

地罗阿克的药效学研究

Pharmacodynamic study of dirozalkib

姜本科, 赵盼, 王凤,
李嘉逵, 周慧敏

(轩竹生物科技股份有限公司 临床前评价中心,
北京 100025)

JIANG Ben-ke, ZHAO Pan,
WANG Feng, LI Jia-kui,
ZHOU Hui-min

(Preclinical Research and Development
Department, Xuanzhu Biopharmaceutical
Co., Ltd., Beijing 100025, China)

作者简介: 姜本科(1995-), 男, 硕士研究生,
主要从事创新药物研发的相关工作

通信作者: 周慧敏, 高级工程师

MP: 15098989770

E-mail: zhouhuimin@xuanzhubio.com

摘要:目的 研究地罗阿克的体内药效。方法 配制 $3.81 \times 10^{-3} \sim 1\,000.00$ nmol $\cdot$ L $^{-1}$ 地罗阿克溶液, 用 Mobility Shift Assay 和 Radioisotope Filter Binding 方法评价地罗阿克对间变淋巴瘤激酶(ALK)、ALK-L1196M、ALK-G1202R 的活性。用 CellTiter-Glo 试剂盒在多株转染 *EMIA-ALK* 融合基因及耐药突变型的 Ba/F3 细胞上考察 $1.53 \times 10^{-2} \sim 1\,000.00$ nmol $\cdot$ L $^{-1}$ 地罗阿克对细胞的增殖抑制作用。在 NOD SCID 小鼠皮下接种 Ba/F3-EMIA-ALK-L1196M(克唑替尼耐药)细胞, 随机分为空白组(溶剂对照)、实验组(50 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ 地罗阿克)和对照组(50 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ 克唑替尼), 每组 9 只, 每天灌胃给药 1 次, 连续给药 14 d。用 BALB/c 裸鼠建立人肺癌肿瘤组织来源的 LU-01-0319R(克唑替尼耐药)病人来源肿瘤异种移植(PDX)模型, 随机分为空白组(溶剂对照)、实验组(24 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ 地罗阿克)和对照组(24 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ 克唑替尼), 每组 9 只, 每天灌胃给药 1 次, 连续给药 21 d。在 BALB/c 裸鼠颅内接种人源肺癌 H228-luc 细胞, 随机分为空白组(溶剂对照)、实验组(100 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ 地罗阿克)和对照组(100 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ 克唑替尼), 每组 9 只, 每天灌胃给药 1 次, 连续给药 14 d。评价地罗阿克的抗肿瘤作用。**结果** 地罗阿克对 ALK、ALK-L1196M、ALK-G1202R 激酶活性均有明显抑制作用[半数抑制浓度(IC $_{50}$)均小于 1.0 nmol $\cdot$ L $^{-1}$]。地罗阿克对 *EMIA-ALK* 融合的细胞株(NCI-H3122)具有显著的增殖抑制活性(IC $_{50}$ = 3.00 nmol $\cdot$ L $^{-1}$), 对于具有 *EMIA-ALK* 融合的细胞株以及克唑替尼和 2 代酪氨酸激酶抑制剂(ALK-TKI)耐药突变株均具有较强的抑制活性(IC $_{50}$: 1.92 ~ 62.85 nmol $\cdot$ L $^{-1}$)。在克唑替尼耐药的 Ba/F3-EMIA-ALK-L1196M 异种移植模型上, 50 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ 地罗阿克有显著的抗肿瘤作用, 相对肿瘤增殖率为 6.14%; 在 LU-01-0319R 人源肺癌异种移植模型(克唑替尼耐药 PDX 模型)上, 24 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ 地罗阿克有显著的抑瘤作用, 相对肿瘤增殖率为 13.19%; 对于 H228-luc 人源肺癌颅内接种模型, 100 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ 地罗阿克能够显著抑制肿瘤生长, 肿瘤部位光学信号强度(BLI)值为 $(569.34 \pm 153.65) \times 10^5$ photons $\cdot$ s $^{-1}$, 且能显著延长动物的存活时间。**结论** 地罗阿克能够很好地抑制 ALK 及多种一代、二代 ALK-TKI 的耐药突变, 在多种肿瘤模型(包括颅内接种模型)中均表现出了显著的抗肿瘤作用。

