

## • 新药发现与研究实例简析 •

新药创制是复杂的智力活动,涉及科学研究、技术创造、产品开发和医疗效果等多维科技活动。每个药物都有自身的研发轨迹,而构建化学结构是最重要的环节,因为它涵盖了药效、药代、安全性和生物药剂学等性质。本栏目以药物化学视角,对有代表性的药物的成功构建,加以剖析和解读。

该文讨论的两个含有核素的药物,是通过技术平台分别研制的成像诊断药和肿瘤治疗药,两个药物除放射性元素不同外,分子中的螯合片段和与受体结合的配体结构完全相同,诊断和治疗的疾病以及作用的靶标也相同,一定程度上体现了该技术平台的通用性。该核心技术的依据是胃肠道神经内分泌肿瘤具有高表达生长抑素受体(SSTR)的生物学特征,技术核心是选择SSTR的高亲和力的配体并连接具有强配位能力的螯合片段—DOTATATE,后者螯合镓-67得到成像诊断药 gallium Ga 68-DOTATATE,于2016年上市;螯合镭-177得到放射性治疗药 lutetium Lu 177-DOTATATE于2018年上市。文章着重阐述了分子设计的依据、策略、路径和不同技术领域的整合性,省略了各个片段优化过程的讨论。(编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0250

# 肽受体放射性核素疗法的技术平台及其研发路径

郭宗儒

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所,北京 100050)

## 1 引言

放射治疗是肿瘤治疗的手段之一,射线(或粒子)聚焦于肿瘤部位以保障治疗效果防止散射到正常组织而引起损伤。用放射性元素作为诊断或治疗药物,通常因缺乏选择性吸收与分布,脱靶作用会导致错误诊断或毒副作用,所以提高放射性药物的靶向性是药物设计的目标。

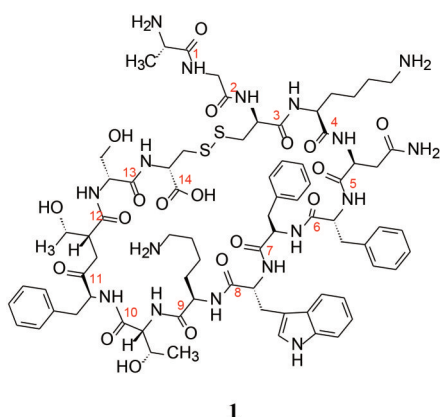
利用肿瘤细胞的分子生物学特征是解决靶向性的切入点。某些肿瘤特定基因的改变,表达出与正常细胞不同水平的蛋白,这异常的蛋白可以作为靶标,通过解析和研制其配体,可将配体或其类似物作为载体,与放射性核素偶联,从而提高核素到达肿瘤部位的选择性分布。美国FDA在2016年批准法国 Advanced Accelerator Applications (AAA) 公司上市的 Netspot (商品名) 是利用活性肽导向的注射用成像诊断药物,2018年批准诺华公司的新药 Lutathera (商品名) 是第一个肽受体放射性核素疗法 (PRRT) 的药物。这两个药分别是诊断药和治疗药物,但作用靶标和配体结构是相同的,用于诊断和治疗生长抑素受体呈阳性的胃肠胰腺神经内分泌肿瘤。神经内分泌肿瘤具有高表达生长抑素受体的分子生物学特征,通过与配体的特异性结合,可作为富集放射性核素的位点。这两个药物的化学成分分别是  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 和  $^{177}\text{Lu}$ -DOTATATE, 为一种螯

含有核素镓-68或镭-177的生长抑素类似物,通过与生长激素抑制素受体的选择性结合而起作用。两种药物与受体结合,各自的核素浓集于肿瘤细胞上,起到成像诊断或杀伤肿瘤细胞效果。两个药其实都是由法国 AAA 公司研究的,诺华于2017年11月收购了 AAA 公司,获得了 Lutathera 及其平台技术产权。

## 2 原理和组成

**2.1 生长抑素** 生长抑素 (1, somatostatin, SST) 全名称作生长激素抑制激素 (growth hormone-inhibiting hormone, GHIH), 是一种肽类激素,通过与 G 蛋白偶联的 SST 受体 (SSTR) 相互作用,所引发的生理效应是抑制许多次生激素的释放,例如抑制胰岛素和胰高血糖素的分泌, SST 在调节内分泌系统、影响神经传导和细胞增殖起重要作用。

