

## [<sup>14</sup>C]CHMFL-FLT3-122 在大鼠体内的药代动力学研究

李冬阳<sup>1,3</sup>, 汪 潇<sup>2</sup>, 鲁晓蓉<sup>2</sup>, 杨 劲<sup>1\*</sup>, 孙宏张<sup>3\*</sup>

(1. 中国药科大学, 江苏 南京 210009; 2. 合肥诺明药物安全研究有限公司, 安徽 合肥 230031;  
3. 合肥合源药业有限公司, 安徽 合肥 230031)

**摘要:** 为研究 CHMFL-FLT3-122 在大鼠体内吸收、分布、代谢和排泄过程, 采用 SD 大鼠口服给予 50 mg·kg<sup>-1</sup> [<sup>14</sup>C]CHMFL-FLT3-122 后收集生物样本, 以放射性检测方法测定药物含量并鉴定代谢产物, 本实验通过南京美新诺医药科技有限公司的实验动物伦理委员会批准。雌雄大鼠单次口服绝对生物利用度分别为 50.92% 和 45.83%, 药物吸收后主要分布于胃肠道、肝、肺中, 于给药后 48 h 消除完全。经粪便和尿液回收药量分别占给药量的 92.34% 和 3.99%。研究共鉴定 10 个 I 相代谢产物和 4 个 II 相代谢产物, 主要代谢途径为 *N*-去烷基、氧化和酰胺水解, 并与硫酸和葡萄糖醛酸形成结合代谢产物。血浆中以原形为主, 主要代谢产物为 M553 (硫酸结合产物) 和 M457 (*N*-去烷基产物)。CHMFL-FLT3-122 口服生物利用度良好, 体内代谢广泛, 组织分布无明显蓄积。

**关键词:** CHMFL-FLT3-122; 急性髓性白血病; 体内代谢; ADME; 放射性标记

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)04-0714-06

## Pharmacokinetic characteristics of [<sup>14</sup>C]CHMFL-FLT3-122 in rats

LI Dong-yang<sup>1,3</sup>, WANG Xiao<sup>2</sup>, LU Xiao-rong<sup>2</sup>, YANG Jin<sup>1\*</sup>, SUN Hong-zhang<sup>3\*</sup>

(1. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Hefei Blooming Drug Safety Evaluation, Co. LTD., Hefei 230031, China; 3. Hefei Cosource Pharmaceuticals Inc., Hefei 230031, China)

**Abstract:** The study was conducted to characterize the pharmacokinetics, distribution, metabolism and excretion of CHMFL-FLT3-122 after a single oral dose of 50 mg·kg<sup>-1</sup> [<sup>14</sup>C] labeled CHMFL-FLT3-122 in rats. Isotope tracing techniques were used to analyze drug concentration and identify the distribution of drugs in tissues and metabolites in biological samples. The experiments were approved by the Animal Ethics Committee of XenoBiotic Laboratories-China, Inc. The absolute bioavailability in male and female rats were 45.83% and 50.92% respectively. The parent drug and its metabolites were extensively distributed in the stomach, intestine, liver and lung, and were eliminated completely in 48 h. The majority of radioactivity was excreted through the feces at 92.34% of the dose with a small fraction through urine at 3.99% of the dose. The parent drug was the most significant circulating component, representing 49.23% and 70.65% over the 0-48 h collection time interval in the plasma of male and female. Two major metabolites, M553 (sulfate conjugate) and M457 (*N*-dealkyl product), were identified in plasma. Metabolites of CHMFL-FLT3-122, including ten phase I and four phase II metabolites, were identified. The metabolic pathways of CHMFL-FLT3-122 were proposed as *N*-dealkylation, oxidation, amide hydrolysis, sulfate conjugation, and glucuronic conjugation.

**Key words:** CHMFL-FLT3-122; acute myelocytic leukemia; *in vivo* metabolism; ADME; radiolabelling

(*R*)-1-(3-(4-amino-3-(4-phenoxyphenyl)-1*H*-pyr-

azolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)piperidin-1-yl)-2-(dimethylamino)ethanone (实验室代号: CHMFL-FLT3-122, 以下简称 HYML-122) 是治疗急性髓性白血病 (acute myelocytic leukemia, AML) 的小分子酪氨酸激酶抑制剂, 由依鲁替尼结构修饰优化得到, 已被证实能够有效

收稿日期: 2018-12-12; 修回日期: 2019-02-11.