关键词: 地罗阿克; 间变性淋巴瘤激酶抑制剂; 非小细胞肺癌; 耐药突变; 颅内药效

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.11.018

中图分类号: R979.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)11-1602-06

Abstract: Objective To study the *in vitro* and *in vivo* pharmacodynamics of dirozalkib. **Methods** Prepare dirozalkib solutions with concentrations ranging from 3.81×10^{-3} to 1 000.00 nmol $\cdot$ L $^{-1}$. The activities of dirozalkib against kinases anaplastic lymphoma kinase (ALK), ALK-L1196M, and ALK-G1202R were evaluated using the Mobility Shift Assay and Radioisotope Filter Binding methods. The

inhibitory effect of dirozalkib on cell proliferation was evaluated using the CellTiter – Glo assay in multiple Ba/F3 cell lines transfected with *EML4 – ALK* fusion genes and drug – resistant mutants, at concentrations ranging from 1.53×10^{-2} to $1\,000.00\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$. Ba/F3 – *EML4 – ALK – L1196M* (crizotinib – resistant) cells were subcutaneously inoculated in NOD SCID mice. The tumor – bearing mice were randomly divided into blank group (solvent control), experimental group ($50\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ dirozalkib), control group ($50\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ crizotinib), each group consisted of 9 mice. The mice were gavage once a day, continuous administration over a 14 – day period. BALB/c nude mice were used to establish a human lung cancer tumor tissue – derived LU – 01 – 0319R (crizotinib – resistant) patient – derived tumor xenograft (PDX) model. The tumor – bearing mice were randomly divided into blank group (solvent control), experimental group ($24\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ dirozalkib), control group ($24\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ crizotinib), each group consisted of 9 mice. The mice were gavage once a day, continuous administration over a 21 – day period. Human lung cancer H228 – luc cells were intracranially inoculated in BALB/c nude mice. The tumor – bearing mice were randomly divided into blank group (solvent control), experimental group ($100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ dirozalkib), control group ($100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ crizotinib), each group consisted of 9 mice. The mice were gavage once a day, continuous administration over a 14 – day period. Assessed the anti – tumor efficacy of dirozalkib. **Results** Dirozalkib significantly inhibited the kinase activities of ALK, ALK – L1196M, and ALK – G1202R [50% inhibiting concentration (IC_{50}) $< 1.0\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$]. In cells, dirozalkib exhibited significant proliferation inhibitory activity against NCI – H3122 cells harboring *EML4 – ALK* fusion ($\text{IC}_{50} = 3.00\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$). Additionally, it demonstrated potent inhibitory activity against multiple cell lines with *EML4 – ALK* fusion and drug – resistant mutants of crizotinib and second – generation ALK inhibitors (IC_{50} : $1.92 \sim 62.85\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$). In the crizotinib – resistant Ba/F3 – *EML4 – ALK – L1196M* xenograft model, dirozalkib at a dose of $50\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ had a significant anti – tumor effect, with a relative tumor proliferation rate of 6.14% . In the LU – 01 – 0319R human lung cancer xenograft model (crizotinib – resistant PDX model), the $24\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ dirozalkib also had a significant tumor inhibitory effect, with a relative tumor proliferation rate of 13.19% . For the H228 – luc human lung cancer intracranial inoculation model, dirozalkib at $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ could significantly inhibit tumor growth [BLI value was $(569.34 \pm 153.65) \times 10^5\text{ photons} \cdot \text{s}^{-1}$] and could significantly prolong the survival time of the animals. **Conclusion** Dirozalkib effectively inhibits ALK and various resistance mutations associated with first – and second – generation ALK – TKIs, and shows significant antitumor activity in multiple tumor models, including intracranial implantation models.

