

## Bruton 酪氨酸激酶 BTK 及其抑制剂的研究进展

黄菲<sup>1</sup>, 朱海静<sup>2</sup>, 周湘<sup>1</sup>, 陆涛<sup>1</sup>, 焦宇<sup>1</sup>, 唐伟方<sup>1\*</sup>( <sup>1</sup>中国药科大学有机化学教研室, 南京 211198; <sup>2</sup>解放军第二炮兵总医院, 北京 100088)

**摘要** Bruton 酪氨酸激酶(BTK)是 B 细胞抗原受体(BCR)信号转导通路中的关键激酶, 目前已成为治疗血液恶性肿瘤和自身免疫失调疾病的热门靶标。BTK 有多个抑制剂已进入临床研究, 表现出较好的开发前景, 其代表性药物依鲁替尼(ibrutinib)在临床试验中对于套细胞淋巴瘤和慢性淋巴细胞白血病显示出突出的治疗活性, 已被批准上市。本文对 BTK 的结构功能以及在研的 BTK 抑制剂临床研究进展进行了综述。

**关键词** Bruton 酪氨酸激酶; 小分子抑制剂; 依鲁替尼; 恶性肿瘤

**中图分类号** R914 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2014)06-0617-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20140602

## Progress of Bruton's tyrosine kinase(BTK) and its inhibitors

HUANG Fei<sup>1</sup>, ZHU Haijing<sup>2</sup>, ZHOU Xiang<sup>1</sup>, LU Tao<sup>1</sup>, JIAO Yu<sup>1</sup>, TANG Weifang<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Division of Organic Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198;<sup>2</sup>The Second Artillery General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100088, China

**Abstract** Bruton's tyrosine kinase (BTK), a crucial terminal kinase enzyme in the B-cell antigen receptor (BCR) signaling pathway, has emerged as an attractive target for therapeutic intervention in human malignancies and autoimmune disorders. A number of BTK inhibitors have progressed through advanced preclinical development to clinical trials. Among them, ibrutinib (PCI-32765, brand name: Imbruvica) demonstrated high clinical activity in B-cell malignancies, especially in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL), mantle cell lymphoma (MCL), and was recently approved by the U. S. Food and Drug Administration. In this paper, the structure and function of BTK are reviewed; preclinical and clinical development of ibrutinib and other novel BTK inhibitors are summarized.

**Key words** Bruton's tyrosine kinase (BTK); small molecular inhibitor; ibrutinib; malignancy

This study was supported by the National Natural Science Foundation for Youth (No. 81102318/H3001) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. JKPZ2013002)

免疫细胞通常可以分为 T 细胞与 B 细胞两类, 其中 B 细胞的主要职能是分泌各种抗体帮助人体抵御各种外来的侵入。Bruton 酪氨酸激酶(BTK)主要在 B 细胞中表达, 分布于淋巴系统、造血及血液系统。近年来有关 B 细胞特别是针对 B 细胞非霍奇金性淋巴瘤和类风湿关节炎的研究发现, BTK 往往会出现异常表达。

BTK 是 B 细胞抗原受体(BCR)信号通路中的关键激酶, 能够调节正常 B 细胞的成熟、分化, 也与

多种 B 细胞淋巴组织失调疾病密切相关。依鲁替尼(ibrutinib)是当前最引人注目的 BTK 靶向抑制剂, 在临床前和临床研究中对多种 B 细胞肿瘤以及自身免疫疾病均有显著的治疗效果。本文综述了 BTK 信号转导通路及其 BTK 抑制剂的临床研究进展。

## 1 BTK 的结构

BTK 也叫 ATK (agammaglobulinemia tyrosine kinase) 或 BPK (B cell progenitor kinase), 是非受体

蛋白酪氨酸激酶 Tec 家族的成员。Tec 家族是人类非受体激酶中仅次于 Src 家族的第 2 大家族,其主要成员包括 BTK、BMX (etk)、ITK、TEC 和 TXK (RLK)。BTK 在 1993 年被确定为人 X-连锁无丙种球蛋白血症(X-linked agammaglobulinemia,XLA)中的缺陷蛋白<sup>[1-2]</sup>。这种蛋白在 B 细胞各个发展阶段均有表达(除了最终分化的浆细胞),此外在骨髓细胞和红系祖细胞中也有少量表达<sup>[3]</sup>。

BTK 结构中包含 5 个主要结构域,分别是 PH 结构域(Pleckstrin homology),TH 结构域(Tec homology),SH3 结构域(Src homology 3),SH2 结构域(Src homology 2)和 SH1 结构域(Src homology 1)<sup>[4]</sup>(图 1)。其中 PH 结构域包含转录因子 BAP-

135/TFII-I 以及活性下调因子 PIN1、IBTK 的结合位点<sup>[5-6]</sup>,同时也负责介导 BTK 与第 2 信使磷脂酰肌醇三磷酸(PIP3)的作用<sup>[7]</sup>。TH 结构域与 PH 结构域相邻,由 80 个氨基酸残基构成。TH 结构域包括 BTK 基序(Zn 辅因子结合位点)、PKC-β 结合位点以及富脯氨酸基序的保守区<sup>[8-9]</sup>。SH1 结构域包含活化环、ATP 结合位点、催化器以及变构抑制片段<sup>[10]</sup>。BTK 的活化(磷酸化)最初发生在 SH1 结构域中的活化环中,进一步的活化发生在包含主要自磷酸化位点的 SH2 及 SH3 结构域中<sup>[11-12]</sup>。这些 SH 结构域也包含 BTK 进行核质穿梭所需要的核定位信号(NLS)及核输出序列(NES)<sup>[13]</sup>。