\*通讯作者 Tel: 86-25-83271386, E-mail: yjcpu@yahoo.com;

Tel: 86-551-65396612, E-mail: hotsunhz@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-1109

抑制 FMS 样的酪氨酸激酶 3 (Fms-liketyrosinekinase, FLT3) 介导的下游信号通路并使细胞停留在 G0/G1 周期诱导其凋亡<sup>[1-3]</sup>。与上市药物舒尼替尼 (Sunitinib, Sutent<sup>®</sup>)、Midosturin (RYDAPT<sup>®</sup>, 2017 年由 FDA 批准上市) 相比, 具有特异性高、不良反应小的优势, 是治疗 AML 的潜力药物<sup>[4,5]</sup>。为进一步探索药物在动物体内吸收、分布和清除过程, 并为临床前实验提供有力参考, 根据早期体外结果选取大鼠灌胃给予 [<sup>14</sup>C]HYML-122, 采用同位素示踪技术检测体内药物含量, 并鉴定代谢产物, 为进一步研究提供物质基础和理论依据。

## 材料与方 法

**药品与试剂** HYML-122 (合肥合源药业有限公司, 批号: 20151002, 含量: 99.5%), [<sup>14</sup>C]HYML-122 (Moravek Biochemicals, 批号: 490-044-054-A-20160115-JSU, 纯度: 98.8%, 放射性比活度: 2.14 GBq·mmol<sup>-1</sup>), 乙腈、甲酸、氨水、异丙醇 (上海凌峰化学试剂有限公司, 分析纯), 甲醇 (Merck 公司, 色谱纯), 羟丙甲纤维素 (简称 HPMC, Sigma 公司, 分析纯), 超纯水 (Millipore 公司)。

**仪器** 液体闪烁计数仪、固体闪烁计数仪 (Perkin Elmer 仪器公司); 在线放射性同位素检测仪 (AIM 研究公司); 氧化燃烧仪 (R.J. Harvey 公司); CBM-20A UFLC 系统: LC-20AD XR 泵、SIL-20A XR 自动采样器、SCL-20A 系统控制器及 LC Solution 数据采集处理软件 (岛津仪器公司); 自动馏分收集仪 (ISCO 公司); LTQ Orbitrap XL 液质联用仪 (Thermo 公司); 电子天平 (Mettler Toledo 公司); 离心机 (Eppendorf 公司)。

**动物** Sprague Dawley 大鼠 52 只 (雌雄各半) 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 (许可证号: SCXK (京) 2012-0001), 8~11 周龄, 雌性 192.6~238.2 g, 雄性 211.1~265.1 g, 本实验通过南京美新诺医药科技有限公司的实验动物伦理委员会批准, 动物福利和实验过程遵循 AAALAC 规定 (实验室动物饲养管理和使用标准)。

**给药剂量** 静脉给药 (iv): 5 mg·kg<sup>-1</sup> (放射性为 3.7×10<sup>6</sup> Bq, 比活度为 7.4×10<sup>5</sup> Bq·mg<sup>-1</sup>); 灌胃给药 (ig): 50 mg·kg<sup>-1</sup> (放射性为 3.7×10<sup>6</sup> Bq, 比活度为 7.4×10<sup>4</sup> Bq·mg<sup>-1</sup>)。

**药代动力学研究 (1 组)** 12 只颈静脉插管大鼠 (雌雄各半) 分为 iv 和 ig 两组, 于给药前 (0 h) 和给药后 0.083 h (iv), 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24 和 48 h (ig) 取血约 0.3 mL 于含抗凝剂 (EDTA-2K) 采血管中, 1 800 ×g 离心 5 min 分离血浆, 另有雌雄大鼠各一只于灌胃给药后 2、4、6、8 和 12 h 取血约 0.75 mL, 分离血浆作为代

谢物鉴定补充样品, 检测前置于 -20 °C 冰箱保存。

**分布研究 (2 组)** 24 只大鼠 (雌雄各半) 分为 4 组, 灌胃给药后 0.5、4、24 和 48 h 各取一组取全血、骨髓肌 (股骨)、体脂 (腹腔)、脑、心、肺、肝、脾、肾、胃壁、肠道壁和生殖腺 (雌性卵巢子宫、雄性睾丸附睾), 全血分装 0.5 mL, 剩余 1 800 ×g 离心 5 min 分离血浆, 检测前置于 -20 °C 冰箱保存。

**排泄、代谢研究 (3 组)** 12 只大鼠 (雌雄各半), 分为整体和胆插管 (bile duct cannulated, BDC) 两组, 灌胃给药。整体大鼠给药后收集 0~8、8~24 (粪便 0~24 h)、24~48、48~72、72~96、96~120、120~144 和 144~168 h 尿液、粪便、笼具清洗液样品, BDC 大鼠给药后收集 0~4、4~8 (粪便、尿液 0~8 h)、8~24、24~48 和 48~72 h 胆汁、尿液、粪便、笼具清洗液样品, 检测前置于 -20 °C 冰箱保存。