Key words : dirozalkib; anaplastic lymphoma kinase inhibitor; non – small cell lung cancer; drug – resistant mutation; intracranial pharmacodynamics

中国肺癌在 2022 年的新发病例和死亡病例分别是 106.06 万和 73.33 万, 占全部恶性肿瘤的 22.0% 和 28.5%^[1], 其中, 约 80% ~ 85% 的组织学类型是非小细胞肺癌 (non – small cell lung cancer, NSCLC)^[2]。大约 60% 的晚期 NSCLC 患者存在特异性的分子变化^[3], 其中间变性淋巴瘤激酶 (anaplastic lymphoma kinase, ALK) 融合基因是 NSCLC 中重要的驱动基因变异之一, 被称作“钻石突变”, 出现 ALK 突变的患者约占 5% ~ 7%, 具有发病年龄低、脑转移发病率高等特点^[4]。根据最新专家建议, ALK 酪氨酸激酶抑制剂已是治疗 ALK 融合突变 NSCLC 的标准方案^[5]。地罗阿克是一款全新的 ALK 酪氨酸激酶抑制剂, 本文旨在对地罗阿克的体外药效 (酶学和细胞学) 和体内药效学 (肿瘤抑制模型) 进行研究。

材料与方法

1 材料

动物 SPF 级雌性 NOD. SCID 小鼠, 鼠龄 8 ~ 10 周, 平均体质量 20.4 g, 华阜康生物科技股份有限公司提供, 动物生产许可证号: SCXK (京) 2024 – 0003。SPF 级雌性 BALB/c 裸小鼠, 鼠龄 6 周, 体质量 17 ~ 23 g, 上海西普尔 – 必凯实验动物有限公司提供, 动物生产许可证号: SCXK (沪) 2018 – 0006。SPF 级雌性 BALB/c 裸小鼠, 鼠龄 7 ~ 9 周, 体质量 20 ~ 24 g, 北京安凯毅博生物技术有限公司提供, 动物生产许可证号: SCXK (京) 2023 – 0002。本实验经康龙化成 (北京) 新药技术有限公司动物伦理委员会批准 (伦理批

号:ON-CELL-XEN-06012015)。

细胞 Ba_F3_EML4-ALK-V1180L细胞,购自康源博创生物科技(北京)有限公司;Ba/F3-ALK-G1202Del、Ba/F3-ALK-I1171N、Ba/F3-ALK-I1171T、Ba/F3-ALK-I1171S、Ba/F3-ALK-G1123S、Ba/F3-ALK-T1151Tins、Ba/F3-ALK-L1152P、Ba/F3-ALK-F1174C、Ba/F3-ALK-F1175V、Ba/F3-ALK-D1203N、Ba/F3-ALK-S1206Y、Ba/F3-ALK-E1210K、Ba/F3-ALK-G1269A、Ba/F3-ALK-R1275Q、Ba/F3-ALK-L1198F细胞,均购自合肥中科普瑞昇生物医药科技有限公司;NCI-H3122、BaF3(ALK-C1156Y)、BaF3(ALK-L1196M)、BaF3(ALK-F1174L)、BaF3(ALK-WT)、Ba/F3-ALK-L1196M细胞,均购自中美冠科生物技术(太仓)有限公司;H2228-luc细胞,购自康龙化成(北京)新药技术有限公司;LU-01-0319人源肺癌肿瘤组织,购自上海药明康德新药开发有限公司。

药品与试剂 地罗阿克,纯度:97.9%,批号:20150708,克唑替尼,纯度:97.7%,批号:20130314,色瑞替尼,纯度:99.5%,批号:20140219,均由山东轩竹医药科技有限公司自制。ALK、ALK-L1196M,均由日本Carna公司生产;ALK-G1202R,美国Reaction Biology公司提供;Peptide FAM-P22,中国GL Biochem公司生产;腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP),德国Sigma公司生产;CellTiter-Glo试剂,美国Promega公司生产;吐温80,德国Sigma公司生产;羟丙基纤维素(hydroxypropyl cellulose, HPC),北京索莱宝科技有限公司生产。