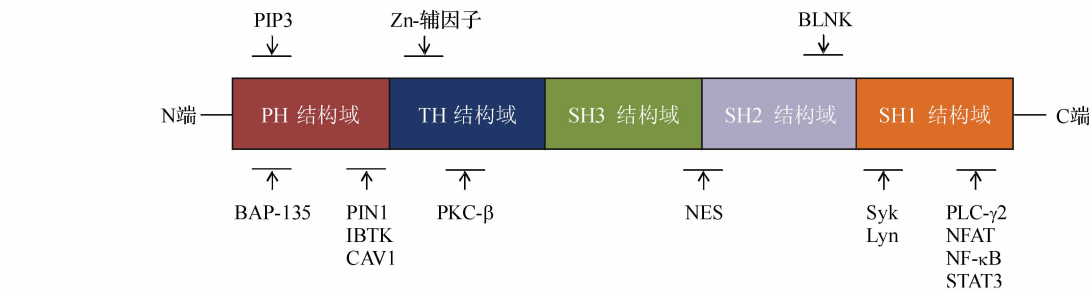


图 1 BTK 酶的结构

BTK 下游有多个受体,包括生长因子、B 细胞抗原、趋化因子及非特异免疫受体等。因此 BTK 的活化能引发多种细胞过程,如细胞增殖、存活、分化、血管新生、细胞因子合成及抗原递呈等<sup>[14-17]</sup>。BTK 活化过程复杂,这个过程中的重要步骤是 BTK 迁移到细胞膜(图 2)。细胞膜上的一些受体接收到相应配体的刺激被激活,活化的受体会募集并磷酸化胞内的信号转导激酶 PI3K,磷酸化的 PI3K 接着将膜上的 PIP2 转化为第 2 信使 PIP3<sup>[7]</sup>。PIP3 结合到 BTK 的 PH 结构域,BTK 随后会被募集至细胞膜,随后 BTK Tyr-551 残基被 Syk 和 Lyn 激酶磷酸化<sup>[18]</sup>。BTK 接着在 Tyr-223 残基进行自磷酸化反应从而具备生理活性<sup>[12]</sup>。

活化的 BTK 能通过其 SH2 结构域与衔接蛋白 BLNK/SLP65 结合,生成的复合物随后活化磷脂酶 C-γ2(PLC-γ2)<sup>[19]</sup>,进而引发级联反应最终导致胞内持续的钙离子内流,并间接激活下游信号通路,如 MEK/ERK、p38 MAPK、NK/SAPK 通路<sup>[14-15,20-22]</sup>。BTK 其他一些下游底物包括转录因子 BAP-135/TFII-I、NFκB、ARID3A、STAT3 及

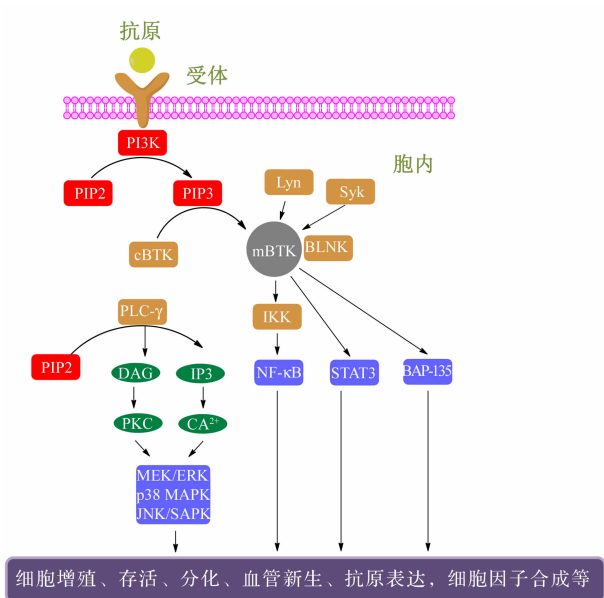


图 2 BTK 活化过程

NFAT,因此 BTK 在直接转录调节及基因表达中也发挥关键作用<sup>[16,18,21,23]</sup>。在某些生理条件下,BTK 还能转移到细胞核激活一些特定基因的转录<sup>[13]</sup>。

研究表明,BTK 在 B 淋巴细胞的生成过程中

起着不可替代的作用。BTK 可以通过激活细胞周期正向调控因子和分化因子来控制 B 细胞的发育、分化<sup>[4,15]</sup>,也能通过调节促凋亡和抗凋亡蛋白的表达来控制 B 细胞的存活和增殖<sup>[24-26]</sup>。BTK 的持续激活是慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 发展的一个先决条件<sup>[27]</sup>,BCR-BTK 信号传递异常会促进弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 中活化 B 细胞亚型的存活<sup>[28]</sup>。BTK 功能获得型突变也已在结肠癌<sup>[29]</sup>、急性淋巴细胞白血病 (ALL)<sup>[30]</sup>、慢性粒细胞白血病 (CML)<sup>[31]</sup> 中得到确证。因此,BTK 依赖

型通路的异常激活被证明与多种肿瘤的发生发展密切相关。

2 BTK 小分子抑制剂

BTK 小分子抑制剂对于治疗血液恶性肿瘤和自身免疫失调疾病具有良好前景<sup>[32-34]</sup>。Ibrutinib 已被美国 FDA 批准上市,用于治疗套细胞淋巴瘤 (MCL) 和 CLL。其他多个化合物,如,GDC-0834, HM-71224、CC-292 和 ONO-4059,也已进入临床研究阶段或者临床后期研究阶段(表 1)。