**空白对照** 雌雄大鼠各一只灌胃给予空白溶媒 (0.5% HPMC) 收集全血、血浆和组织作为对照, 使用前置于 -20 °C 冰箱保存。

**样品处理** 吸收、分布、排泄样品: 粪便加适量异丙醇水溶液 (1:1, v/v)、组织加 4 倍体积纯水匀浆处理, 血浆、胆汁、尿液和笼具清洗液检测前涡旋混匀。代谢样品: 按 AUC<sup>[6]</sup> 方法分别混合 1 组 (ig 组) 雌雄大鼠 0~12 h 血浆样品, 加 3 倍体积甲醇提取并分离上清, 残渣以甲醇提取两次, 合并提取液吹干, 以甲醇水 (1:1, v/v) 复溶; 按相同体积或重量占比分别混合 2 组 BDC 雌雄大鼠 0~48 h 胆汁样品、整体雌雄大鼠 0~24 h 尿液样品和 0~48 h 粪便样品。粪便加 3 倍体积甲醇提取并分离上清, 残渣以甲醇提取 3 次, 合并提取液吹干, 以甲醇水 (1:1, v/v) 复溶, 胆汁和尿液样品 10 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 分离上清。

**放射性检测** 取血浆、胆汁、尿液约 0.1 g, 笼具清洗液约 1 g, 分别加入 5~10 mL 闪烁液混匀后由液体闪烁计数仪测定放射性; 取粪便、全血和组织器官处理后样品约 0.1 g 充分燃烧, 由液闪计数仪测定闪烁液捕捉的 [<sup>14</sup>C]CO<sub>2</sub> 放射性。

**色谱条件** HydroBondAQ 柱 (5.0 μm, 250 mm × 4.6 mm), 柱温 30 °C, 流速为 0.7 mL·min<sup>-1</sup>, A 相为 0.4% 甲酸水溶液 (NH<sub>4</sub>OH 调至 pH 3.2), B 相为乙腈, 梯度洗脱程序: 0~5 min, 100% A; 5~10 min, 100%~75% A; 10~15 min, 75% A; 15~50 min, 75%~55% A; 50~55 min, 55%~0% A; 55~60 min, 100% B; 60~62 min, 0%~100% A; 62~77 min, 100% A。

**质谱条件** 离子化电压为 4.5 kV, 毛细管温度为 350 °C, 鞘气、辅助气、吹扫气压力分别为 40、20 和 15 psi (1 psi≈6.9 kPa), 碰撞器压力为 23~27 eV, 毛细管电

压为 35 V, Tube Lens Offset 为 80 V。

**药代动力学分析** 应用 WinNonlin 软件 (6.3 版, Pharsight) 按照非房室模型分析血浆总药物浓度数据, 统计药代动力学参数, 使用 Excel 2016 统计胆汁、尿液、粪便和笼具清洗液中放射性排泄率。

## 结果

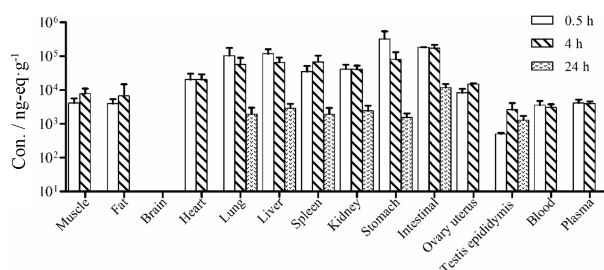
### 1 雌雄大鼠静脉/口服给药后药代动力学特征

单次静脉注射给予雌雄大鼠  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  [ $^{14}\text{C}$ ]HYML-122 后, 血浆中药物快速消除, 24 h 浓度低于定量下限 (图 1a)。单次灌胃给予雌雄大鼠  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  [ $^{14}\text{C}$ ]HYML-122 后, 总药物浓度均于 2 h 达峰, 随后消除, 12 h 检测到少量放射性, 24 h 浓度低于定量下限 (图 1b)。经计算雌雄大鼠口服生物利用分别为 50.92% 和 45.83%, 药代动力学参数详见表 1。

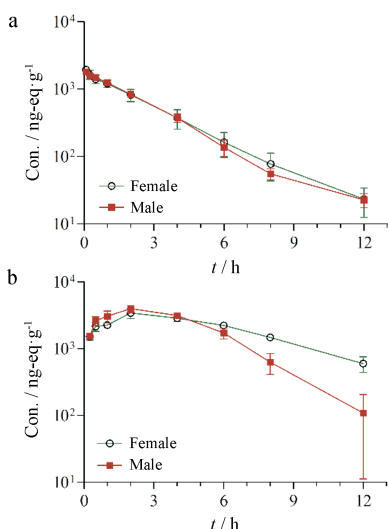
### 2 分布

HYML-122 分布广泛 (图 2)。相同组织以雌雄均值计算, 给药后 0.5 h 胃壁、肠道壁、肝、肺、肾、脾、心和卵

巢子宫的平均总药物浓度是血浆的 2.01 (卵巢子宫)~77.12 倍 (胃壁), 其余组织均低于或近似于血浆, 按浓度从高到低依次为骨骼肌、体脂、全血、睾丸附睾和全脑 (BLQ)。给药后 4 h, 除骨骼肌、体脂、脾和生殖腺外, 各组织总药物浓度均开始下降, 以胃壁、肝和肺最为明显, 分别下降了 74.71%、44.40% 和 44.18%。给药后 24 h, 药物明显消除, 仅在肠道壁、肝、肾、脾、肺、胃壁和睾丸附睾中检测到少量。末次采集时间点 (48 h) 各组织中药物消除完全。



