联合用于治疗难治的实体肿瘤和淋巴瘤患者时, 表现出很好的最大耐受量、安全性、药动学和药效学。在对 24 位患者进行的安全性研究中, 静脉注射拓扑替康, 每天 0.6 mg/m², 同时结合 veliparib, 口服剂量 10 mg, 2 次/d, 连续给药 21 d, 检查血浆与尿液, 检测肿瘤与外周血单核细胞中的 PARP, DNA 损伤

标志与 γH2AX 的水平。拓扑替康不会改变 veliparib 的药动学。在肿瘤切片中抑制 PARP 的水平达到 75%, 在外周血液中的单核细胞中抑制 PARP 的水平达到 50%, 对 γH2AX 的作用非常显著。相对于单独应用拓扑替康时出现的骨髓抑制来说, 联合用药时未发现明显的毒副作用^[17]。

veliparib 与环磷酰胺联合用药治疗实体瘤和淋巴瘤的 I 期临床研究, 在对 35 位患者进行的安全性研究中, 实验结果显现出最大耐受剂量, veliparib 为 60 mg, 环磷酰胺为 50 mg。PAR 在外周血单核细胞中降低至少 50%, 在肿瘤活性组织中降低 80%, 显现出很低的毒副作用, 并且它们联合用药的 II 期临床研究正在进行中^[18]。veliparib 与替莫唑胺也进行了 I 期临床研究治疗黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌和肝细胞性肝癌等, 都显现出很好的疗效。

II 期临床试验研究, veliparib 与替莫唑胺联合用药治疗转移性乳腺癌, 在对 41 位患者进行的试验中, veliparib 每天用量 40 mg, 替莫唑胺每天用量 150 mg/m², 连续用药 28 d。评估 35 名患者的基线特征平均 PS=0 (范围 0~2 级); 三阴性组 ($n=15$),

HER2+ ($n=5$), ER+/HER2- ($n=15$), 中枢神经系统疾病组 ($n=4$)。毒性: 最常见的 3/4 级毒性反应包括血小板减少为 3 级或 4 级, 嗜中性粒细胞减少为 2 级、3 级与 4 级, 其他毒副作用很不明显。试验表明 veliparib 与替莫唑胺联合用药治疗转移性乳腺癌是非常有效的^[19]。

联合用药时 veliparib 的药动学不会受其他细胞毒性药物所影响, 并且能增强这些药物的效能, 减少这些药物的用量, 减少毒副作用的发生。预计 veliparib 与替莫唑胺联合应用治疗乳腺癌的研究即将进入 III 期临床^[4]。

8 结语

通过对 PARP 抑制剂进行的临床试验研究, 显示 PARP 抑制剂在 BRCA 缺陷的卵巢癌治疗中取得了良好的疗效, 并且在有效剂量下显现出很少的毒副作用。在其他一些癌症的治疗中, PARP 抑制剂能够增强抗肿瘤化疗药物如替莫唑胺、伊立替康等药物的细胞毒活性, 同时对放疗也具有增敏效果。随着对 PARP 家族中其他蛋白的深入研究, 以及在 PARP 抑制剂研究的基础上, 该类蛋白有望成为新的潜在药物作用靶点, 为抗肿瘤药物研究开辟了一个全新的领域。veliparib 即将进入 III 期临床研究, 具有良好的开发前景。

参考文献

- [1] Jones C, Plummer E R. PARP inhibitors and cancer therapy-early results and potential applications [J]. *Br J Radiol*, 2008, 81(1): S2-S5.
- [2] Drew Y, Plummer R. PARP inhibitors in cancer therapy: two modes of attack on the cancer cell widening the clinical applications [J]. *Drug Resist Updat*, 2009, 12(6): 153-156.
- [3] 李凡, 廖志钢. PARP 的结构、功能及其与 DNA 损伤的关系 [J]. 河南科技大学学报: 医学版, 2005, 23(4): 312-314.
- [4] 韩炜, 钟俊, 王永峰, 等. PARP 抑制剂用于肿瘤治疗的研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2011, 20(12): 1086-1091.
- [5] 张可辉, 张亮仁, 张礼和. PARP-1 抑制剂在抗肿瘤方面的研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(22): 1689-1694.
- [6] Sodhi R K, Singh N, Jaqqi A S. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) and its therapeutic implications [J]. *Vascul Pharmacol*, 2010, 53(3/4): 77-78.
- [7] Rouleau M, Patel A, Hendzel M J, et al. PARP inhibition: PARP1 and beyond [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(4): 293-301.
- [8] Bennett G J, Xie Y K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorder of pain sensation like those seen in man [J]. *Pain*, 1988, 33(1): 87-107.
- [9] Chaplan S R, Bach F W, Pogrel J W, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw [J]. *J Neurosci Methods*, 1994, 53(1): 55-63.
- [10] Zhu G D, Gong J, Virajkumar B, et al. 1H-Benzimidazole-4-carboxamides substituted with a quaternary carbon at the 2-position are potent PARP inhibitors [P]. US: 7550603B2, 2009-06-23.
- [11] Penning T D, Zhu G D, Gandhi V B, et al. Discovery of the poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor 2-[(R)-2-methylpyrrolidin-2-yl]-1H-benzimidazole-4-carboxamide (ABT-888) for the treatment of cancer [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(2): 514-523.
- [12] Donawho C K, Luo Y, Penning T D, et al. ABT-888, an orally active poly (ADP-Ribose) polymerase inhibitor that potentiates DNA-damaging agents in preclinical tumor models [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(9): 2728-2737.
- [13] Ji J, Kinders R J, Zhang Y, et al. Modeling pharmacodynamic response to the poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor ABT-888 in human peripheral blood mononuclear cells [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26152.
- [14] Kinders R J, Hollingshead M, Khin S, et al. Preclinical modeling of a phase 0 clinical trial: qualification of a pharmacodynamic assay of poly (ADP-ribose) polymerase in tumor biopsies of mouse xenografts [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(21): 6877-6885.
- [15] Fauzee N J, Pan J, Wang Y L. PARP and PARG inhibitors-new therapeutic targets in cancer treatment [J]. *Pathol Oncol Res*, 2010, 16(4): 469-478.
- [16] Kummar S, Kinders R, Gutierrez M E, et al. Phase 0 clinical trial of the poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor ABT-888 in patients with advanced malignancies. [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(16): 2705-2711.
- [17] Kummar S, Chen A, Ji J, et al. Phase I study of PARP inhibitor ABT-888 in combination with topotecan in adults with refractory solid tumors and lymphomas [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(17): 5626-5634.
- [18] Kummar S, Ji J, Morgan R, et al. A phase I study of veliparib in combination with metronomic cyclophosphamide in adults with refractory solid tumors and lymphomas [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(6): 1726-1734.
- [19] Isakoff S J, Overmoyer B, Tung N M, et al. A phase II trial of the PARP inhibitor veliparib (ABT888) and temozolomide for metastatic breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(15s): 1019.