仪器 SpectraMax多标记微孔板检测仪,美谷分子仪器(上海)有限公司产品;CKX41SF倒置显微镜,日本Olympus公司产品;MS205DU精密电子天平,瑞士METTLER TOLEDO公司产品。

2 实验方法

2.1 酶学实验

Radioisotope Filter Binding法^[6] 用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)将地罗阿克、克唑替尼、色瑞替尼稀释至合适浓度(实验终浓度为1 000.00、250.00、62.50、15.63、3.91、0.98、0.24、0.06、 1.53×10^{-2} 、 3.81×10^{-3} nmol·L⁻¹),配制反应缓冲液,在反应缓冲液中加入ALK、ALK-L1196M、ALK-G1202R激酶及辅助因子,随后用自动工作站(Echo 50)将化合物

及配制好的激酶加入384孔板中,加入³³P-ATP(specific activity 0.01 μCi·μL⁻¹ final)启动反应,室温孵育120 min后,检测放射性磷酸底物。

Mobility shift assay^[7] 用DMSO将地罗阿克、克唑替尼、色瑞替尼稀释至合适浓度(实验终浓度为1 000.00、250.00、62.50、15.63、3.91、0.98、0.24、0.06、 1.53×10^{-2} 、 3.81×10^{-3} nmol·L⁻¹),配制1倍激酶缓冲液及2倍终止液,将化合物及配制好的激酶加入384孔板中,室温孵育10 min,加入底物溶液反应特定时间后加入终止液,进行检测。

2.2 细胞增殖抑制实验

2.2.1 细胞培养

所有细胞均用含10% FBS的1640培养基培养。用37℃水浴锅解冻细胞,将细胞悬液转移至含有完全培养基的离心管中离心收集细胞沉淀,用完全培养基重悬后置于细胞培养瓶中,将细胞培养瓶置于37℃、5% CO₂细胞培养箱中培养。

2.2.2 细胞分组与处置方法

收集处于对数生长期的细胞,在96孔板中每孔铺入2 000个细胞,同时每孔加入1 000.00、250.00、62.50、15.63、3.91、0.98、0.24、0.06、 1.53×10^{-2} nmol·L⁻¹地罗阿克工作液5 μL,设置空白对照组(加入DMSO 5 μL),将96孔板置于细胞培养箱培养72 h后,用CellTiter-Glo试剂盒检测反映活细胞数的ATP的含量,计算出细胞的增殖情况及地罗阿克的抑制活性。

2.3 动物实验

2.3.1 模型构建

实验1 收获处于对数生长期的Ba/F3-ALK-L1196M细胞,用磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution, PBS)重悬,随后在每只NOD.SCID小鼠皮下接种 5×10^6 个细胞,建立皮下肿瘤异种移植模型。

实验2 复苏冻存的LU-01-0319R肿瘤组织,取LU-01-0319R肿瘤组织块约30 mm³皮下接种于每只小鼠的右后背,当肿瘤体积达到50~100 mm³灌胃克唑替尼,剂量10 mg·kg⁻¹;当肿瘤体积达到100~200 mm³,灌胃25 mg·kg⁻¹克唑替尼;当肿瘤体积达到200~400 mm³,灌胃50 mg·kg⁻¹克唑替尼;当肿瘤体积达到400 mm³以上,灌胃75 mg·kg⁻¹克唑替尼。建立克唑替尼耐药的人肺癌肿瘤组织来源的病人来源肿瘤异种移植(patient-derived tumor xenograft, PDX)模型。

实验3 动物麻醉后,用脑定位仪定位,并用1 mL

注射器针头钻一孔,在定位处将微量进样器垂直插入深至 3 mm,每只小鼠缓慢注入(约 1 min) H228 - luc 肿瘤细胞 $2 \times 10^5 / 2 \mu\text{L}$ 悬液并留针 1 min,拔针后迅速用骨蜡将针孔密封,并缝合伤口,建立人源肺癌颅内接种模型。