**Figure 2** Total radioactivity concentration in tissues at 0.5, 4 and 24 h after oral administration



**Figure 1** The total radioactivity-time profile in plasma after intravenous injection of  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (a) or oral administration of  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (b) [ $^{14}\text{C}$ ]HYML-122 to rats

### 3 代谢

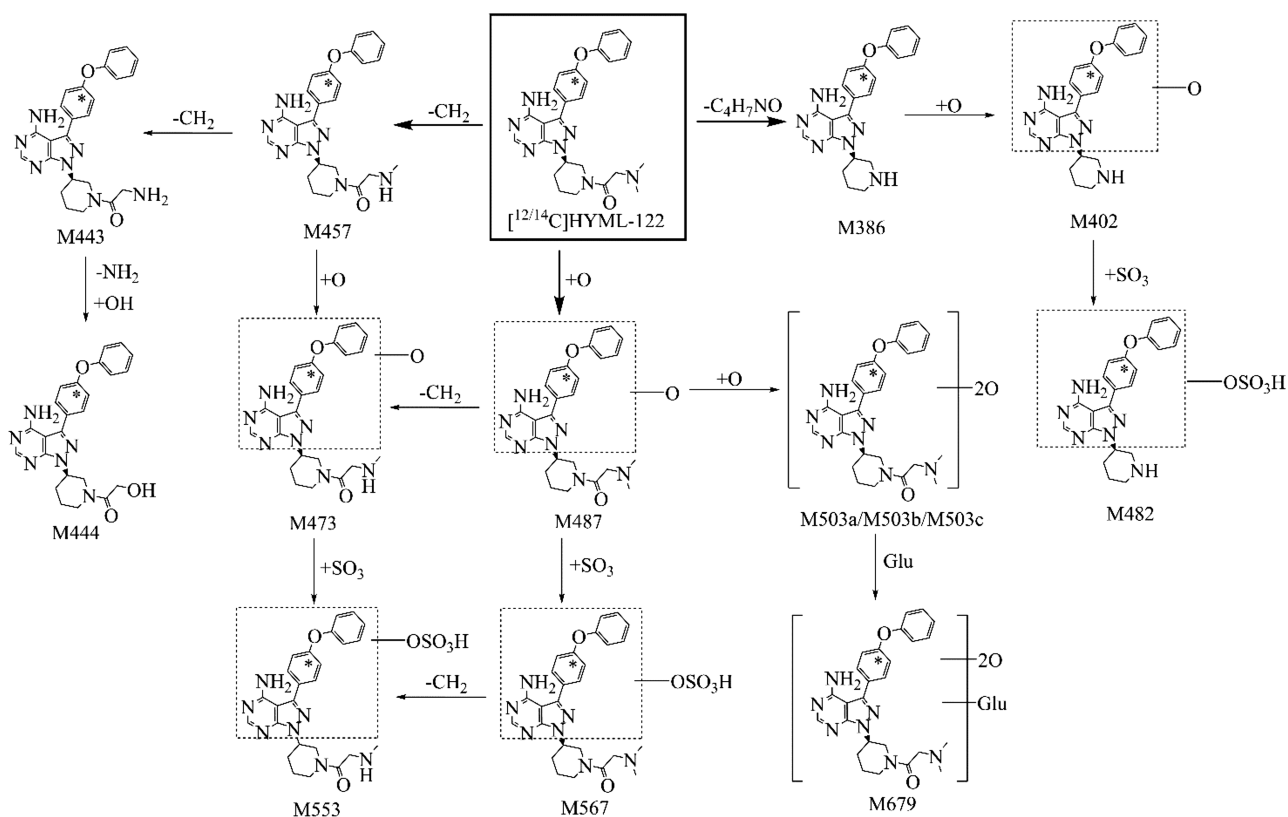
液质联用 (LC-MS/MS) 方法对大鼠血浆、胆汁、尿液和粪便样品中的代谢产物进行结构鉴定, 除原形药外, 共鉴定了 14 个主要代谢产物, 包括 I 相代谢产物 10 个, II 相代谢产物 4 个。分别指定为 M386 (酰胺水解产物)、M402 (酰胺水解、单氧化产物)、M443 (*N*-去二甲基产物)、M444 (*N*-去二甲基、氧化脱氨产物)、M457 (*N*-去甲基产物)、M473 (*N*-去甲基、单氧化产物)、M482 (酰胺水解、单氧化、硫酸结合产物)、M487 (单氧化产物)、M503a~M503c (双氧化产物)、M553 (*N*-去甲基、单氧化、硫酸结合产物)、M567 (单氧化、硫酸结合产物) 和 M679 (双氧化、葡萄糖醛酸结合产物), 代谢产物主要质谱数据见表 2。HYML-122 在大鼠体内主要经历 *N*-去烷基、氧化和酰胺水解, 进一步与硫酸或葡萄糖醛酸结合形成 II 相代谢产物, 代谢路径详见图 3。

