

DNA 甲基转移酶抑制剂 guadecitabine

奉源¹, 魏会强², 董正川¹, 谭焯¹, 李祎亮^{1,2*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 放射医学研究所, 天津 300192

摘要: DNA 甲基化过程广泛存在于哺乳动物细胞内, 在表观遗传修饰和染色质稳定性中都起着关键的作用。DNA 高甲基化修饰通常在肿瘤发展的进程中有着重要影响。guadecitabine 是由 Astex 公司研发的新型的 DNA 甲基转移酶抑制剂。作为地西他滨的前药, guadecitabine 在体内经磷酸酯酶水解得到地西他滨, 掺入 DNA 链中, 与 DNA 甲基转移酶共价结合, 不可逆地抑制 DNA 甲基化过程。临床研究表明, guadecitabine 在针对骨髓增生异常综合征和急性骨髓性白血病等肿瘤的治疗中具有明显的有效性和安全性。

关键词: guadecitabine; DNA 甲基转移酶; 骨髓增生异常综合征; 急性骨髓性白血病

中图分类号: R979.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2017)11 - 2277 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.11.051

A DNA methyltransferase inhibitor: guadecitabine

FENG Yuan¹, WEI Hui-qiang², DONG Zheng-chuan¹, TAN Ye¹, LI Yi-liang^{1,2}

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

2. Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

Abstract: DNA methylation processes are widely found in mammalian cells. It plays a key role in epigenetic modification and chromatin stability. DNA hypomethylation usually accelerates the progress of tumors. Guadecitabine is a novel DNA methyltransferase inhibitor launched by Astex. As the pro-drug of dicitabine, guadecitabine hydrolyzed into dicitabine by phosphoesterase, incorporates into DNA chains and covalently binds with DNA methylation methyltransferase, which inhibits DNA methylation irreversibly. Clinical studies have shown that guadecitabine has significant potency and safety on myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia.

Key words: guadecitabine; DNA methyltransferase; myelodysplastic syndrome; acute myeloid leukemia

1 药物概况

通用名: Guadecitabine

别名: SGI-110

化学名: 2'-Deoxy-5'-O-[(2'-deoxy-5-azacytidin-3'-O-yl)(hydroxy)phosphoryl]guanosinesodium salt

CAS: 929904-85-8

分子式: C₁₈H₂₄N₉O₁₀P·Na

相对分子质量: 579.39

结构式见图 1

原研公司: Astex (2013 年被大冢制药收购)