2.3.2 动物分组与处置方法

实验 1 接种后每周 2 次测量肿瘤体积,待肿瘤平均体积为 244 mm^3 时,根据肿瘤大小随机分为空白组(溶剂对照:0.5%吐温 80 + $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 2% HPC)、实验组($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 地罗阿克)和对照组($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 克唑替尼),每组 9 只,保证每组动物肿瘤平均体积基本一致。3 组小鼠每天灌胃给药 1 次,每周 2 次测量肿瘤体积,监测肿瘤生长情况,共给药 14 d。

实验 2 肿瘤平均体积达到 484 mm^3 时,根据肿瘤大小随机分为空白组(溶剂对照:0.5%吐温 80 + $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 2% HPC)、实验组($24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 地罗阿克)和对照组($24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 克唑替尼),每组 9 只,保证每组动物肿瘤平均体积基本一致。3 组小鼠每天灌胃给药 1 次,每周 2 次测量肿瘤体积,监测肿瘤生长情况,共给药 21 d。

实验 3 肿瘤接种后第 7 天,根据荧光信号强弱随机分为空白组(溶剂对照:0.5%吐温 80 + $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 2% HPC)、实验组($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 地罗阿克)和对照组($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 克唑替尼),每组 9 只,保证每组动物平均信号强度基本一致。3 组小鼠每天灌胃给药 1 次,每 2 周测量 3 次荧光信号,监测肿瘤生长情况,共给药 14 d。

3 统计学处理

用 SPSS 17.0 进行统计分析。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 地罗阿克对 EML4 - ALK 融合基因及耐药突变型激酶的活性抑制

地罗阿克对 ALK、ALK - L1196M、ALK - G1202R 激酶活性均有明显抑制,具体结果数据见表 1。

2 地罗阿克对 EML4 - ALK 融合基因及耐药突变型细胞增殖的抑制

在 EML4 - ALK 融合基因及转染耐药突变型的 Ba/F3 细胞进行化合物的增殖抑制实验,结果显示,地罗阿克对 EML4 - ALK 融合的细胞株(NCI - H3122)有很强的抑制活性,对克唑替尼及第 2 代 ALK - TKI 耐药突变株(L1196M、F1174C、V1180L、I1171N/T/S、G1123S、T1151Tins、L1152P、F1175V、D1203N、S1206Y、E1210K、G1269A、R1275Q、L1198F、C1156Y、F1174L 和 G1202Del 等)也表现出良好的抑制活性(IC_{50} : $1.92 \sim 62.85 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。结果见表 2。

表 1 地罗阿克的体外酶学评价结果[半数抑制浓度(IC_{50}), $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$]

Table 1 Results of *in vivo* enzyme assay of dirozalkib [50% inhibiting concentration(IC_{50}), $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$]

Compound	ALK	ALK - L1196M	ALK - G1202R
Dirozalkib	0.21	0.29	0.92
Ceritinib	0.83	1.60	8.92
Crizotinib	5.10	16.00	-

ALK: Anaplastic lymphoma kinase; -: No data.

表 2 地罗阿克对不同的耐药突变型细胞增殖的抑制(IC_{50} , $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Table 2 The inhibitory effects of dirozalkib on the proliferation of various drug - resistant mutant cell (IC_{50} , $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Cell line	IC_{50} ($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Cell line	IC_{50} ($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
Ba_F3_EML4 - ALK - V1180L	5.00	Ba/F3 - EML4 - ALK - S1206Y	2.10
Ba/F3 - EML4 - ALK - G1202Del	20.18	Ba/F3 - EML4 - ALK - E1210K	4.50
Ba/F3 - EML4 - ALK - I1171N	7.47	Ba/F3 - EML4 - ALK - G1269A	4.00
Ba/F3 - EML4 - ALK - I1171T	6.57	Ba/F3 - EML4 - ALK - R1275Q	1.92
Ba/F3 - EML4 - ALK - I1171S	6.86	Ba/F3 - EML4 - ALK - L1198F	3.80
Ba/F3 - EML4 - ALK - G1123S	62.85	NCI - H3122	3.00
Ba/F3 - EML4 - ALK - T1151Tins	16.12	BaF3 (ALK - C1156Y)	13.62
Ba/F3 - EML4 - ALK - L1152P	10.16	BaF3 (ALK - L1196M)	4.79
Ba/F3 - EML4 - ALK - F1174C	10.79	BaF3 (ALK - F1174L)	15.17
Ba/F3 - EML4 - ALK - F1175V	10.99	BaF3 (ALK - WT)	5.67
Ba/F3 - EML4 - ALK - D1203N	8.29		