**Table 1** Pharmacokinetic parameters of total radioactivity in plasma. <sup>a</sup>In the calculation of  $C_{\text{max}}$ , AUC, CL and  $V_{\text{ss}}$ , 1 g plasma was equivalent to 1 mL. <sup>b</sup>F(%) =  $[\text{AUC}_{0-12\text{h}}(\text{po})/\text{Dose}(\text{po})]/[\text{AUC}_{0-12\text{h}}(\text{iv})/\text{Dose}(\text{iv})] \times 100\%$ . -: Not applicable

Parameter	Unit	Intravenous		Oral	
		Female	Male	Female	Male
$t_{\text{max}}$	/h	-	-	$2.00 \pm 0.00$	$2.00 \pm 0.00$
$C_{\text{max}}^{\text{a}}$	/ng·eq·mL <sup>-1</sup>	-	-	$3\ 435 \pm 595$	$3976 \pm 484$
$\text{AUC}_{0-12\text{h}}^{\text{a}}$	/h·ng·eq·mL <sup>-1</sup>	$4\ 688 \pm 1\ 000$	$4\ 622 \pm 304$	$23\ 869 \pm 2\ 032$	$21\ 183 \pm 3\ 053$
$\text{AUC}_{0-\infty}^{\text{a}}$	/h·ng·eq·mL <sup>-1</sup>	$4\ 762 \pm 1\ 036$	$4\ 701 \pm 319$	$26\ 766 \pm 1\ 118$	$21\ 726 \pm 2\ 806$
CL <sup>a</sup>	/mL·h <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup>	$1\ 089 \pm 270$	$1\ 067 \pm 74.2$	$1\ 870 \pm 77.2$	$2\ 328 \pm 313$
$V_{\text{ss}}^{\text{a}}$	/mL·kg <sup>-1</sup>	$2\ 688 \pm 281$	$2\ 611 \pm 108$	-	-
$\text{MRT}_{0-12\text{h}}$	/h	$2.33 \pm 0.265$	$2.23 \pm 0.141$	$4.71 \pm 0.244$	$3.57 \pm 0.404$
$t_{1/2}$	/h	$2.14 \pm 0.119$	$2.41 \pm 0.046\ 3$	$3.22 \pm 0.793$	$1.61 \pm 0.187$
$F^{\text{b}}$	/%	-	-	50.92	45.83

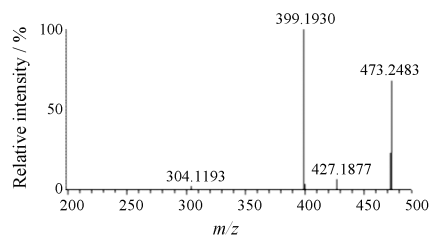
**Table 2** Key mass spectral data for HYML-122 metabolites. P: Plasma; U: Urine; B: Bile; F: Feces

Analyte	Identity	$t_R$ /min	$[M+H]^+$	$\delta$ /ppm	Fragments	Matrix
[ <sup>12</sup> C]HYML-122	-	40.3	472.245 8	0.505 8	427, 399	P, B, U, F
M482	+11 (Amidehydrolysis+O+SO <sub>3</sub> )	20.5	483.144 9	0.728 5	403	P, B, U, F
M553	+82 (N-Dealkyl+O+SO <sub>3</sub> )	21.8	554.181 9	0.476 9	523, 474, 483, 443, 403	P, B, U, F
M567	+96 (+O+SO <sub>3</sub> )	23.3	568.197 9	1.037 5	495, 488, 523, 443, 415	P, B, U, F
M503a	+32 (+O+O)	25.0	504.235 8	0.781 1	459, 431, 336	U, F
M402	-69 (Amidehydrolysis+O)	27.0	403.188 1	1.016 5	320	P, B, U, F
M473	+2 (N-dealkyl+O)	28.1	474.225 1	0.677 9	456, 443, 415, 403, 320	P, B, U, F
M503b	+32 (+O+O)	29.1	504.235 8	0.853 8	486, 459, 441, 431, 419, 401, 304	B, U, F
M487	+16 (+O)	29.8	488.240 2	-0.569 2	443, 415, 320	P, U, F
M503c	+32 (+O+O)	34.8	504.236 6	2.363 4	486, 459, 304	B, U, F
M443	-28 (N-Dealkyl)	35.9	444.215 0	1.752 9	427, 387, 304	U, F
M386	-85 (Amidehydrolysis)	37.0	387.193 1	0.877 9	304	B, U, F
M457	-14 (N-Dealkyl)	38.0	458.230 7	1.707 1	427, 399, 387, 304	P, B, U, F
M444	-27 (N-Dealkyl, Deaminate+O)	53.6	445.198 9	1.456 5	427, 387, 304	P, U
M679	+208 (+O+O+Glu)	17.1	680.268 3	1.257 7	504	P, B, U