生长抑素是多肽分子,由14个氨基酸组成,分子组成是 Ala1-Gly2-Cys3-Lys4-Asp5-Phe6-Phe7-Trp8-Lys9-Thr10-Phe11-Thr12-Ser13-Cys14cyclic (3-14) disulfide, 在半胱氨酸3和14之间形成二硫键,因而是环状肽。生长抑素为柔性分子,以不同的构象结合于5种亚型 SSSTR1-5,呈现不同的生理功能。作为药物的生长抑素是人工合成品,由于半衰期很短,  $t_{1/2} = 1 \sim 3 \text{ min}$ , 应用时缓慢静脉滴注,治疗急性食道静脉曲张出血,胃肠道溃疡出血和胰腺术后并发症的预防和治疗。



神经内分泌肿瘤 (neuroendocrine neoplasma, NEN) 主要发生在胃肠道, 尤其是回肠和直肠, 癌细胞的分子生物学特征是高表达 SSTR, 生长抑素及其类似物对 SSTR 的特异性结合, 可用来作为神经内分泌肿瘤的诊断药和治疗药的载体。

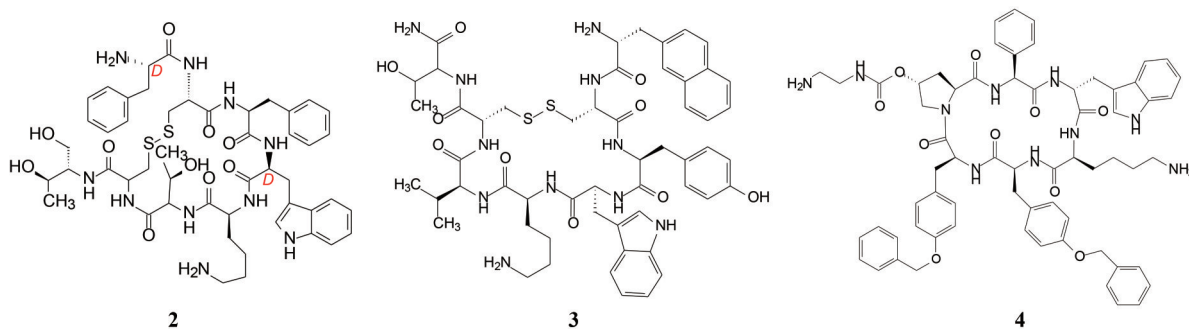
**2.2 生长抑素类似物** 生长抑素的多种生理功能是由于不同的构象体与受体亚型结合的选择性结合, 为了提高对不同受体亚型的选择性, 例如神经内分泌肿瘤更多地表达 SSTR2, 也为了增加代谢稳定性, 经简化氨基酸数目和非天然氨基酸的置换等系统的研究, 研制了一批 SST 的类似物, 提高了成药性。

第一个上市的是诺华研发的 SST 简化类似物奥曲肽 (**2**, octreotide), 为环八肽, 分子中不仅保留了 SST 药效团, 而且提高了对 SSTR 的亲合力, 强于天然配体 SST 数十到百倍, 奥曲肽结构中含有两个非天然氨基酸残基 *D*-Phe1 和 *D*-Trp4, 氨基酸的构型改变提高了对蛋白酶的代谢稳定性,  $t_{1/2} = 1.9$  h, 临床用于治疗类癌综合征 (carcinoid syndrome) (Uhl W, Anghelacopoulos SE, Friess H, et al. The role of octreotide and somatostatin in acute and chronic pancreatitis. Digestion, 1999, 60 Suppl

