

## • 实验研究 •

## 达沙替尼衍生物的合成及其抗肿瘤活性研究

汪进良, 赵 宣

天津键凯科技有限公司, 天津 300462

**摘要:** 目的 设计并合成达沙替尼衍生物, 并研究其抗肿瘤活性。方法 以达沙替尼、四乙二醇和五乙二醇单甲醚为原料, 通过取代反应合成达沙替尼衍生物, 并考察目标化合物对 K562 细胞增殖的抑制作用。结果 设计并合成了 4 个达沙替尼衍生物, 结构经  $^1\text{H-NMR}$  和 MALDI-TOF-MS 确证。其中 2 个化合物 JK220324 和 JK220326 的抗肿瘤活性较达沙替尼高,  $\text{IC}_{50}$  分别为 0.50、0.34 nmol/L, 较达沙替尼 (0.76 nmol/L) 低。结论 达沙替尼用小分子聚乙二醇衍生, 有望获得活性更好、毒性更小的化合物。

**关键词:** 达沙替尼; 慢性粒细胞白血病; 合成; 抗肿瘤活性

**中图分类号:** R914.2; R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2017)08 - 1393 - 04

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.08.001

## Synthesis of dasatinib derivatives and their anti-tumor activities

WANG Jin-liang, ZHAO Xuan

Tianjin JenKem Technology Co. Ltd., Tianjin 300462, China

**Abstract: Objective** To design and synthesize dasatinib derivatives, and study their anti-tumor activities. **Methods** Dasatinib, tetraethylene glycol, pentaethylene glycol monomethyl ether, and were used as materials to synthesize dasatinib derivatives by substitution reaction, and the anti-tumor activities against K562 cells were tested. **Results** Four dasatinib derivatives were designed and synthesized, and their structures were confirmed by  $^1\text{H-NMR}$  and MALDI-TOF-MS. In which the anti-tumor activities of two target compounds JK220324 and JK220326 were higher than dasatinib, and their  $\text{IC}_{50}$  were 0.50 and 0.34 nmol/L, which were lower than that of dasatinib (0.76 nmol/L). **Conclusion** Dasatinib derived by low molecular polyethylene glycol derivatives is expected to acquire the compound with better activities and less toxicity.

**Key words:** dasatinib; chronic granulocytic leukemia; synthesis; anti-tumor activity

慢性粒细胞白血病 (CML) 是一种影响血液及骨髓的恶性增殖性疾病, 一般自然起始于“慢性期”, 之后经过“加速期”, 最终到“急变期”。急变期是慢性粒细胞性白血病的最终阶段, 与急性白血病相似, 具有较强致死性<sup>[1]</sup>。达沙替尼, 商品名为“扑瑞赛”, 其可以阻断多种致癌蛋白, 并于 2007 年经过 FDA 的批准用于既往治疗失败或不耐药的 CML 的所有病期患者, 同时还用于治疗对其他疗法耐药或不耐受的费城染色体阳性的 ALL 成人患者<sup>[2]</sup>。达沙替尼的结构式见图 1。

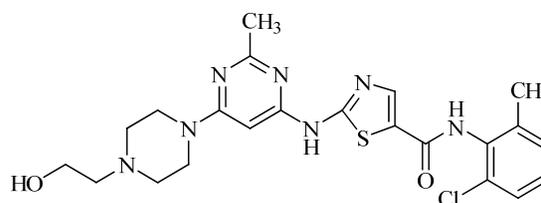


图 1 达沙替尼的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of dasatinib

临床试验表明, 达沙替尼的疗效超过使用高剂量伊马替尼疗效, 且未发现其耐药性<sup>[3]</sup>, 但在使用

收稿日期: 2017-03-21

基金项目: 天津市科技计划项目 (15PTSYJC00220)

作者简介: 汪进良, 男, 工程师, 研究方向为新药研发。Tel: (022)25616890 E-mail: jinliangwang@jenkem.com



6H, OCH<sub>3</sub>), 3.33 (m, 4H, NCH<sub>2</sub>), 3.53 (m, 22H, OCH<sub>2</sub>), 6.04 (s, 1H, Pyr-H), 7.28 (m, 2H, ArH), 7.41 (m, 1H, ArH), 8.22 (s, 1H, NH), 9.88 (s, 1H, NHCO)。

化合物 JK220324、JK220326、JK220328 参照上法合成, 结果如下:

JK220324: 收率 69.1%。MALDI-TOF-MS *m/z*: 1 134 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 2.22 (s, 6H, ArCH<sub>3</sub>), 2.49 (s, 6H, Pyr-CH<sub>3</sub>), 2.51 (m, 12H, NCH<sub>2</sub>), 3.21 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.33 (m, 8H, NCH<sub>2</sub>), 3.53 (m, 20H, OCH<sub>2</sub>), 6.04 (s, 2H, Pyr-H), 7.27 (m, 4H, ArH), 7.57 (m, 2H, ArH), 8.51 (s, 2H, NH), 9.84 (s, 2H, NHCO)。

JK220326: 收率 66.3%。MALDI-TOF-MS *m/z*: 1 224 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 2.21 (s, 6H, ArCH<sub>3</sub>), 2.49 (s, 6H, Pyr-CH<sub>3</sub>), 2.52 (m, 12H, NCH<sub>2</sub>), 3.22 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.33 (m, 8H, NCH<sub>2</sub>), 3.53 (m, 28H, OCH<sub>2</sub>), 6.05 (s, 2H, Pyr-H), 7.28 (m, 4H, ArH), 7.57 (m, 2H, ArH), 8.53 (s, 2H, NH), 9.87 (s, 2H, NHCO)。