表 1 已上市和在研 BTK 小分子抑制剂

| BTK 抑制剂   | IC <sub>50</sub> /(nmol/L) | 研究状态    | 适应症                     | 研发公司                                 |
|-----------|----------------------------|---------|-------------------------|--------------------------------------|
| Ibrutinib | 0.5                        | 已上市     | CLL、MCL、WM、ABC-DLBCL、MM | Pharmacyclies 和 Johnson & Johnson 公司 |
| GDC-0834  | 5.9                        | 临床 I 期  | 风湿性关节炎                  | Genentech 和 CGI Pharmaceuticals 公司   |
| RN-486    | 4.0                        | 临床 II 期 | 风湿性关节炎                  | 罗氏公司                                 |
| ONO-4059  | 2.2                        | 临床 I 期  | CLL                     | Ono 公司                               |
| CGI-1476  | 1.9                        | 临床前     | 风湿性关节炎                  | 吉列德公司                                |
| CC-292    | 0.5                        | 临床 I 期  | CLL/B 细胞非霍奇金淋巴瘤         | Celgene 公司                           |
| LFM-A13   | 17 200                     | 临床前     | B 细胞非霍奇金淋巴瘤             | Parker Hughes Institute 公司           |

2.1 已上市药物

2.1.1 Ibrutinib (依鲁替尼,曾用代号:PCI-32765,商品名:Imbruvica) Ibrutinib 是 Pharmacyclies 公司和 Johnson & Johnson 公司开发的小分子 BTK 抑制剂(图 3),于 2013 年 11 月和 2014 年 2 月被美国 FDA 批准上市用于治疗 MCL 和 CLL。

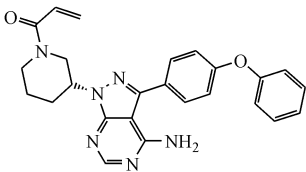


图 3 Ibrutinib 的化学结构

2.1.2 Ibrutinib 的临床前研究 Ibrutinib 是一种高效的口服 BTK 抑制剂,其对 BTK 的 IC<sub>50</sub> 达到 0.5 nmol/L<sup>[35]</sup>。它能选择性与 BTK Cys-481 残基共价结合,不可逆地抑制酶的活性<sup>[36]</sup>。此外,它还能通过抑制 BTK Tyr-223 的自磷酸化来阻止 BTK 的完全激活<sup>[35]</sup>。体外研究结果显示 Ibrutinib 能够激活 caspase-3 依赖型凋亡通路,并对 CLL 肿瘤细胞系产生剂量依赖型和时间依赖型的细胞毒性<sup>[37]</sup>。Ibrutinib 也能抑制 DNA 复制<sup>[38]</sup> 以及 TLR 信号介导的增殖<sup>[37]</sup>。Ibrutinib 还能通过下调趋化因子 CCL3 和 CCL4 的表达来阻断 CLL 细胞中的促存活通路<sup>[38]</sup>。Ibrutinib 干扰包括 Ph + /BCR-ABL1 阳性细

胞在内的 B-ALL 细胞系的增殖和存活<sup>[39]</sup>。在 CLL 移植瘤小鼠模型中,Ibrutinib 每天给药 25 mg/kg 能延缓病情发展<sup>[38]</sup>。此外,Honigberg 课题组用 MRL-Fas(lpr)狼疮小鼠模型证实 Ibrutinib 引起的 BTK 抑制能够抑制自身抗体的产生及肾病的发展<sup>[35]</sup>。

2.1.3 Ibrutinib 的临床试验 在 I 期临床剂量递增研究中,对 56 名复发型及顽固型滤泡性淋巴瘤, CLL, MCL, MZL, DLBCL 及 WM 治疗失败的患者采用间歇型和持续型两种不同的给药方案<sup>[40]</sup>。间歇给药方案为每天分别给药 1.25, 2.5, 5, 8.3 及 12.5 mg/kg,连续给药 28 d 后,停药 7 d(35 d 一个周期)。持续型给药方案为每天给药 8.3 mg/kg 或 560 mg 直到病情恶化或出现严重毒性反应。56 名患者接受了平均为 5 个周期的给药,仅出现两例剂量限制性毒性反应(DLTs),说明 Ibrutinib 具有很好的安全性和耐受性。其中常见不良反应包括皮疹、恶心、疲倦、腹泻、肌肉和关节痛。此外少数患者会出现中性粒细胞减少、血小板减少及贫血。CLL 患者中,Ibrutinib 常见副作用为淋巴结肿大和淋巴球增多。总体客观缓解率达到 60%,其中对 MCL 和 CLL 效果较好,客观缓解率分别达到 78% 和 79%。药物对肿瘤的缓解作用最少能持续 10 个月,中位无进展生存期达到 13.6 个月<sup>[40]</sup>。

在 I 期临床实验中,间歇给药与持续给药两种

给药方案表现出类似的药效作用和不良反应,但由于间歇给药有可能产生相反的药理作用,所以在Ⅱ期临床实验中选择采取持续给药方案。

随后,Wang等<sup>[41]</sup>在111名预先接受过治疗的复发型及顽固型患者中进行了Ibrutinib单一用药研究。患者每天口服560 mg,28 d为一个疗程,持续给药直到出现病情恶化或是严重的毒性反应。平均15.3月后客观缓解率达到68%(21%完全缓解,47%部分缓解),中位缓解期达到17.5个月,中位无进展生存期为13.9个月。基于Ibrutinib在此实验中体现出的显著疗效。2013年2月Ibrutinib被FDA认定为“突破性治疗药物”并被快速批准上市,作为单一药物治疗。