**Figure 3** Main metabolic pathways of HYML-122 in rats. \*Where [<sup>14</sup>C] labelled

**3.1 HYML-122** [<sup>12</sup>C]HYML-122 在高分辨质谱中准分子离子峰为  $[M+H]^+$   $m/z$  472.245 8, 在(+)-CID 模式下, 主要有两条裂解途径: ① C-N 键断裂脱去二甲胺  $C_2H_6N$  (44) 形成  $m/z$  427 碎片离子。② 吡啶环 N-支链裂解重排形成  $m/z$  399 碎片离子, 吡啶环 N-C 键断裂失去吡啶环剩余结构  $C_6H_{10}N$  (96) 形成  $m/z$  304 碎片离子, 二级质谱图见图 4。

**3.2 M457** 在高分辨质谱中准分子离子峰为  $[M+H]^+$   $m/z$  458.230 7, 比原形相对分子质量低 14 为其 N-去甲基产物, 分子式为  $C_{25}H_{28}O_2N_7$ 。在(+)-CID 模式下, 酰胺

**Figure 4** Daughter ions of HYML-122

键断裂重排失去碎片  $C_3H_5ON$  (71) 形成  $m/z$  387 碎片离子,  $m/z$  427、 $m/z$  399 和  $m/z$  304 碎片离子产生途径与原形相同。

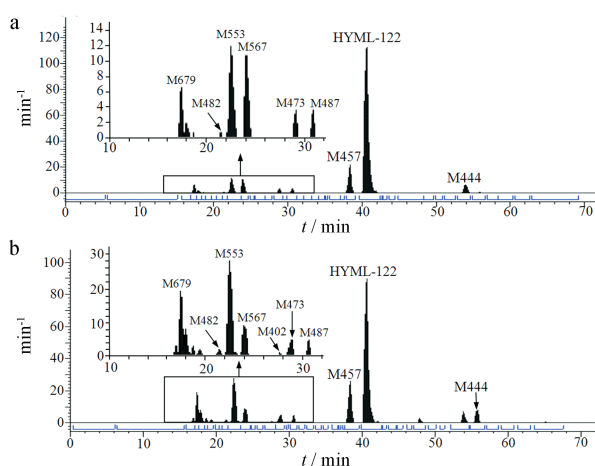
**3.3 M487** 在高分辨质谱中准分子离子峰为  $[M+H]^+$   $m/z$  488.240 2, 比原形相对分子质量高 16 为其单氧化产物, 分子式为  $C_{26}H_{30}O_3N_7$ 。在 (+)CID 模式下, 哌啶环 *N*-支链裂解脱去二甲胺  $C_2H_6N$  (44) 形成  $m/z$  443, 进一步裂解重排失去 CO (28) 得到  $m/z$  415 碎片离子, 连接哌啶环的碳氮  $\sigma$  键断裂脱去  $C_6H_{10}N$  (96) 形成  $m/z$  320 碎片离子, 均比原形相应碎片离子高 16, 推测氧化位置在  $m/z$  320 碎片离子的哌啶并吡啶环或二苯醚结构上, 具体位点可由核磁共振分析方法确认。

**3.4 M473** 在高分辨质谱中准分子离子峰为  $[M+H]^+$   $m/z$  474.225 1, 比 M457 相对分子质量高 16 为其单氧化物, 分子式为  $C_{25}H_{28}O_3N_7$ 。在 (+)CID 模式下, M473 脱去 1 分子  $H_2O$  (18) 形成  $m/z$  456 碎片离子; M473 哌啶环 *N*-支链裂解脱去  $CH_4N$  (30) 形成  $m/z$  443, 或脱去  $C_2H_4OH$  (58) 形成  $m/z$  415 碎片离子; M473 酰胺键断裂失去  $C_3H_5NO$  (71) 结构形成  $m/z$  403 碎片离子, 连接哌啶环的碳氮  $\sigma$  键断裂形成  $m/z$  320 碎片离子。  $m/z$  443、415、403、320 均比 M457 相应碎片离子高 16, 提示氧化位置在  $m/z$  320 碎片离子的哌啶并吡啶环或二苯醚结构上, 具体位点可由核磁共振分析方法确认。