2: 23-31)。兰瑞肽 (**3**, lanreotide) 是 Ipsen 公司研发的另一个环八肽, 结构中有 3 个非天然氨基酸, 活性和稳定性与奥曲肽相似, 临床用于治疗肢端肥大症 (Sucini C, Buscail L. Role for the use of somatostatin analogs as anticancer agents. Ann Oncol, 2006, 17: 1733-1742)。帕瑞肽 (**4**, pasireotide) 虽然也是环状肽, 但 7 个氨基酸中只有两个是天然的, 也没有二硫键, 代谢稳定性显著提高, 活性也有所提高, 临床治疗因 ACTH 分泌亢进而引起的 Cushing 病 (Bruns C, Lewis I, Briner U, et al. SOM230: a novel somatostatin peptidomimetic with broad somatotropin release inhibiting factor (SRIF) receptor binding and a unique antisecretory profile. Eur J Endocrinol, 2002, 146: 707-716)。表 1 列出了这三个 SST 类似物的活性和半衰期数据。

奥曲肽是第一个研发的生长抑素类药物, 本文讨论的目标药物, 就是含有奥曲肽的结构, 利用奥曲肽对 SSTR 的高亲和作用, 作为靶向载体将放射性核素传输到高表达 SSTR 的胃肠胰腺神经内分泌肿瘤。从分子设计的策略分析, 奥曲肽相当于抗体-药物偶联物 (antibody-drug conjugate, ADC) 中的单克隆抗体 A, 核素相当于 ADC 中细胞毒药物 D, 连接基 linker 简化为配位键, 将分子运载并富集于高表达 SSTR 的癌细胞处, 达到选择性成像或治疗的目的。

**2.3 核素螯合剂—DOTA** 有机化合物四氮杂环十二烷是一种络合剂, 尤其是当 4 个氮原子连接乙酸基, 羧基提供负电荷, 与 4 个氮原子的孤电子对一起, 可与金属离子发生强力的多齿螯合作用, *N,N',N'',N'''*-四氮杂环十二烷四乙酸 (**5**, DOTA, 又称 tetraxetan) 是常用强效多齿螯合物, 例如与  $\text{Ca}^{2+}$  或  $\text{Gd}^{3+}$  离子的配位化合物的稳定常数表明螯合极其稳定。与铜系和过渡金属离子形成多齿结合的螯合物 (Zeng D, Desai AV, Ranganathan



**Table 1** Marketed somatostatin analogs

| No. | Name        | SSTR2/ $pK_i$ | SSTR3/ $pK_i$ | SSTR5/ $pK_i$ | $t_{1/2}$ | Marketed | Indication         |
|-----|-------------|---------------|---------------|---------------|-----------|----------|--------------------|
| 2   | Octreotide  | 8.7-9.9       | 7.4-8.6       | 7.2-9.9       | 1.9 h     | 1988     | Carcinoid syndrome |
| 3   | Lanreotide  | 8.7-9.6       | 7.2-8.0       | 7.4-9.3       | 2 h       | 2007     | Acromegaly         |
| 4   | Pasireotide | 9.0           | 9.1           | 9.9           | 12 h      | 2009     | Cushing's disease  |

D, et al. Microfluidic radiolabeling of biomolecules with PET radiometals. Nucl Med Biol, 2013, 40: 42-51)。

DOTATATE (6) 又称DOTA-octreotate, 是DOTA与奥曲肽的类似物octreotate的偶联分子, 奥曲肽的Phe3用Tyr3代替, 相当于第8个氨基酸位置的二羟基丁胺用Thr8替换, 得到的Tyr3-Thr8-octreotide称作octreotate, 后者的Phe1经酰胺键与DOTA偶联, 即为DOTATATE (6), DOTATATE具有与过渡金属离子发生强力螯合的能力, 同时也保留了与生长抑素受体的高效亲和力 (Fani M, Nicolas GP, Wild D. Somatostatin receptor antagonists for imaging and therapy. J Nucl Med, 2017, 58 (Suppl 2): 61S-66S)。用DOTATATE结合不同的金属离子得到的螯合物, 例如美国FDA在2016年批准的gallium Ga68-DOTATATE是DOTATATE与Ga<sup>3+</sup>的螯合物, 是正电子发射断层显像 (positron emission tomography, PET) 的成像诊断剂, 2018年批准的lutetium Lu177-DOTATATE是与Lu<sup>3+</sup>形成的螯合物, 为肽受体放射性核素疗法 (PRRT) 的药物。