Ibrutinib在Ⅰ期临床实验中对CLL表现出良好的治疗效果,这推动了其治疗CLL的Ⅰb/Ⅱ期临床试验。Byrd等<sup>[42]</sup>使用Ibrutinib对85名复发/顽固型CLL/SLL用Ibrutinib进行治疗,每天口服420 mg或者840 mg直到疾病恶化或出现严重毒性。结果说明Ibrutinib具有较好的耐受性,主要不良反应为1~2级的腹泻、疲倦、上呼吸道感染。高剂量组(840 mg)的停药比例比低剂量组(420 mg)要高(12% vs 4%)。两组客观缓解率均为71%,给药7 d后,会出现再分布淋巴细胞增多伴随淋巴结减少的症状。这个症状通常在第4周达到峰值,之后缓慢下降。两组的中位无进展生存期均为26个月,总缓解率分别为75%和83%。在这次实验中,有31名超过65岁的CLL初诊患者(之前未接受其他治疗),平均给药16.6个月后,这些患者的总缓解率达到71%(完全缓解率10%),这说明Ibrutinib可以作为老年CLL患者的初诊治疗药物<sup>[43-44]</sup>。

Fowler等<sup>[45]</sup>报道了Ibrutinib复发型及顽固型滤泡性淋巴瘤也具有良好的活性和耐受性,客观缓解率达到55%(完全缓解率),中位无进展生存期为13.4个月,常见相关副作用为口干、便秘及腹泻。

Wilson等<sup>[46]</sup>使用Ibrutinib治70名原发型及顽固型DLBCL患者,每天口服560 mg直到病情恶化或者出现严重毒性。结果显示在活化B细胞(ABC)亚型中的客观缓解率(41%)要明显高于生发中心(GCB)亚型(5%)。中位总缓解期在ABC亚型中达到9.7个月,而在GCB亚型中为3.35个月。

2.1.4 Ibrutinib与其他药物联用的临床研究 Vij等<sup>[47]</sup>将Ibrutinib与ACY1215(一种选择性HDAC6

抑制剂)联用,能将凋亡诱导作用提高3倍,产生抗肿瘤协同作用。Sahakian等<sup>[48]</sup>将Ibrutinib、利妥昔单抗联合用药能将CLL患者的客观缓解率提高至85%。Burger在Ibrutinib联用利妥昔单抗的基础上再加入苯达莫司汀,CLL患者的客观缓解率进一步提高至93%<sup>[49]</sup>。Blum课题组<sup>[50]</sup>将Ibrutinib与利妥昔单抗、苯达莫司汀联用治疗也取得了很好的效果。目前Ibrutinib、苯达莫司汀、利妥昔单抗三药联用治疗新诊CLL正在进行Ⅲ期临床实验,此外Ibrutinib与奥法木单抗联用治疗复发型及顽固型CLL也在进行Ⅰb/Ⅱ期临床试验<sup>[51]</sup>。从目前的数据看,Ibrutinib是治疗CLL最有效的药物之一。

## 2.2 在研BTK抑制剂

2.2.1 GDC-0834 GDC-0834(图4)是一种高选择性的BTK可逆抑制剂,其对BTK的 $IC_{50}$ 达到5.9 nmol/L。这个化合物对抑制BCR或CD40依赖型B细胞的活化增殖有良好活性。此外还能在单核细胞中有效抑制免疫复合物介导的炎症细胞因子合成。GDC-0834目前被作为风湿性关节炎的潜在治疗药物开发<sup>[52]</sup>。在胶原诱导性关节炎(胶原诱导性关节炎)大鼠模型中,使用GDC-0834口服给药30~100 mg/kg,可以观察到踝关节肿胀的剂量依赖型缓解,证实其对治疗关节炎有明显效果<sup>[52]</sup>。GDC-0834的Ⅰ期临床药代动力学实验结果表明,GDC-0834主要在肝中代谢,通过其酰胺键的水解转化成非活性的代谢产物<sup>[53]</sup>。目前GDC-0834正在进行进一步临床实验,主要测试其在关节炎患者体内的安全性和耐受性。

2.2.2 RN-486 RN-486(图4)是一种BTK可逆抑制剂,其在酶活性测试中显示出较高的活性( $IC_{50}=4$  nmol/L)及特异性。RN-486在B细胞中能以剂量依赖型的方式阻断BCR介导的CD69的表达。临床前研究显示RN-486在单核细胞中可以有效抑制FcR介导的TNF- $\alpha$ 的产生并能取消FcR介导的肥大细胞脱颗粒<sup>[54]</sup>。

在体内抗风湿活性研究中,RN-486能抑制风湿性关节炎小鼠关节翳的形成,减少软骨损伤,降低骨吸收显示出良好的抗炎和缓解疾病的作用<sup>[54]</sup>。在大鼠模型中,RN-486还能缓解Ⅰ型和Ⅲ型过敏反应。RN-486抑制IgG anti-dsDNA的分泌,阻断因BCR交联引起的CD69的表达,有效缓解系统性红斑狼疮(SLE)中常见的肾小球肾炎<sup>[55]</sup>。

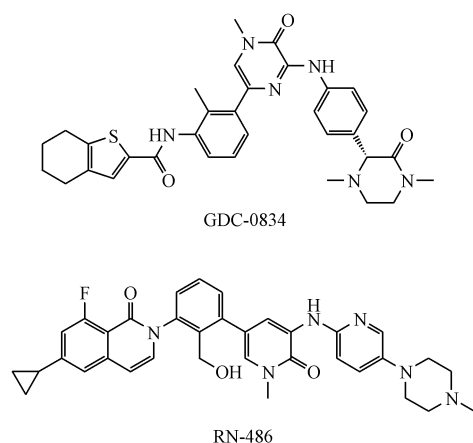


图4 GDC-0834 和 RN-486 的化学结构

**2.2.3 ONO-4059** ONO-4059 是一种口服有效的高选择性 BTK 抑制剂,其 BTK 抑制活性  $IC_{50}$  为 2.2 nmol/L。ONO-4059 能与 BTK 共价结合,阻断 BCR 信号转导,抑制 B 细胞的增殖和活化。ONO-4059 能抑制炎症趋化因子和细胞因子(如 IL-6, IL-8,  $TNF\alpha$ ),缓解骨损伤和软骨损伤以及抑制关节翳的形成,因此对胶原诱导性关节炎和风湿性关节炎具有治疗作用<sup>[56]</sup>。目前,ONO-4059 已经进入 I 期临床,用于治疗复发型及顽固型 CLL/NHL。