3 地罗阿克对克唑替尼耐药人源异种移植肿瘤的抑制作用

在 Ba/F3 – EML4 – ALK – L1196M(克唑替尼耐药)异种移植模型中,实验组与空白组比较,50 mg · kg⁻¹地罗阿克有显著的抗肿瘤作用,相对肿瘤增殖率为 6.14% ($P < 0.001$),见表 3。

在 LU – 01 – 0319R 人源肺癌异种移植模型(克唑替尼耐药 PDX 模型)中,实验组与空白组比较,24 mg · kg⁻¹地罗阿克有显著的抗肿瘤作用,相对肿瘤增殖率为 13.19% ($P < 0.001$),见表 4。

表 3 地罗阿克对 Ba/F3 – EML4 – ALK – L1196M 异种移植模型的抑瘤作用

Table 3 Tumor growth inhibition of diroalkib on EML4 – ALK – L1196M xenograft model

Group	Dose (mg · kg ⁻¹)	n	Tumor volume after 14 days treatment (mm ³ , $\bar{x} \pm s$)	T/C (%)
Blank	–	9	2 834.44 ± 620.93	–
Experimental	50	9	174.06 ± 113.62 ***	6.14
Control	50	9	2 106.21 ± 308.89	74.31

T/C: Relative tumor proliferation rate; Compared with blank group, *** $P < 0.001$.

表 4 地罗阿克对病人来源肿瘤异种移植(PDX)模型 LU – 01 – 0319R 的抑瘤作用

Table 4 Tumor growth inhibition of diroalkib on LU – 01 – 0319R patient – derived tumor xenograft (PDX) model

Group	Dose (mg · kg ⁻¹)	n	Tumor volume after 21 days treatment (mm ³ , $\bar{x} \pm s$)	T/C (%)
Blank	–	9	1 555.86 ± 67.37	–
Experimental	24	9	205.25 ± 53.74 ***	13.19
Control	24	9	1 273.72 ± 182.06	81.87

Compared with blank group, *** $P < 0.001$.

表 5 地罗阿克对 H228 – luc 人源肺癌颅内接种模型的药效作用

Table 5 The pharmacological effect of diroalkib on H228 – luc intracranial inoculation model

Group	Dose (mg · kg ⁻¹)	n	BLI (10 ⁵ photons · s ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	Median survival time(d)
Blank	–	9	3 085.75 ± 343.37	25
Experimental	100	9	569.34 ± 153.65 **	31 ***
Control	100	9	2 132.99 ± 442.61	25

Compared with blank group, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

4 地罗阿克对人源细胞系颅内接种肿瘤模型的抑制

在 H228 – luc 人源肺癌颅内接种模型中,实验组与空白组比较,100 mg · kg⁻¹地罗阿克能够显著抑制肿瘤生长($P < 0.001$),且能够显著延长动物的存活时间($P < 0.001$),见表 5。