**3.5 M567** 在高分辨质谱中准分子离子峰为  $[M+H]^+$   $m/z$  568.197 9, 比 M487 相对分子质量高 80 为其硫酸结合产物, 分子式为  $C_{26}H_{30}O_6N_7S$ 。在 (+)CID 模式下, 哌啶环 *N*-支链裂解形成  $m/z$  523 和  $m/z$  495 碎片离子; M567 丢失磺酸基  $SO_3$  (80) 形成  $m/z$  488 碎片离子, 酰胺键断裂形成  $m/z$  403 碎片离子,  $m/z$  443、415、320 碎片离子产生途径与 M487 相同。

**3.6 M553** 在高分辨质谱中准分子离子峰为  $[M+H]^+$   $m/z$  554.181 9, 比 M473 相对分子质量高 80 为其硫酸结合产物, 分子式为  $C_{25}H_{28}O_6N_7S$ 。在 (+)CID 模式下, M553 哌啶环 *N*-支链裂解形成  $m/z$  523 和  $m/z$  495 碎片离子, 酰胺键断裂形成  $m/z$  483 碎片离子; M553 丢失磺酸基 (80) 形成  $m/z$  474 碎片离子,  $m/z$  443 和  $m/z$  403 碎片离子产生途径与 M473 相同。

**3.7 代谢产物分布** 经相同液相方法连接放射性检测器分析, 各基质中雌雄大鼠代谢产物种类无明显差异。血浆中以原形为主, 分别占雌雄大鼠  $AUC_{0-12h}$  的 70.65% 和 49.23%, 主要代谢产物为 M553 和 M457, 次要代谢产物为 M482、M567、M402、M473、M487、M444 和 M679, 放射性代谢物色谱图见图 5。尿液中主要代谢产物为 M553、M567 和 M457, 含量均较低。胆汁中主要代谢产物为 M553 和 M567, 次要代谢产物为 M482、M402 和 M386。粪便中原形含量较高, 分别占雌雄大鼠给药量的 9.93% 和 4.09%, 主要代谢产物为 M553、M473 和 M487, 次要代谢产物为 M482、M567、



**Figure 5**  $[^{14}C]$ -Radiochromatograms showing metabolite profiles of female (a) and male (b) plasma

M402、M503c、M443、M386 和 M457。各代谢产物在雌雄大鼠尿液、胆汁和粪便中含量占比见图 6。

#### 4 排泄

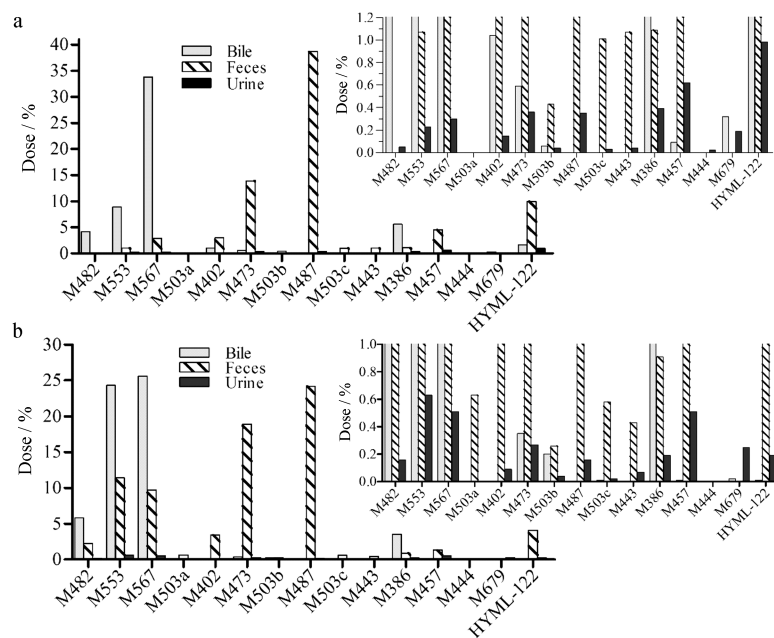
整体大鼠给药后 0~168 h, 粪便、尿液和笼具清洗液放射性回收率分别为 92.34%、3.99% 和 0.97%, 总回收率为 97.30%。排泄主要发生在给药后 0~48 h, 占给药量的 96.46%; BDC 大鼠给药后 0~72 h, 胆汁、粪便、尿液和笼具清洗液放射性回收率分别为 59.44%、33.22%、4.78% 和 0.79%, 总回收率为 98.23%。胆汁排泄主要发生在给药后 0~48 h, 占给药量的 59.25%。表明药物吸收后主要经胆汁、少量经尿液排泄。