**2.2.4 CGI-1746** CGI-1746(图5)是一个 ATP 竞争性小分子 BTK 抑制剂,CGI-1746 对 BTK 的自磷酸化和反式磷酸化均能有效抑制。它能结合并占据非活化 BTK 激酶中 SH3 结构域的结合口袋并将酶维持在非活性构象状态<sup>[57]</sup>。在细胞实验中,这个化合物能够阻断 BCR-介导的 B 细胞增殖并抑制巨噬细胞中  $Fc\gamma RIII$  介导的  $TNF\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IL-6 的产生。在体内试验中,CGI-1746 明显降低受试小鼠关节中细胞因子水平及自身免疫抗体水平,展示出较强的抗关节炎作用<sup>[57]</sup>。

**2.2.5 CC-292** CC-292(图5)是一种丙烯酰胺类 BTK 抑制剂。CC-292 口服有效,能通过共价结合抑制 BTK 的自磷酸化从而抑制 BTK 的活性( $IC_{50} < 0.5$  nmol/L)<sup>[58]</sup>。在对多发性骨髓移植瘤小鼠

模型中,使用 CC-292 每周给药 5 次,给药 6 周后,能显著降低肿瘤负荷<sup>[59]</sup>。在胶原诱导性关节炎小鼠模型中,将 CC-292 给药量设定在 3, 10, 30 mg/kg,实验结果显示:CC-292 能够剂量依赖性的缓解关节的红肿,抑制关节翳的形成。在药代动力学研究中,健康受试者以 2 mg/kg 给药,化合物能被迅速吸收,20 ~ 30 min 内达到血浆峰浓度,平均终末消除半衰期为 1.9 h。在同一个实验中,通过分析 BTK 的活性发现,CC-292 血药浓度降到检测线以下后,药物仍然可以持续作用<sup>[58]</sup>。CC-292 随后在 86 名复发型及顽固型 CLL 和 B-NHL 患者中进行了给药剂量实验,确定最佳给药剂量为 125 ~ 1 000 mg/d,在这个范围内具有较好的耐受性<sup>[60]</sup>。常见的不良反应为腹泻、疲劳、头痛和肌肉痉挛。3 种剂量限制性毒性反应为血小板减少、肺炎和精神状态改变。

CC-292 是一种可能治疗多种 B 细胞增殖失调症的潜在药物,其正在进行的临床实验备受期待。

**2.2.6 LFM-A13** LFM-A13(图5)是一种全新的 BTK/PLK 双重抑制剂,对白血病、淋巴瘤及乳腺癌等肿瘤细胞具有抗增殖、促凋亡和化学增敏作用<sup>[61]</sup>。LFM-A13 是来氟米特(leflunomide)的代谢物,能优先结合 BTK 激酶区的催化位点而具有良好的酶抑制活性( $IC_{50} = 17.2$   $\mu$ mol/L)<sup>[62]</sup>。这个化合物对 BTK 具有高度的选择性,能够以剂量依赖性方式特异性抑制鸡淋巴瘤 B18.2 细胞和人 NALM-6 白血病前 B 细胞中 BTK 的活性。在细胞实验中 LFM-A13 还能增强神经酰胺和长春新碱对人 Ph + ALL-1 和 NALM-6 前 B-ALL 细胞系诱导凋亡的作用<sup>[62]</sup>。当给药剂量为 10 ~ 80 mg/kg,LFM-A13 没有对白血病小鼠移植瘤模型体现毒性<sup>[61]</sup>。LFM-A13 能下调骨髓瘤细胞中的 BTK 信号。临床前数据显示,LFM-A13 能减少骨髓瘤细胞回迁到骨骼,防止肿瘤引起的骨吸收,并能抑制骨髓瘤生长<sup>[63]</sup>。因此,LFM-A13 有望成为具有良好前景的治疗 B 细胞增殖失调的新型药物。

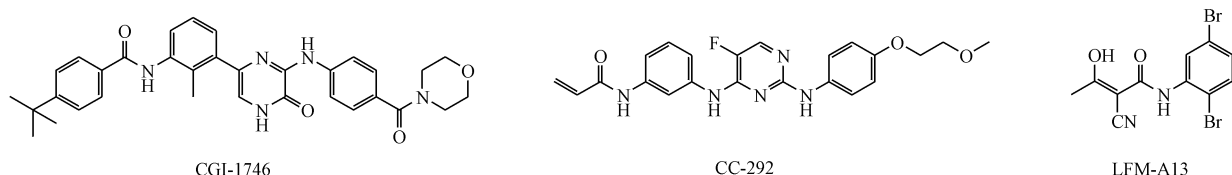


图5 CGI-1746, CC-292 和 LFM-A13 的化学结构

### 3 展 望

Ibrutinib 已被美国 FDA 批准上市,用于 MCL 和 CLL 的治疗。其他多个化合物,如 GDC-0834、HM-71224、CC-292 及 ONO-4059 也已进入到临床研究阶段或者临床前后期研究阶段。目前 BTK 已成为治疗 B 细胞增殖失调疾病的一个“明星”靶标<sup>[50-52]</sup>。然而,BTK 抑制剂仍然存在一些潜在的问题值得关注,例如药物作用的持久性和耐药性、疾病存在转型的风险以及长期用药的安全性等。