药理分类: DNA 甲基转移酶抑制剂

适应症: 骨髓增生异常综合征、急性骨髓性白血病

目前阶段: I / II / III 期临床

给药途径: 注射

2 相关背景

DNA 的甲基化过程在大多数哺乳动物细胞内存在, 其在基因表达、染色质稳定性和遗传印迹中

收稿日期: 2017-08-04

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程经费资助项目

作者简介: 奉源 (1991—), 男, 四川万源市人, 硕士生, 从事抗肿瘤药物的研究。E-mail: fy3323@126.com

*通信作者 李祎亮 Tel: (022)85682077 E-mail: liyiliang75@163.com

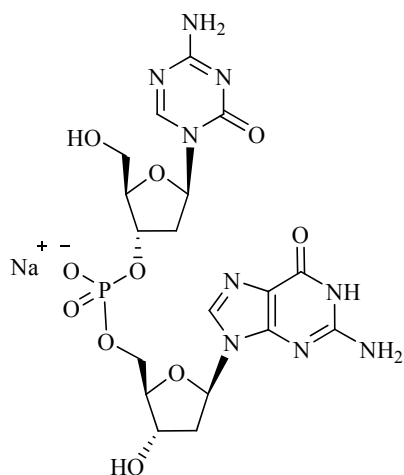


图 1 guadecitabine 的结构

Fig. 1 Structure of guadecitabine

起重要作用^[1]。DNA 甲基化能够关闭某些基因的活性，导致染色质结构、DNA 构象以及 DNA 与蛋白质的相互作用方式的变化，进而调控基因的表达。DNA 甲基转移酶维持着细胞内 DNA 甲基化正常进行，将甲基化标签从亲代链复制到子代链^[2]。DNA 甲基转移酶以 *S*-腺苷-*L*-甲硫氨酸作为甲基来源^[3]，将 DNA 中的 CG 两个核苷酸的胞嘧啶选择性地添加甲基，产生 5-甲基胞嘧啶。DNA 的甲基化过程对于哺乳动物细胞内维持基因的正常表达是非常重要的^[4-6]，高甲基化修饰可使肿瘤抑制基因表达缺失，导致细胞癌变。这种 DNA 高甲基化修饰被发现大量存在于骨髓增生异常综合征（MDS）、急性髓性白血病（AML）和慢性骨髓单核细胞性白血病（CMML）等疾病中。这种 DNA 高甲基化修饰造成癌变的机制不同于肿瘤抑制基因的突变或缺失，可以通过抑制 DNA 甲基化过程来逆转。

MDS 是一种起源于造血干细胞的异质性髓系克隆性疾病。髓系细胞分化以及发育异常是该病的特点，常常表现为无效造血、难治性血细胞减少、造血功能衰竭。多数 MDS 病例以进行性的骨髓衰竭为特征，并向急性髓系白血病转化。阿糖胞苷和地西他滨是两种 DNA 甲基转移酶抑制剂，被美国食品药品监督管理局（FDA）和欧洲药品管理局（EMA）批准用于治疗 MDS^[7]和低爆发数（<30%）的 AML^[8-9]。经过多年临床上的研究和使，血浆半衰期较短成为这两种药物最大的缺点。

guadecitabine 是一种由 Astex 公司研发的第 2 代新型 DNA 甲基化抑制剂，其在体内的活性代谢

物是地西他滨。该药物较地西他滨更为稳定，药动学和药效学性质均比地西他滨更佳^[10-11]。在体内磷酸酯酶和其他酶的作用下，guadecitabine 分子中的磷酸二酯键逐渐水解，可以抵抗胞苷脱氨酶的瞬间降解，与母体药物相比较延长了血浆半衰期。guadecitabine 用于治疗高风险骨髓增生异常综合征（MDS）和急性髓性白血病（AML），目前处于 I/II/III 期临床研究阶段。

3 合成路线^[12]

以地西他滨为起始原料，在常温条件下于 DMF 中，和六甲基二硅氮烷反应，将两个羟基保护，然后再和苯氧基乙酸酐在吡啶中常温反应得到化合物 2。化合物 2 于 DMF 中和三(二甲氨基)氟三甲基硅酸（TAS-F）反应，使得羟基脱去保护，得到化合物 3。随后在吡啶中与 4,4'-双甲氧基三苯甲基氯（DMTCl）反应选择性保护 5'位羟基得到化合物 4。化合物 4 与双(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦在 4,7-双(5-溴-4-己基噻吩-2-基)苯并[c][1,2,5]噻二唑（BTT）、乙腈条件下反应得到化合物 5。随后化合物 5 与化合物 6 同样在 BTT、乙腈条件下相连接得到化合物 7，在乙腈中与过氧化叔丁醇（*t*-BuOOH）反应氧化得到化合物 8。化合物 8 在甲苯中与二氯乙酸反应脱去 DMT，得到化合物 9，最后在甲醇中与 TEA-HOAc 反应脱去保护基得到目标化合物 guadecitabine，合成路线见图 2。

4 作用机制

guadecitabine 是一种不可逆的 DNA 甲基转移酶抑制剂，在体内被代谢后释放出原药地西他滨。地西他滨作为脱氧核苷类似物，其中的 5-氮杂胞嘧啶部分可以代替胞嘧啶，可被掺入 DNA 链中。5-氮杂胞嘧啶-鸟嘌呤二核苷片段被 DNA 甲基转移酶识别为天然的底物，5-氮杂胞嘧啶的 5 位氮原子被甲基化。正常的胞嘧啶 5 位是碳原子，甲基化修饰后可通过 C-5 位的 β 消除来使 DNA 与甲基转移酶解离；而 5-氮杂胞嘧啶的 5 位氮原子被甲基化后，不能发生上述 β 消除，使 DNA 甲基转移保持与 DNA 的共价结合，从而抑制该酶的功能^[13]。