JK220328: 收率 67.8%。MALDI-TOF-MS *m/z*: 1 310 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 2.23 (s, 6H, ArCH<sub>3</sub>), 2.49 (s, 6H, Pyr-CH<sub>3</sub>), 2.51 (m, 12H, NCH<sub>2</sub>), 3.20 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.34 (m, 8H, NCH<sub>2</sub>), 3.50 (m, 36H, OCH<sub>2</sub>), 6.04 (s, 2H, Pyr-H), 7.27 (m, 4H, ArH), 7.57

(m, 2H, ArH), 8.27 (s, 2H, NH), 9.83 (s, 2H, NHCO)。

### 2.3 目标化合物对 K562 细胞的抗肿瘤活性

收集处于对数生长期的 K562 细胞并用 Countstar 自动细胞计数仪进行细胞计数。用台盼蓝排除法检测细胞活力, 确保细胞活力在 98% 以上; 用培养基稀释调整细胞浓度至  $5.56 \times 10^4$  个/mL; 添加 90 μL 细胞悬液至 96 孔板中, 细胞终密度为  $5 \times 10^3$  个/孔, 预实验将采用  $5 \times 10^3$  个/孔的细胞密度, 而最适密度的确定将参考预实验的结果并加以调整; 次日, 用二甲基亚砜 (DMSO) 配制 20 mmol/L 测试样品储备液, 并稀释为不同浓度梯度; 每孔加测试样品溶液及阳性对照药溶液 10 μL, 每个浓度设 2 个复孔; 已加药细胞继续培养 72 h, 然后用 Celltiter-Glo ATP 荧光活性检测方法 (CTG 测定法) 检测。将培养板和检测试剂放于室温平衡 30 min, 加 100 μL CellTiter-Glo 试剂到含 100 μL 培养基的 96 孔板中, 将培养板置于振荡器上震荡 2 min 使细胞裂解, 再将培养板置于室温静置 10 min。用 EnVision 检测冷光, 计算被测物对肿瘤细胞的抑制率, 采用非线性回归模型绘制 S 型剂量效应曲线, 用 GraphPad Prism 5.0 软件根据设定自动计算出半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 值。见表 1。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}}) / A_{\text{对照}}$$

活性测试结果显示, 4 个目标化合物对 K562 细胞增殖均有一定的抑制作用, 其中 JK220324 和 JK220326 的活性都较达沙替尼高, IC<sub>50</sub> 分别为 0.50、0.34 nmol/L。

表 1 目标化合物对 K562 细胞的抗肿瘤活性

Table 1 Anti-tumor effects of targets compounds against K562 cells

化合物	抑制率/%							IC <sub>50</sub> /(nmol·L <sup>-1</sup> )
	1 nmol·L <sup>-1</sup>	3.16 nmol·L <sup>-1</sup>	10 nmol·L <sup>-1</sup>	31.6 nmol·L <sup>-1</sup>	100 nmol·L <sup>-1</sup>	316 nmol·L <sup>-1</sup>	1 000 nmol·L <sup>-1</sup>	
JK220315	6.24	11.45	31.49	57.01	73.88	77.71	79.04	2.22
JK220324	28.00	45.72	55.72	67.50	75.41	78.53	80.34	0.50
JK220326	33.94	52.24	62.14	65.92	74.25	78.97	81.76	0.34
JK220328	3.44	12.26	17.49	52.27	73.59	78.72	79.16	2.99
达沙替尼	9.73	31.96	53.46	73.44	78.10	78.44	79.51	0.76

### 3 讨论

对甲苯磺酸酯基 (-OTs) 是一个很好的离去基团, 因而在制备 PEG 衍生物时, 常用 PEG-OTs 作为中间体。反应中, 以吡啶为缚酸剂, 常温下反应,

至 TLC 监测反应完全后处理, 不经纯化直接用于下一步反应, 通过单或双端聚乙二醇对甲苯磺酸酯, 合成了 4 个达沙替尼衍生物, 两步合并收率约 70%。

从表 1 中可以看出, 4 个衍生物对 K562 细胞增

殖均有一定的抑制作用,其中双端聚乙二醇修饰的 3 个衍生物中,JK220324 和 JK220326 活性都较达沙替尼高,IC<sub>50</sub> 分别为 0.50、0.34 nmol/L,可能是双端聚乙二醇衍生物连有两个达沙替尼分子,载药量较高的缘故,可以对双端四单元聚乙二醇和双端六单元聚乙二醇衍生的化合物做进一步的研究。

#### 参考文献

- [1] 钟 涵, 冯文莉. 慢性粒细胞白血病急变的分子机制 [J]. 生命的化学, 2011, 31(4): 536-539.
- [2] 卜鹏飞, 程卯生. 达沙替尼(dasatinib) [J]. 中国药物化学杂志, 2007, 17(4): 265.
- [3] 朱 雨, 潘良琴, 钱思轩, 等. 达沙替尼治疗伊马替尼耐药的 BCR/ABL 阳性白血病的临床研究 [J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(3): 581-586.
- [4] 闫 妍. 达沙替尼可能增加肺动脉高压风险 [J]. 药物不良反应杂志, 2011, 13(5): 336-337.
- [5] Greenwald R B. PEG drugs: an overview [J]. *J Control Release*, 2001, 74(1/3): 159-171.