讨 论

目前已有多款 ALK – TKI 获得上市批准,临床指南^[8]明确了 ALK 融合基因阳性晚期 NSCLC 的一线和二线治疗推荐药物,包括克唑替尼、塞瑞替尼、阿来替尼和布格替尼等,但患者在用药过程中会出现耐药以及药物对脑转移治疗效果差等难题。ALK – TKI 的耐药机制多样^[9],其中激酶结构域的二次基因突变是耐药的主要原因之一^[10],不同 ALK – TKI 诱发的二次突变区不甚相同,以克唑替尼为代表的一代 ALK – TKI 耐药位点主要是 ATP 结合位点的氨基酸突变,包括亮氨酸残基 L1196 突变为蛋氨酸(Met)的 L1196M“守门员”突变以及甘氨酸残基突变为位阻更大的缬氨酸的 G1269A 突变等^[11];以塞瑞替尼为代表的二代 ALK – TKI 的耐药突变主要发生在溶剂前沿区和 αC 螺旋的碳末端区,如 G1202R、F1174C 突变等^[12–13]。经过改构得到的地罗阿克能够与靶点的疏水口袋更紧密契合,亲和力更强。与文献报道的其他 ALK – TKI 相比^[14–15],地罗阿克不仅对 ALK 融合的细胞株有很强的抑制活性,对克唑替尼及其他二代 ALK – TKI 常见的耐药突变株(L1196M, F1174C, V1180L, I1171N/T/S, G1202R 和 G1202del 等)也均表现出较强的抑制活性,提示其可作为其他 ALK – TKI 耐药后的治疗选择之一。在体内药效试验中,地罗阿克能够显著抑制克唑替尼耐药的 NSCLC 模型肿瘤的生长(TGI = 94%, $P < 0.001$),对肺癌患者来源的肿瘤模型也有很好的抑制作用(TGI = 87%, $P < 0.001$),提示肺癌患者用地罗阿克可能会有获益。

肺癌的脑转移远高于其他肿瘤^[16],ALK 融合基因阳性的晚期 NSCLC 患者中,脑转移的现象更为常见,有统计数据表明 ALK 阳性患者从确诊到脑转移的中位时间仅为 88 d^[17],所以在选择抗肿瘤治疗的药物时,需要兼顾药物穿透血脑屏障的能力及颅内抗肿瘤的效力。人源肺癌颅内接种模型的体内药效学试验数据表明地罗阿克对颅内肿瘤具有良好的抑制作用,预期可为 ALK 重排患者,尤其是脑转移患者带来更优的治疗效果。

一项针对携带 ALK 或 ROS1 重排的晚期 NSCLC

患者的多中心、开放、首次人体临床试验 (NCT05055232) 中, 地罗阿克片对于 ALK 重排 (≥ 200 mg, 每天 1 次) 且未接受过 ALK-TKI 治疗的患者, 客观缓解率为 80.9%。其中, 在 500 mg 每日 1 次的剂量下, 客观缓解率为 86.2%。一项多中心、随机、开放、平行对照的 III 期临床研究 (NCT05204628), 旨在比较地罗阿克片与克唑替尼胶囊治疗 ALK 阳性晚期 NSCLC 患者的有效性和安全性, 共入组 275 例受试者, 按 1:1 随机分配至试验组 (137 例) 和对照组 (138 例)。截至 2024-01-08, 试验组和对照组分别发生了 35 个 (25.5%) 和 67 个 (48.6%) 无进展生存期事件, PFS 分别为未达到和 12.94 个月 (95% 置信区间为 11.070 ~ 16.490), 18 个月无进展生存期率分别为 64.05% 和 34.68% ($P < 0.0001$), 风险比为 0.422 (95% 置信区间为 0.279 ~ 0.638), 表明地罗阿克片相比克唑替尼胶囊可以降低 57.8% 的疾病进展或死亡的风险。

地罗阿克针对一线治疗晚期非小细胞肺癌患者的上市申请已提交国家药品监督管理局, 针对克唑替尼治疗后疾病进展或不耐受的患者, 或用其他 ALK 抑制药治疗后疾病进展或不耐受的患者, 地罗阿克已开展 II 期临床试验探索, 旨在对以上患者的临床疗效和安全性作出评估。期待地罗阿克获得良好的临床疗效和安全性, 为 ALK 阳性晚期 NSCLC 患者以及伴有脑转移的肺癌人群提供一种新治疗选择。

