

- [25] EGUCHI A, DOWDY S F. siRNA delivery using peptide transduction domains[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2009, 30(7): 341-345.
- [26] ZHAO K, LUO G, GIANNELLI S, *et al.* Mitochondria-targeted peptide prevents mitochondrial depolarization and apoptosis induced by tert-butyl hydroperoxide in neuronal cell lines[J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 70(12): 1796-1806.
- [27] SUN L, LIU D, WANG Z. Functiona gold nanoparticle-peptide complexes as cell-targeting agents [J]. *Langmuir*, 2008, 24(18): 10293-10297.
- [28] FERNÁNDEZ-CARNEADO J, VAN GOOL M, MARTOS V, *et al.* Highly efficient, nonpeptidic oligoguanidinium vectors that selectively internalize into mitochondria [J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(3): 869-874.
- [29] ZHONG C Y, WANG H, LIU C B, *et al.* Expression of GFP-PTP fusion protein and functional analysis of the HPV transformed cervical cancer cell membrane penetrating activity[J]. *Chin New Drugs J* (中国新药杂志), 2010, 19(13): 1164-1170.

(收稿日期:2010-12-10)

小分子抗肿瘤蛋白激酶抑制剂的研究进展

史宁, 韦林毅, 吴久鸿* (解放军第306医院药学部, 北京 100101)

摘要: **目的** 综述小分子抗肿瘤蛋白激酶抑制剂的研究进展。 **方法** 以近5年文献为主要依据, 对激酶靶点及小分子抑制剂的研究发展变化进行分析、整理和总结。 **结果** 呈现由单作用靶点抑制剂向多作用靶点抑制剂、由单一选择性抑制剂向多选择性抑制剂发展的变化趋势, 由于蛋白激酶的结构突变, 第一代抑制剂陆续出现耐药, 导致众多作用于结构突变位点的新型抑制剂的出现。 **结论** 随着结构生物学和计算机辅助药物分子设计技术的进步, 基于药物合理设计的小分子激酶抑制剂会有更广阔的发展前景。

关键词: 激酶抑制剂; 蛋白酪氨酸激酶; 抗肿瘤药物; 多靶点抑制剂; 耐药蛋白激酶

中图分类号: Q813

文献标志码: A

文章编号: 1001-2494(2011)23-1784-06

肿瘤极大威胁人类健康, 抗肿瘤药物研究是当今生命科学中极富挑战性且意义重大的领域。近年来, 随着对肿瘤致病机制的深入研究, 肿瘤细胞内的信号转导通路变化的基本过程正在被逐步阐明。以一些细胞信号转导通路中的关键激酶为药物筛选靶点, 发现高效、低毒、特异性强的新型靶向药物已成为当今抗肿瘤药物研究的有效途径之一。目前, 在所有的药理学靶标中, 估计超过 1/4 的靶标是蛋白激酶, 在抗肿瘤领域中更是高达 75%, 而目前上市的大部分小分子肿瘤靶向抑制剂均为酪氨酸蛋白激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKI)^[1]。2001 年 5 月, 诺华公司的 Bcr-Abl 蛋白激酶抑制剂伊马替尼 (imatinib) 作为第一个被 FDA 批准上市的 TKI, 对治疗慢性髓样白血病 (chronic myelogenous leukemia, CML) 具有非常好的疗效。它的成功具有里程碑意义, 开启了肿瘤分子靶向治疗的新时代。之后十年 TKI 研究快速发展, 作用于多靶点的抑制剂不断涌现, 并且随着第一代药物耐药日益严重, 出现了众多新型作用于蛋白激酶结构突变位点的 TKI。

1 蛋白酪氨酸激酶抑制剂主要的作用靶点及变化特点

蛋白酪氨酸激酶可分为受体型和非受体型两种, 它们的主要功能都是催化 ATP γ 位的磷酸基团转移到蛋白质底物

的酪氨酸残基上, 通过靶蛋白的磷酸化反应, 使蛋白激酶从非活化构象转变为活化构象, 完成细胞生物信号的传导, 使细胞对各种刺激做出相应的反应, 在调控细胞功能上发挥着重要作用。超过 50% 的原癌基因和癌基因产物都具有异常的蛋白酪氨酸激酶活性, 它们的异常表达或非调控活性增高将直接导致细胞增殖调节发生紊乱, 与肿瘤的侵袭和转移、肿瘤新生血管的生成、肿瘤的化疗抗性密切相关。