5 临床研究

5.1 临床前研究

关于 guadecitabine 进行的大多数临床前研究，都将其与地西他滨在甲基化和基因重表达的药效方面进行对比。通过使用亚硫酸氢盐焦磷酸测序评估基因特异性甲基化改变，Yoo 等^[14]证明了 guadecitabine

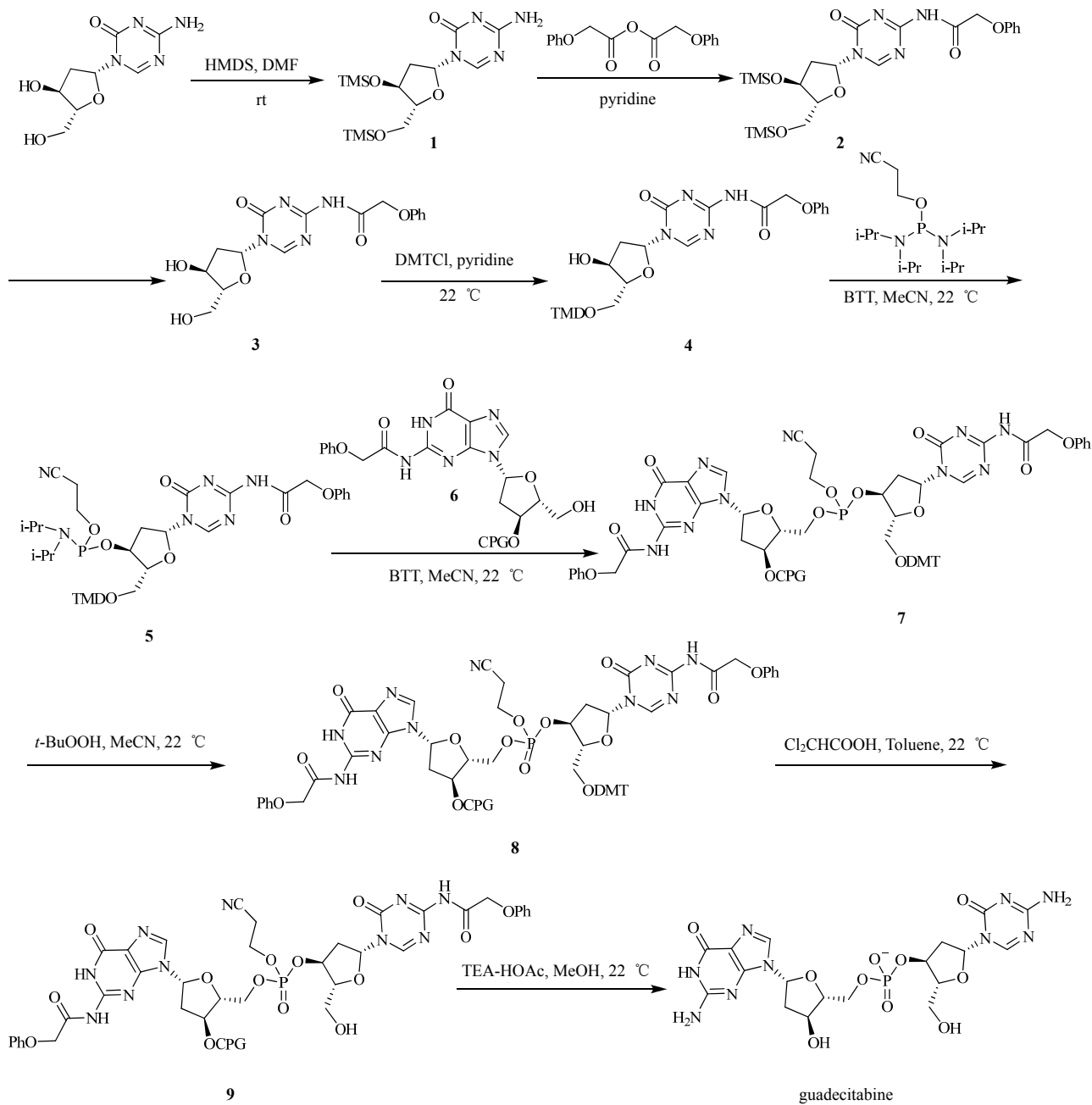


图 2 guadecitabine 的合成路线

Fig. 2 Synthetic route of guadecitabine

和地西他滨在体外时，两者分别和重组胞苷脱氨酶在 37 °C 培育，前者显示出更好的稳定性。人血浆在 40 °C 下孵育亦可获得相同的结果。在小鼠模型中，将无肿瘤的小鼠静脉注射等量的地西他滨和 guadecitabine (15、30 mg/kg)。随后通过体质量和发病率来评估这些小鼠的药物耐受性发现，接受 guadecitabine 的小鼠比接受地西他滨的小鼠显示出更好的耐受性。在治疗携带人膀胱癌 EJ6 的裸鼠研究中，采用腹膜内注射或皮下注射。结果显示两种

药物都能有效的减缓肿瘤生长。使用 guadecitabine 处理的小鼠较地西他滨组更加健康和活跃。皮下注射被认为优于腹腔注射。总的来说，研究表明 guadecitabine 和地西他滨均具有肿瘤抑制活性，并且在小鼠实验中其比地西他滨具有更好的耐受性，且同等剂量下更有效。

5.2 I 期临床

美国进行了 guadecitabine 关于中期或高风险 MDS 或 AML 的随机、标签公开和剂量递增的 I 期和

II 期临床研究, 目前该临床研究仍然正在进行中^[15]。其中剂量递增部分将用于评估 guadecitabine 在 MDS 和 AML 患者中的两种给药方案的生物活性、初步安全性和功效, 而剂量扩充部分将用于进一步评价生物有效剂量(BED)或最大耐受剂量(MTD)。300 名实验者参与了该实验。实验方案分为每日方案和每周方案, 其中每日方案为 guadecitabine 在每日×5 剂量和每日×10 剂量, 共 28 d 疗程。每周方案即 guadecitabine 每周给药, 持续 3 周, 和 guadecitabine 每周两次给药, 持续 3 周, 共 28 d 疗程。研究发现以 60 mg/m²/天皮下给予的地西他滨×5 具有良好的耐受性, 并且在 MDS 和 AML 患者中具有临床和生物活性。地西他滨 60 mg/m² 每日×5 是推荐的 II 期剂量, 这些结果值得进一步的 II 期研究。