参考文献:

- [1] 郑荣寿, 陈茹, 韩冰峰, 等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2024, 46(3): 221—231.
- [2] 国家卫生健康委办公厅. 原发性肺癌诊疗指南 (2022 年版) [J]. 协和医学杂志, 2022, 13(4): 549—570.
- [3] ALDUAIS Y, ZHANG H, FAN F, *et al.* Non-small cell lung cancer (NSCLC): A review of risk factors, diagnosis, and treatment [J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2023, 102(8): e32899. 2023-02-22 [2024-10-18]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36827002/>.
- [4] YANG C Y, YANG J C, YANG P C. Precision management of advanced non small cell lung cancer [J/OL]. *Annu Rev Med*, 2020, 71: 117—136. 2020-01-27 [2024-10-18]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31986082/>.
- [5] WANG YR, MA H C. Protein kinase profiling assays: A technology review [J/OL]. *Drug Discov Today Technol*, 2015, 18: 1—8. 2015-10-31 [2024-10-18]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26723886/>.
- [6] DONALD C R. Electrophoretic mobility shift assays for RNA-protein complexes [J]. *Cold Spring Harb Protoc*, 2014, 2014(4): 435—440.
- [7] 中国医师协会肿瘤医师分会, 中国医疗保健国际交流促进会肿瘤内科学分会. 间变性淋巴瘤激酶酪氨酸激酶抑制剂治疗晚期非小细胞肺癌中国专家建议 (2024 版) [J]. 中华医学杂志, 2024, 104(7): 473—485.
- [8] 中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会 (CSCO) 非小细胞肺癌诊疗指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2024: 7—9.
- [9] KONG X, PAN P, SUN H, *et al.* Drug discovery targeting anaplastic lymphoma kinase (ALK) [J]. *J Med Chem*, 2019, 6(24): 10927—10954.
- [10] LIN J J, RIELY G J, SHAW A T. Targeting ALK: precision medicine takes on drug resistance [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(2): 137—155.
- [11] DOEBELE R C, PILLING A B, AISNER D L, *et al.* Mechanisms of resistance to crizotinib in patients with ALK gene rearranged non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(5): 1472—1482.
- [12] GAINOR J, DARDAE L, YODA S, *et al.* Molecular mechanisms of resistance to first- and second-generation ALK inhibitors in ALK-rearranged lung cancer [J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(10): 1118—1133.
- [13] OU S H I, AZADA M, HSIANG D J, *et al.* Next-generation sequencing reveals a novel NSCLC ALK F1174V mutation and confirms ALK G1202R mutation confers high-level resistance to alectinib (CH5424802/RO5424802) in ALK-rearranged NSCLC patients who progressed on crizotinib [J]. *J Thorac Oncol*, 2014, 9(4): 549—553.
- [14] GAINOR J F, DARDAE L, YODA S, *et al.* Molecular mechanisms of resistance to first- and second-generation ALK inhibitors in ALK-rearranged lung cancer [J]. *Cancer Discov*. 2016, 6(10): 1118—1133.
- [15] SHI Y, FANG J, HAO X, *et al.* Safety and activity of WX-0593 (Iruplinakib) in patients with ALK- or ROS1-rearranged advanced non-small cell lung cancer: A phase 1 dose-escalation and dose-expansion trial [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 25.
- [16] BARNHOLTZ-SLOAN J S, SLOAN A E, DAVIS F G, *et al.* Incidence proportions of brain metastases in patients diagnosed (1973 to 2001) in the metropolitan detroit cancer surveillance system [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(14): 2865—2872.
- [17] GUERIN A, SASANE M, ZHANG J, *et al.* Brain metastases in patients with ALK+ non-small cell lung cancer: Clinical symptoms, treatment patterns and economic burden [J]. *J Med Econ*, 2015, 18(4): 312—322.

(收稿日期 2024-12-10)