1.1 受体酪氨酸激酶^[2]

目前至少有近 60 种分属 20 个家族的受体酪氨酸激酶被发现。所有受体酪氨酸激酶都属于 I 型膜蛋白, 其分子具有相似的拓扑结构: 主要包括糖基化的胞外配体结合区, 疏水的单次跨膜区, 以及胞内的酪氨酸激酶催化结构域及调控序列。其中与肿瘤的发生发展最为密切的受体酪氨酸激酶分别是如下家族。

1.1.1 表皮生长因子受体 (EGFR) 家族 EGFR 家族包括 HER1 (ErbB1)、HER2 (ErbB2)、HER3 (ErbB3) 和 HER4 (ErbB4), 此类受体高表达于上皮细胞肿瘤, 如非小细胞性肺癌、乳腺癌、头颈癌、膀胱癌、胃癌、前列腺癌、卵巢癌、胶质细胞瘤等。它在细胞的恶性转化中发挥重要作用。特别是 ErbB2 异常表达与新生血管生成, 肿瘤的侵袭和转移, 肿瘤的化疗抗性 & 预后密切相关。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目资助 (81072546)

作者简介: 史宁, 女, 主管药师 研究方向: 药物新剂型 * **通讯作者:** 吴久鸿, 女, 博士, 主任药师 研究方向: 天然产物中创新药物研究

Tel: (010)66354564 E-mail: jiu hongwu@hotmail.com

1.1.2 胰岛素受体家族 胰岛素受体家族成员包括胰岛素受体 (insulin receptor, IR)、胰岛素样生长因子-1 受体 (insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R) 以及胰岛素相关受体 (insulin related receptor, IRR)。此类受体通常在血液系统肿瘤中高表达。IGF-1R 在乳腺癌、头颈癌、结肠癌、肺癌中过表达,对病理过程有很大的影响,它与眼色素底的黑色素瘤的转移密切相关,是这类肿瘤转移的预示因子。

1.1.3 血小板衍生生长因子受体 (PDGFR) 家族 PDGFR 家族的成员除了 PDGFR- α 和 PDGFR- β 外,还包括集落刺激因子 1 受体 (CSF-1R)、干细胞生长因子受体 (c-KIT)。此类受体高表达于上皮细胞肿瘤。PDGF 在肺癌中起类似生长因子的作用,可通过多种效应作用于内皮细胞和间质细胞,促进血管形成。在大多数胶质母细胞瘤中,存在着 PDGF 及其受体形成的自分泌环路,这一环路与肿瘤的发生发展有着极其密切的关系。

c-KIT 存在着 30 多种功能获得性突变形式,是许多肿瘤发生、发展的直接诱因。在大多数胃肠道基质瘤 (gastrointestinal stromal tumor, GIST) 患者中,c-kit 基因在近膜区发生 GOF 点突变,使得 KIT/SCFR 结构性激活,促进了肿瘤的生长,GOF 点突变及部分基因缺失还与急性髓样白血病的发生发展密切相关。此外,在 70% 的小细胞肺癌患者中存在着 SCF 及 KIT/SCFR 自分泌环路,这一环路的存在可帮助肿瘤细胞的生长脱离生长因子的调控。

1.1.4 血管内皮细胞生长因子受体 (VEGFR) 家族 VEGFR 家族成员包括 VEGFR-1 (FLT-1)、VEGFR-2 (KDR/FLK-1) 和 VEGFR-3 (FLT-4)。在实体瘤的恶性生长和转移中,肿瘤的新生血管为肿瘤的生长提供所必需的营养和氧气。VEGF 作为已知最强的血管渗透剂和内皮细胞特异的有丝分裂源,在内皮细胞的增殖、迁移和血管构建中具有重要作用。它的表达水平和肿瘤组织的血管化程度及恶性程度呈现明显的正相关。