日本进行的采用皮下注射 guadecitabine 方式治疗 AML 的非随机、开放标签的 I 期临床研究, 用于评价 guadecitabine 的耐受性和药动学^[16]。实验招募 20 岁以上的成人 14 名, 分为 4 组。第 1、2、3 组分别皮下给予 guadecitabine 36、60、90 mg/m², 1 次/d, 连续 5 d, 随后为 23 d 非给药期。第 4 组皮下给予 guadecitabine 60 mg/m², 1 次/d, 持续 10 d, (第 1~5 天, 第 8~12 天给药, 第 6、7 天, 非给药), 随后为 16 d 非给药期(第 13~28 天)。目前该临床研究还在进行中, 预计完成日期为 2017 年 5 月。

5.3 II 期临床

在美国进行中的 guadecitabine 临床 II 期项目中, guadecitabine 被用来治疗高风险 MDS, 目的是研究 guadecitabine 是否可以帮助控制 MDS, 以及该药物的安全性^[17]。试验招募 18 岁以上的成人, 皮下接受 guadecitabine 60 mg/m² 治疗的患者, 每 4 周 5 d, 直到治疗失败或最长 2 年。该研究终点为 guadecitabine 治疗的高危 MDS 患者的完全缓解。完全缓解在第 12 周末从治疗开始(3 周期后)开始评价, 然后每 3 个周期重复。完全缓解的指标为使外周血和骨髓标准化, 具有 <5% 骨髓原始细胞, 无发育不良的证据; 外周血粒细胞计数 $\geq 1.0 \times 10^9/L$, 血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/L$, Hgb 2 = 11 g/dL, 维持至少 4 周。本研究目前正在招聘参与者。

在 guadecitabine 治疗晚期肝细胞癌(HCC) 患者的开放标签、非随机研究的临床 II 期实验中, 选择用索拉非尼治疗失败的患者^[18]。该研究设计的单组实验于每 28 天的第 1~5 天给受试者采用皮下注射 guadecitabine, 主要的结果指标为评估在使用索