#### 讨论

新药临床前体内药代动力学研究的目的是探索药物吸收、分布、代谢和排泄情况, 推测药物的体内转化途径和经时过程, 对可能出现的毒性反应提供合理预测。为考察 HYML-122 在大鼠体内的代谢情况, 应用放射性标记法, 对物质平衡进行评价, 采用线性离子阱串联高分辨轨道离子阱质谱鉴定代谢产物结构<sup>[7-10]</sup>, 反映体内药物的总体含量和转化过程。

HYML-122 口服生物利用度良好, 以胆汁和尿液回收药量计算, 至少有 64.22% 药物吸收入血,  $t_{1/2}$ 、CL 和 MRT 结果则表明血浆中总药物清除较快。药物吸收后组织分布广泛, 胃肠壁、肝、肺最多, 其次是肾、脾、心和卵巢子宫, 脑中未检测到。肠壁于给药后 24 h 药物含量仍较高, 多次给药可能存在刺激作用, 各组织药物于给药后 48 h 消除完全, 表明药物在体内无明显蓄积, 毒理实验可关注主要分布组织的器官毒性。

药物在大鼠体内以肝脏代谢为主, 代谢产物种类无明显雌雄差异。血浆中主要代谢产物为 M553 (硫



**Figure 6** Percentage of metabolites in female (a) and male (b) bile, urine and feces (% dose)

酸结合产物)和M457(*N*-去羟基产物), M457可发生氧化并与硫酸结合得到M553, 次要代谢产物为M482、M567、M402、M473、M487、M444和M679, 其中M482、M567为II相硫酸结合代谢产物, M402、M473、M487可与硫酸结合分别转化为M482、M553、M567, 这与胆汁中代谢产物分布结果相符。酶表型实验可确定参与相关代谢的CYP酶, 并进一步进行抑制和诱导研究以完善药物安全性信息, 为临床联合用药提供参考依据, 但由于存在物种差异, 不能完全预测人体血浆中主要代谢产物种类和分布情况。

药物吸收后主要经胆汁少量经尿液排泄, 以硫酸结合产物为主, 代谢产物分布无明显雌雄差异, 雄性大鼠粪便中M553、M473(*N*-去羟基、氧化产物)和M487(单氧化产物)含量分别为雌性大鼠的10.65倍、1.36倍和0.63倍, 可能是雌雄肠道菌群差异导致<sup>[11,12]</sup>。

## Reference

- [1] Li X, Wang A, Yu K, et al. Discovery of (*R*)-1-(3-(4-amino-3-(4-phenoxyphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)piperidin-1-yl)-2-(dimethylamino)ethanone (CHMFL-FLT3-122) as a potent and orally available FLT3 kinase inhibitor for FLT3-ITD positive acute myeloid leukemia [J]. *J Med Chem*, 2015, 58: 9625-9638.
- [2] Griffith J, Black J, Faerman C, et al. The structural basis for auto-inhibition of FLT3 by the juxtamembrane domain [J]. *Mol Cell*, 2004, 13: 169-178.
- [3] Wilhelm SM, Carter C, Tang LY, et al. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis [J]. *Cancer Res*, 2004, 64: 7099-7109.
- [4] O'Farrell AM, Abrams TJ, Yuen HA, et al. SU11248 is a novel FLT3 tyrosine kinase inhibitor with potent activity *in vitro* and *in vivo* [J]. *Blood*, 2003, 101: 3597-3605.
- [5] US Food and Drug Administration. Midostaurin [EB/OL]. 2017 [2018-12-10]. <https://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm555756.htm>.
- [6] Hop CE, Wang Z, Chen Q, et al. Plasma-pooling methods to increase throughput for *in vivo* pharmacokinetic screening [J]. *J Pharm Sci*, 2010, 87: 901-903.
- [7] Wang HH, Li G, Peng XP, et al. Secondary metabolites from *Colletotrichum fioriniae* F18, an endophytic fungus isolated from the medicinal plant *Mahonia fortunei* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2018, 53: 1862-1867.
- [8] Qiao S, Xu HS, Shi XW, et al. Identification of major bioactive components and their metabolites in rat plasma after oral administration of Zhikebao tablet by UHPLC-QTOF-MS [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2018, 53: 1536-1544.
- [9] Wang CX, Wang L, Qian DW, et al. Identification of metabolites of Reduning injection in rat plasma, bile, urine and feces after intravenous administration [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2018, 53: 1148-1155.
- [10] Li J, Hua ZD, Wang YM. Analysis of metabolites and metabolic pathway of 5F-AMB *in vitro* using UPLC-HR-MS [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 1743-1747.
- [11] Kaminsky LS, Zhang QY. The small intestine as a xenobiotic-metabolizing organ [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31: 1520-1525.
- [12] Lin JH. Is the role of the small intestine in first-pass metabolism overemphasized? [J]. *Pharmacol Rev*, 1999, 51: 135-157.