### 3 诊断用成像剂gallium Ga 68-DOTATATE

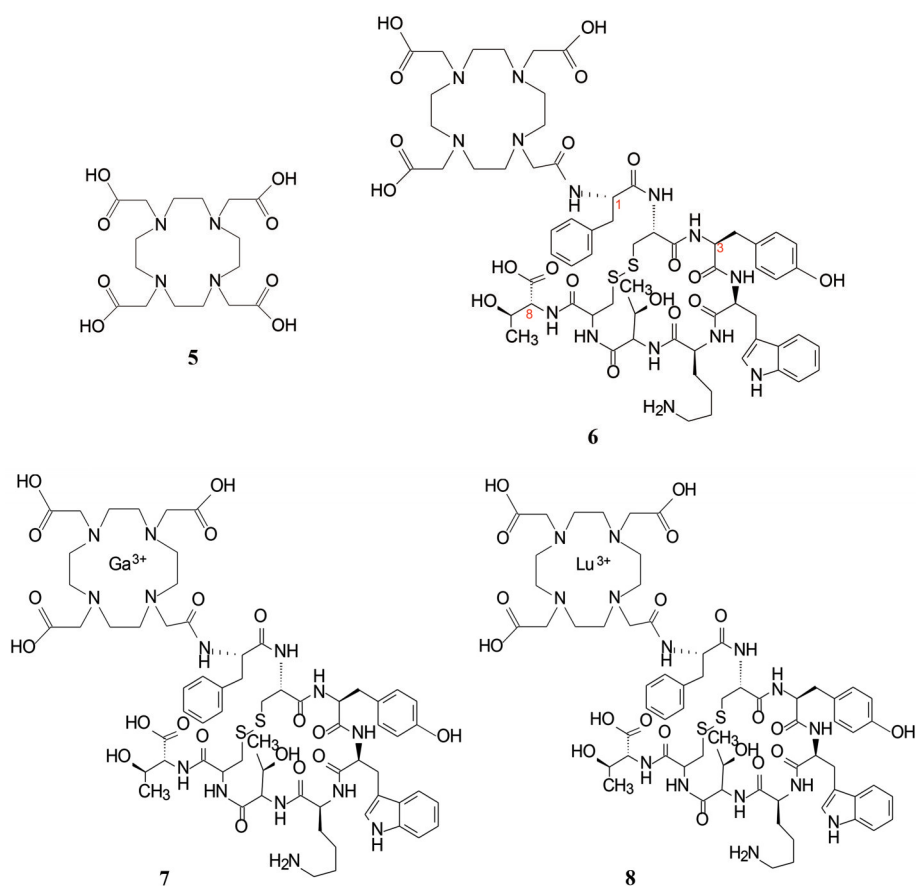
Gallium Ga 68-DOTATATE (7) 是镓68与DOTATATE的螯合物。DOTATATE与生长抑素受体2 (SSTR2) 有强效亲和力, 而SSTR2在胃肠胰腺等神经内分泌肿瘤

高表达, 因而7富集在这类肿瘤组织上, 并有较常的驻留时间, 而正常组织中7的结合较少并且迅速被代谢清除, 分子中镓68是发射β<sup>+</sup>粒子的放射性核素, 7用于PET诊断并确定肿瘤的部位。

静脉注射后, gallium Ga 68-DOTATATE分布于外周, 浓集于高表达SSTR2的组织器官中, 如胰腺、甲状腺、脾脏、肾上腺、肾脏、前列腺和肝脏等, 但在肺和胸腺较少摄入, 也难以进入中枢神经。7的分布容积为0.25~0.65 mL·cm<sup>-3</sup>, 半衰期t<sub>1/2</sub> 68 min。2016年FDA批准为注射用诊断成像剂。商品名是Netspot (Mojtahedi A, Thamake S, Tworowska I, et al. The value of (68) Ga-DOTATATE PET/CT in diagnosis and management of neuroendocrine tumors compared to current FDA approved imaging modalities: a review of literature. Am J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 4: 426-434)。