拉非尼治疗失败后改用 guadecitabine 治疗的患者在 16 周时的疾病控制以及在 16 周时达到完全反应或部分反应和疾病稳定的最佳总体反应的患者百分比。次要结果指标为评估 guadecitabine 的安全性和耐受性(时间框架为 18 个月)以及严重不良事件和不良事件的患者数。最终数据收集日期为 2015 年 9 月, 更多研究结果有待公布。

在老年 AML 中 guadecitabine 的随机、平行分配、开放标签的 II 期研究中, 研究人员想要比较单独使用 guadecitabine 或与其他药物联合的不同的治疗方案, 以及了解这些不同的治疗方案如何帮助控制 AML^[19]。除此之外还将研究这些治疗的安全性。本研究目前正在招募参与者, 时间较长, 预计于 2026 年完成。

5.4 III 期临床

在一项美国进行的 guadecitabine 的随机、开放标签、平行、多中心的 III 期临床研究中, 对阿扎胞苷或地西他滨治疗失败或复发的 MDS 患者使用 guadecitabine 治疗的安全性和功效进行评估^[20]。该研究将在全球 15 个国家进行, 来自 100 个研究中心的约 408 名受试者将接受测试。该研究由 14 d 筛选期、治疗期、安全随访期和长期随访期组成。该研究预计超过两年, 大约 2018 年结束。个体受试者参与的时间有所不同。

6 安全性

在 guadecitabine 的 I 期临床研究中, 从 2011 年 1 月 4 日—2014 年 4 月 11 日, 将入组并治疗的 93 例患者分为 3 组。第 1 组为 35 例 AML 患者和 9 例 MDS 患者, 每日×5 剂量递增; 第 2 组为 28 例 AML 患者和 6 例 MDS 患者, 每周一次剂量递增; 第 3 组为 11 例 AML 患者和 4 例 MDS 患者, 每周两次剂量递增。最常见的 3 级或更高的不良事件是发热性中性粒细胞减少(41%)、肺炎(29%)、血小板减少症(25%)和败血症(17%)。最常见的严重不良事件是发热性中性粒细胞减少症(31%)、肺炎(28%)和败血症(17%), 6 例 AML 患者和 6 例 MDS 患者对治疗有临床反应。在骨髓增生异常综合征患者中观察到 125 mg/m² 每日×5 的两种剂量限制毒性, 因此 MDS 患者的最大耐受剂量为 90 mg/m²×5。未达到最大耐受剂量 AML 患者。在每日×5 方案中发生强效剂量相关的 DNA 去甲基化, 达到 60 mg/m² 的平台(指定为生物有效剂量)^[21]。

7 结语

guadecitabine 是一种新型的 DNA 甲基化抑制剂, 其在体内的活性代谢物就是地西他滨。经过研究证实了与地西他滨相比, guadecitabine 显示出更强的稳定性, 更好的药动学和药效学性质。通过抑制肿瘤细胞 DNA 甲基化, guadecitabine 可以抑制肿瘤的发展进程。临床试验表明, guadecitabine 对 MDS 和 AML 患者都有一定的抑制效果, 以及较好的稳定性和安全性。目前, guadecitabine 已经进入针对其安全性和有效性的 III 期临床研究, 同时还有部分 I 期临床和 II 期临床研究正在进行, 其中包括评估 guadecitabine 与其他药物联合使用治疗不同的肿瘤的安全性和有效性。总之, guadecitabine 是一种非常具有潜力的 DNA 甲基化抑制剂, 期待它能带来更多好消息。