目前,能同时抑制 BTK 和其他靶标的双重或多重抑制剂的报道还不多。笔者所在课题组在研究邻氨基苯脒结构的血管内皮生长因子受体-2 基因(KDR)抑制剂时,前期的药效团模拟研究发现其母核结构可以很好容纳 PI3K- $\delta$  抑制剂 idelalisib 与 BTK 抑制剂 CC-292 的特征药效团,因此,准备在此基础上开发新骨架的 PI3K- $\delta$  与 BTK 的双重抑制剂。目前,通过虚拟筛选已设计两个系列邻氨基苯脒类的目标化合物,其合成和生物活性研究正在进行中。

### 参 考 文 献

- [1] Tsukada S, Saffran DC, Rawlings DJ, *et al.* Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia[J]. *Cell*, 1993, **72**(2): 279 - 290.
- [2] Vetrie D, Vorechovsky I, Sideras P, *et al.* The gene involved in X-linked agammaglobulinemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases[J]. *Nature*, 1993, **361**(6 409): 226 - 233.
- [3] de Weers M, Verschuren MC, Kraakman ME, *et al.* The Bruton's tyrosine kinase gene is expressed throughout B cell differentiation, from early precursor B cell stages preceding immunoglobulin gene rearrangement up to mature B cell stages[J]. *Eur J Immunol*, 1993, **23**(12): 3 109 - 3 114.
- [4] Kawakami Y, Kitaura J, Hata D, *et al.* Functions of Bruton's tyrosine kinase in mast and B cells[J]. *J Leukoc Biol*, 1999, **65**(3): 286 - 290.
- [5] Rajaiya J, Nixon JC, Ayers N, *et al.* Induction of immunoglobulin heavy-chain transcription through the transcription factor Bright requires TFII-I[J]. *Mol Cell Biol*, 2006, **26**(12): 4 758 - 4 768.
- [6] Liu W, Quinto I, Chen X, *et al.* Direct inhibition of Bruton's tyrosine kinase by IBtk, a Btk-binding protein[J]. *Nat Immunol*, 2001, **2**(10): 939 - 946.
- [7] Varnai P, Rother KI, Balla T. Phosphatidylinositol 3-kinase-dependent membrane association of the Bruton's tyrosine kinase pleckstrin homology domain visualized in single living cells[J]. *J Biol Chem*, 1999, **274**(16): 10 983 - 10 989.

- [8] Vihinen M, Nilsson L, Smith CL. Tec homology (TH) adjacent to the PH domain[J]. *FEBS Lett*, 1994, **350**(2/3): 263 - 265.
- [9] Kang SW, Wahl MI, Chu J, *et al.* PKC $\beta$  modulates antigen receptor signaling via regulation of Btk membrane localization[J]. *EMBO J*, 2001, **20**(20): 5 692 - 5 702.
- [10] Oppermann FS, Gnad F, Olsen JV, *et al.* Large-scale proteomics analysis of the human kinome[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2009, **8**(7): 1 751 - 1 764.
- [11] Nore BF, Mattsson PT, Antonsson P, *et al.* Identification of phosphorylation sites within the SH3 domains of Tec family tyrosine kinases[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, **1 645**(2): 123 - 132.
- [12] Park H, Wahl MI, Afar DE, *et al.* Regulation of Btk function by a major autophosphorylation site within the SH3 domain[J]. *Immunity*, 1996, **4**(5): 515 - 525.
- [13] Mohamed AJ, Vargas L, Nore BF, *et al.* Nucleocytoplasmic shuttling of Bruton's tyrosine kinase[J]. *J Biol Chem*, 2000, **275**(51): 40 614 - 40 619.
- [14] Mohamed AJ, Yu L, Backesjo CM, *et al.* Bruton's tyrosine kinase (Btk): function, regulation, and transformation with special emphasis on the PH domain[J]. *Immunol Rev*, 2009, **228**(1): 58 - 73.
- [15] Satterthwaite AB, Li Z, Witte ON. Btk function in B cell development and response[J]. *Semin Immunol*, 1998, **10**(4): 309 - 316.
- [16] Horwood NJ, Page TH, McDaid JP, *et al.* Bruton's tyrosine kinase is required for TLR2 and TLR4-induced TNF, but not IL-6, production[J]. *J Immunol*, 2006, **176**(6): 3 635 - 3 641.
- [17] Sharma S, Orlowski G, Song W. Btk regulates B cell receptor-mediated antigen processing and presentation by controlling actin cytoskeleton dynamics in B cells[J]. *J Immunol*, 2009, **182**(1): 329 - 339.
- [18] Yang W, Desiderio S. BAP-135, a target for Bruton's tyrosine kinase in response to B cell receptor engagement[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, **94**(2): 604 - 609.
- [19] Rodriguez R, Matsuda M, Perisic O, *et al.* Tyrosine residues in phospholipase C $\gamma$ 2 essential for the enzyme function in B-cell signaling[J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**(51): 47 982 - 47 992.
- [20] Akinleye A, Furqan M, Mukhi N, *et al.* MEK and the inhibitors: from bench to bedside[J]. *J Hematol Oncol*, 2013, **6**(1): 27 - 37.
- [21] Furqan M, Mukhi N, Lee B, *et al.* Dysregulation of JAK-STAT pathway in hematological malignancies and JAK inhibitors for clinical application[J]. *Biomarker Research*, 2013, **1**(1): 5 - 14.
- [22] Huang T, Karsy M, Zhuge J, *et al.* B-Raf and the inhibitors: from bench to bedside[J]. *J Hematol Oncol*, 2013, **6**(1): 30.
- [23] Doyle SL, Jefferies CA, Feighery C, *et al.* Signaling by Toll-like receptors 8 and 9 requires Bruton's tyrosine kinase[J]. *J Biol Chem*, 2007, **282**(51): 36 953 - 36 960.