### 4 放射性治疗药物lutetium Lu 177-DOTATATE

放射治疗是肿瘤治疗的手段之一, 由于射线的散射而脱靶到正常组织, 是放疗不良反应的起因。靶向放射性核素药物在细胞内照射是另一种治疗策略。前已述及的某些消化道恶性肿瘤对生长抑素受体呈高表达的分子生物学特征, 提供了用SST类似物输送放射性核素达到细胞, 经内照射杀灭肿瘤的药物治疗途径。



Lutetium Lu 177-DOTATATE (**8**) 是2018年上市的放射性治疗药物。

镥-177是放射性同位素,发射3种能量的 $\beta$ 粒子和 $\gamma$ 射线,半衰期 $t_{1/2}$ 为6.7天,其 $\beta$ 粒子能量相对较弱,穿透距离1至数毫米,对病灶发生辐射作用时对周边组织的辐射作用和骨髓抑制较轻。由于也发射 $\gamma$ 射线,便于定位分析观测。 $\text{Lu}^{3+}$ 与DOTATATE形成多齿螯合物**8**。

Lutetium Lu 177-DOTATATE与上述的gallium Ga 68-DOTATATE结构特征相似,也是由3个要素组成:3价镥离子( $\text{Lu}^{3+}$ )、螯合剂DOTA和SSTR配体octreotate组成,只是将**7**中的 $\text{Ga}^{3+}$ 用 $\text{Lu}^{3+}$ 置换,变诊断剂为治疗药,是高表达SSTR2的消化道肿瘤的放射性治疗药(Teunissen JJ, Krenning EP, de Jong FH, et al. Effects of therapy with [ $^{177}\text{Lu}$ -DOTA 0, Tyr 3] octreotate on endocrine function. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2009, 36: 1758-1766)。其作用机制是,静脉注射**8**后, DOTATATE携带Lu177选择性地浓集于高表达SSTR2受体的肿瘤组织处,并与SSTR2结合,内吞进入细胞, Lu177通过内照射形成自由基而杀伤癌细胞。临床研究表明lutetium Lu 177-DOTATATE可治疗胃肠胰腺神经内分泌肿瘤,2018年FDA批准上市,商品名Lutathera (Kam BL, Teunissen JJ, Krenning EP, et al. Lutetium-labelled peptides for therapy of neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2012, 39 Suppl 1: 103-112)。

## 5 启示

以靶标为核心的药物创制,药物的选择性是靶向作用的保障,优化小分子药物的药效,集中体现在活性

强度和选择性作用,但往往二者难以同在,尤其表现在抗肿瘤药物的研制上。例如一些强效的细胞毒分子,活性很强,靶标明确,但选择性不高,难以单独药用。本文讨论的放射性核素也存在着活性强度高但单独应用选择性差,解决活性强度与选择性不匹配的策略之一,是利用肿瘤与正常组织的分子生物学特征的差异,特定蛋白表达的质或量的差异,将毒性分子(或核素)富集在肿瘤组织处,所以解决选择性的途径是药代动力学中的分布问题。例如ADC就是利用肿瘤细胞的表面抗原与其单克隆抗体的“严丝合缝”的识别与结合特征,将抗体偶联的细胞毒分子运载到病变部位,避免了单独用细胞毒分子对正常组织的脱靶作用,迄今已有多个ADC药物上市治疗癌症。

小分子药物偶联物 (small molecule drug conjugate, SMDC) 也是类似的设计策略。肿瘤细胞高表达叶酸受体 $\text{FR}\alpha$ ,利用叶酸识别与结合 $\text{FR}\alpha$ 的功能,将抗肿瘤活性成分与叶酸共价连接,构成了小分子药物偶联物。叶酸(或其类似物)携带抗肿瘤活性片段浓集并摄入肿瘤细胞中,提高了靶向的选择性。

本案例讨论的胃肠道靶向神经内分泌肿瘤的成像诊断药和治疗药,是基于肿瘤细胞的生长抑素受体蛋白的高表达特征,用高亲和性的配体将放射性核素带到病变组织处,达到诊断或治疗的目的。分子生物学研究提供了新药研发的依据,放射性核素-螯合剂-配体等要素的优化组合(本文未详细展开),使得该研发策略得以成功,并开创了肽受体放射性核素疗法的新领域 (peptide receptor radionuclide therapy, PPRT)。