参考文献

- [1] Zhang W, Xu J. DNA methyltransferases and their roles in tumorigenesis [J]. *Biomark Res*, 2017, 5: 1-8.
- [2] Hamidi T, Singh A K, Chen T. Genetic alterations of DNA methylation machinery in human diseases [J]. *Epigenomics*, 2015, 7(2): 247-265.
- [3] Dawson M A, Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy [J]. *Cell*, 2012, 150(1): 12-27.
- [4] Baylin S B, Esteller M, Rountree M R, et al. Aberrant patterns of DNA methylation, chromatin information and gene expression in cancer [J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(7): 687-692.
- [5] Kaneda M, Okano M, Hata K, et al. Essential role for de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting [J]. *Nature*, 2004, 429(6994): 900-903.
- [6] Csankovszki G, Nagy A, Jaenisch R. Synergism of Xist RNA, DNA methylation, and histone hypoacetylation in maintaining X chromosome inactivation [J]. *J Cell Biol*, 2001, 153(4): 773-784.
- [7] 许 嵘, 张文州, 辛 军, 等. DNA 去甲基化药物的研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2017, 32(1): 158-164.
- [8] Stegmann A P, Honders M W, Willemze R, et al. De novo induced mutations in the deoxycytidine kinase (dck) gene in rat leukemic clonal cell lines confer resistance to cytarabine (AraC) and 5-aza-2'-deoxycytidine (DAC) [J]. *Leukemia*, 1995, 9(6): 1032-1038.
- [9] Grant S, Bhalla K, Gleyzer M. Effect of uridine on response of 5-azacytidine-resistant human leukemic cells to inhibitors of de novo pyrimidine synthesis [J]. *Cancer Res*, 1984, 44(12 Pt 1): 5505-5510.
- [10] Griffiths E, Srivastava P, Collamat-Lai G, et al. SGI-110, a novel 5-aza-2'-deoxycytidine containing dinucleotide, induces cancer germline (CG) antigen expression in acute myeloid leukemia cells [R]. Washington DC: 104th Annu Meet Am Soc Cancer Res (AACR), 2013.
- [11] Taverna P, Scholl J, Shi C, et al. SGI-110, a novel subcutaneous (SQ) second generation DNA hypomethylating agent achieves improved pharmacodynamics (PD), safety and pharmacokinetics (PK) in comparison to IV decitabine in a non-human primate in vivo study [R]. Chicago: 103rd Annu Meet Am Soc Cancer Res (AACR), 2012.
- [12] Pasit P, Sanjeev R. Oligonucleotide analogues incorporating 5-aza-cytosine therein [P]. EP: 20060804123, 2006-09-25.
- [13] Stresemann C, Lyko F. Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine [J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(1): 8-13.
- [14] Yoo C B, Jeong S, Egger G, et al. Delivery of 5-aza-2'-deoxycytidine to cells using oligodeoxynucleotides [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(13): 6400-6408.
- [15] Astex Pharmaceuticals. Phase 1 study of SGI-110 in patients with myelodysplastic syndromes (MDS) or acute myelogenous leukemia (AML) [OL]. [2017-01-25]. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01261312?term=S-GI-110&rank=3&submit_fld_opt=.
- [16] Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd. Phase 1 study of SGI-110 in patients with acute myeloid leukemia [OL]. [2017-08-03]. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02293993?term=SGI-110&rank=8&submit_fld_opt=.
- [17] M.D. Anderson Cancer Center. Phase 2 study of SGI-110 in higher risk myelodysplastic syndrome (MDS) [OL]. [2017-09-22]. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02131597?term=SGI-110&rank=4&submit_fld_opt=.
- [18] Astex Pharmaceuticals. Phase 2 study of SGI-110 in the treatment of advanced hepatocellular carcinoma (HCC) [OL]. [2017-01-26]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT>

- 01752933?term=SGI-110&rank=2&submit_fld_opt=.
- [19] M.D. Anderson Cancer Center. Phase 2 study of 4-arm phase II study of SGI-110 in elderly acute myeloid leukemia (AML) [OL]. [2017-10-03]. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02096055?term=SGI-110&rank=10&submit_fld_opt=.
- [20] Astex Pharmaceuticals. Phase 3 study of guadecitabine (SGI-110) vs treatment choice in adults with MDS or CMML previously treated with HMAs [OL]. [2017-10-26]. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02907359?term=SGI-110&rank=14&submit_fld_opt=.
- [21] Issa J P, Roboz G, Rizzieri D, et al. Safety and tolerability of guadecitabine (SGI-110) in patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukaemia: a multicentre, randomised, dose-escalation phase 1 study [J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(9): 1099-1110.