- [24] Uckun FM. Bruton's tyrosine kinase ( BTK ) as a dual-function regulator of apoptosis [ J ]. *Biochem Pharmacol*, 1998, **56**(6): 683 - 691.
- [25] Kersseboom R, Middendorp S, Dingjan GM, et al. Bruton's tyrosine kinase cooperates with the B cell linker protein SLP-65 as a tumor suppressor in Pre-B cells [ J ]. *J Exp Med*, 2003, **198**(1): 91 - 98.
- [26] Vassilev A, Ozer Z, Navara C, et al. Bruton's tyrosine kinase as an inhibitor of the Fas/CD95 death-inducing signaling complex [ J ]. *J Biol Chem*, 1999, **274**(3): 1 646 - 1 656.
- [27] Kil LP, de Bruijn MJ, van Hulst JA, et al. Bruton's tyrosine kinase mediated signaling enhances leukemogenesis in a mouse model for chronic lymphocytic leukemia [ J ]. *Am J Blood Res*, 2013, **3**(1): 71 - 83.
- [28] Davis RE, Ngo VN, Lenz G, et al. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma [ J ]. *Nature*, 2010, **463**(7 277): 88 - 92.
- [29] Brosens LA, Tytgat KM, Morsink FH, et al. Multiple colorectal neoplasms in X-linked agammaglobulinemia [ J ]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2008, **6**(1): 115 - 119.
- [30] Goodman PA, Wood CM, Vassilev AO, et al. Defective expression of Bruton's tyrosine kinase in acute lymphoblastic leukemia [ J ]. *Leuk Lymphoma*, 2003, **44**(6): 1 011 - 1 018.
- [31] Backesjo CM, Vargas L, Superti-Furga G, et al. Phosphorylation of Bruton's tyrosine kinase by c-Abl [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **299**(3): 510 - 515.
- [32] Burger JA, Buggy JJ. Emerging drug profiles: Bruton tyrosine kinase ( BTK ) inhibitor ibrutinib ( PCI-32765 ) [ J ]. *Leuk Lymphoma*, 2013, **54**(11): 2 385 - 2 391.
- [33] Hutcheson J, Vanarsa K, Bashmakov A, et al. Modulating proximal cell signaling by targeting Btk ameliorates humoral autoimmunity and end-organ disease in murine lupus [ J ]. *Arthritis Res Ther*, 2012, **14**(6): R243.
- [34] Ruderman EM, Pope RM. More than just B-cell inhibition [ J ]. *Arthritis Res Ther*, 2011, **13**(4): 125.
- [35] Honigberg LA, Smith AM, Sirisawad M, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 blocks B-cell activation and is efficacious in models of autoimmune disease and B-cell malignancy [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, **107**(29): 13 075 - 13 080.
- [36] Pan Z, Scheerens H, Li SJ, et al. Discovery of selective irreversible inhibitors for Bruton's tyrosine kinase [ J ]. *Chem Med Chem*, 2007, **2**(1): 58 - 61.
- [37] Herman SE, Gordon AL, Hertlein E, et al. Bruton tyrosine kinase represents a promising therapeutic target for treatment of chronic lymphocytic leukemia and is effectively targeted by PCI-32765 [ J ]. *Blood*, 2011, **117**(23): 6 287 - 6 296.
- [38] Ponader S, Chen SS, Buggy JJ, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 thwarts chronic lymphocytic leukemia cell survival and tissue homing *in vitro* and *in vivo* [ J ]. *Blood*, 2012, **119**(5): 1 182 - 1 189.
- [39] Kim E, Koehrsers, Rosin N, et al. Activity of Bruton's tyrosine kinase ( BTK ) inhibitor ibrutinib ( PCI-32765 ) in B-cell acute lymphoblastic leukemia ( B-ALL ) [ J ]. *ASH Annu Meet Abstr*, 2012, **120**(21): 2 569.
- [40] Advani RH, Buggy JJ, Sharman JP, et al. Bruton tyrosine kinase inhibitor ibrutinib ( PCI-32765 ) has significant activity in patients with relapsed/refractory B-cell malignancies [ J ]. *J Clin Oncol*, 2013, **31**(1): 88 - 94.
- [41] Wang ML, Rule S, Martin P, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma [ J ]. *N Engl J Med*, 2013, **369**(6): 507 - 516.
- [42] Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia [ J ]. *N Engl J Med*, 2013, **369**(1): 32 - 42.
- [43] Byrd J, Furman R, Coutre S, et al. The bruton's tyrosine kKinase ( BTK ) inhibitor ibrutinib ( PCI-32765 ) promotes high response rate, durable remissions, and is tolerable in treatment naïve ( TN ) and relapsed or refractory ( RR ) chronic lymphocytic leukemia ( CLL ) or small lymphocytic lymphoma ( SLL ) patients including patients with high-risk ( HR ) disease; new and updated results of 116 patients in a phase Ib/II study [ C ]. *ASH Annu Meet Abstr*, 2012, **120**(21): 189.
- [44] Lu K, Wang X. Therapeutic advancement of chronic lymphocytic leukemia [ J ]. *J Hematol Oncol*, 2012, **5**(1): 55.
- [45] Fowler N, Advani R, Sharman J, et al. The bruton's tyrosine kinase inhibitor ibrutinib ( PCI-32765 ) is active and tolerated in relapsed follicular lymphoma [ C ]. *ASH Annu Meet Abstr*, 2012, **120**(21): 156.
- [46] Wilson W, Gerecitano J, Goy A, et al. The Bruton's tyrosine kinase ( BTK ) inhibitor, ibrutinib ( PCI-32765 ), has preferential activity in the ABC subtype of relapsed/refractory De Novo diffuse large B-cell lymphoma ( DLBCL ); interim results of a multicenter, open-label, phase 2 study [ C ]. *ASH Annu Meet Abstr*, 2012, **120**(21): 686.
- [47] Vij R, Chang B, Berdeja J, et al. Early changes in cytokines, chemokines and indices of bone metabolism in a phase 2 study of the Bruton tyrosine kinase ( Btk ) inhibitor, ibrutinib ( PCI-32765 ) in patients with relapsed or relapsed/refractory multiple myeloma ( MM ) [ C ]. *ASH Annu Meet Abstr*, 2012, **120**(21): 4 039.
- [48] Sahakian E, Rock-Klotz J, Shah BD, et al. Combination of ACY1215, a selective histone deacetylase 6 ( HDAC6 ) inhibitor with the bruton tyrosine kinase ( BTK ) inhibitor, ibrutinib, represents a novel therapeutic strategy in mantle cell lymphoma ( MCL ) [ C ]. *ASH Annu Meet Abstr*, 2012, **120**(21): 1 660.
- [49] Burger JA, Keating MJ, Wierda WG, et al. The Btk inhibitor ibrutinib ( PCI-32765 ) in combination with rituximab is well tolerated and displays profound activity in high-risk chronic lymphocytic leukemia ( CLL ) patients [ C ]. *ASH Annu Meet Abstr*, 2012, **120**(21): 187.

- [50] Blum KA, Christian B, Flynn JM, *et al.* A phase I trial of the bruton's tyrosine kinase ( BTK ) inhibitor, ibrutinib ( PCI-32765 ), in combination with rituximab<sup>®</sup> and bendamustine in patients with relapsed/refractory non-Hodgkin's lymphoma ( NHL ) [ C ]. *ASH Annu Meet Abstr*, 2012, **120**(21): 1 643.
- [51] Jaglowski SM, Jones JA, Flynn JM, *et al.* A phase Ib/II study evaluating activity and tolerability of BTK inhibitor PCI-32765 and ofatumumab in patients with chronic lymphocytic leukemia/ small lymphocytic lymphoma ( CLL/SLL ) and related diseases [ C ]. *ASCO Annu Meet Abstr*, 2012, **30**(15\_suppl): 6 508.
- [52] Liu L, Di Paolo J, Barbosa J, *et al.* Antiarthritis effect of a novel Bruton's tyrosine kinase ( BTK ) inhibitor in rat collagen-induced arthritis and mechanism-based pharmacokinetic/pharmacodynamics modeling: relationships between inhibition of BTK phosphorylation and efficacy [ J ]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, **338**(1): 154 – 163.
- [53] Liu L, Halladay JS, Shin Y, *et al.* Significant species difference in amide hydrolysis of GDC-0834, a novel potent and selective Bruton's tyrosine kinase inhibitor [ J ]. *Drug Metab Dispos*, 2011, **39**(10): 1 840 – 1 849.
- [54] Xu D, Kim Y, Postelnek J, *et al.* RN486, a selective Bruton's tyrosine kinase inhibitor, abrogates immune hypersensitivity responses and arthritis in rodents [ J ]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, **341**(1): 90 – 103.
- [55] Mina-Osorio P, Lasant J, Keirstead N, *et al.* Suppression of glomerulonephritis in lupus prone NZB/W mice by RN486, a selective inhibitor of Bruton's tyrosine kinase [ J ]. *Arthritis Rheum*, 2013. doi:10.1002/art.38047.
- [56] Yoshizawa, Toshio, Ariza, *et al.* Development of a Bruton's tyrosine kinase ( Btk ) inhibitor, ONO-4059; efficacy in a collagen induced arthritis ( CIA ) model indicates potential treatment for rheumatoid arthritis ( RA ) [ C ]. *Arthritis Rheum*, 2012, **64**( Suppl 10 ): 1 660.
- [57] Di Paolo JA, Huang T, Balazs M, *et al.* Specific Btk inhibition suppresses B cell- and myeloid cell-mediated arthritis [ J ]. *Nat Chem Biol*, 2011, **7**(1): 41 – 50.
- [58] Evans EK, Tester R, Aslanian S, *et al.* Inhibition of Btk with CC-292 provides early pharmacodynamic assessment of activity in mice and humans [ J ]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, 346. doi:10.1124/jpet.1113.203489.
- [59] Homare E. CC-292, a novel bruton's tyrosine kinase inhibitor alone and in combination with carfilzomib impacts bone resorption in multiple myeloma by blocking osteoclast sealing zone formation [ C ]. *EHA 2013 Congress*, 2013, abstr. S543.
- [60] Brown J. Phase 1 study of single agent CC-292, a highly selective Bruton's tyrosine kinase ( BTK ) inhibitor, in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia ( CLL ) and B-Cell non-hodgkin lymphoma ( B-NHL ) [ C ]. *EHA 2013 Congress*, 2013. Abstr. 3793.
- [61] Uckun FM, Zheng Y, Cetkovic-Cvrlje M, *et al.* *In vivo* pharmacokinetic features, toxicity profile, and chemosensitizing activity of alpha-cyano-beta-hydroxy-beta-methyl-N-( 2, 5-dibromophenyl ) propenamide ( LFM-A13 ), a novel antileukemic agent targeting Bruton's tyrosine kinase [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2002, **8**(5): 1 224 – 1 233.
- [62] Mahajan S, Ghosh S, Sudbeck EA, *et al.* Rational design and synthesis of a novel anti-leukemic agent targeting Bruton's tyrosine kinase ( BTK ), LFM-A13 [ alpha-cyano-beta-hydroxy-beta-methyl-N-(2,5-dibromophenyl) propenamide [ J ]. *J Biol Chem*, 1999, **274**(14): 9 587 – 9 599.
- [63] Bam R, Ling W, Khan S, *et al.* Role of Bruton's tyrosine kinase in myeloma cell migration and induction of bone disease [ J ]. *Am J Hematol*, 2013, **88**(6): 463 – 471.