1.1.5 成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 家族 FGFR 家族成员有 FGFR1、FGFR2、FGFR3 及 FGFR4。FGFs 主要由中胚层来源的细胞产生,有强烈促增殖和分化作用,对内皮细胞、血管平滑肌细胞、成纤维细胞等均有很强的促有丝分裂作用。FGFR 在血管生成的作用包括:促进血管内皮细胞的增殖和迁移;加速具有降解基底膜作用的蛋白激酶释放;促进内皮细胞形成管状结构。另外,FGF 还与肿瘤细胞的迁移有关,在内皮细胞和多种肿瘤细胞中均有表达。

1.2 非受体酪氨酸激酶^[3]

非受体酪氨酸激酶主要有 10 大家族,括 SRC,ABL, JAK,ACK,CSK,FAK,FES,FRK,TEC 和 SYK 等家族。它们在信号转导通路中起着重要作用,其中明确与恶性肿瘤的发生发展密切相关的是如下 4 个家族。

1.2.1 SRC 家族 SRC 家族在生长因子诱导的胞内反应中起着重要作用,包括增殖、存活、粘连和迁移。在恶性肿瘤细胞中 c-Src 大量聚集在核周,而在正常的细胞内 c-Src 相对均匀的散布于细胞质内。已发现 c-Src 在结肠癌中活性极高,

尤其是在肿瘤转移到肝脏中后。与正常乳腺组织相比,c-Src 在人乳腺癌中的活性提高了 4 ~ 30 倍,同时 c-Src 蛋白表达量也相应增加。

1.2.2 ABL 家族 包括两个成员:c-Abl 和 Arg。abl 基因位于 9 号染色体,编码 Abl 蛋白。c-Abl 蛋白是有酪氨酸激酶活性的复合物。CML 患者的 9 号染色体和 22 号染色体发生易位,9 号染色体长臂末端的 c-Abl 原癌基因断裂,并与 22 号染色体长臂末端的 c-Bcr 基因的 3 端发生融合形成 Bcr-Abl 基因,编码 Bcr-Abl 蛋白激酶,该激酶在正常细胞中并不表达并且可以在无调控的情况下一直保持生理活性,使调控细胞的信号传导途径一直处于活跃状态,从而源源不断地产生异常白细胞,骨髓正常生成白细胞的系统被破坏,形成 CML 病症。

1.2.3 JAK 家族 JAK 在细胞因子信号转导的初始步骤中起着至关重要的作用。JAK 家族包括 4 个成员:TYK2、JAD1、JAK2、JAK3,它们分处于 3 个染色体簇中。JAK 与少数几种人类白血病密切相关,另外在几种恶性肿瘤发现它的下游底物 Stat3 和 Stat5 都处于磷酸化的活化状态。

1.2.4 FAK 家族 除 FAK 外还有 Pyk2 (CAK β /RAFTK/cadTK/FAK2)。在乳腺癌和结肠癌组织中,FAK 表达极高。FAK 不具有经典的癌蛋白功能,但它在整合素信号转导和整合素所参与肿瘤发展过程及转移进程中都起着重要作用。

2 TKI 由单一作用靶点向多作用靶点的变化

由于蛋白激酶家族是分子差别进化的结果,它们可能来源于同一组蛋白,因此各种蛋白激酶的基因序列和三维结构有着极大的相似性。TKI 的选择性曾一直被认为是药物研发主要的考察指标之一。根据与激酶的复合物晶体结合方式不同,小分子蛋白激酶抑制剂可分为 I 型、II 型和 III 型^[4]。I 型激酶抑制剂作用于 ATP 催化区,与激酶骨架连接区形成氢键,竞争性抑制 ATP 结合,可与活化或非活化状态蛋白激酶结合。II 型激酶抑制剂多数通过氢键和疏水键同时作用于催化区和临近催化区的酶变构部位 (调节区),只与非活化状态下的蛋白激酶结合,选择性较 I 型抑制剂高得多,III 型抑制剂远程作用在蛋白激酶上,导致其 ATP 催化区构型变化而抑制激酶活性。

第一个成功 TKI——伊马替尼是 II 类抑制剂,曾一直被认为仅作用于 BCR-ABL 蛋白激酶。早期研发以强调抑制剂的高选择性为主,例如吉非替尼、厄洛替尼和 20 世纪 90 年代末进入过临床试验的多数候选药物都作用于单一靶点。随后的研究发现伊马替尼在 $K_d < 10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 有效抑制 BCR-ABL 蛋白激酶,但当 K_d 为 $10 \sim 100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,同样也可以抑制 PDGFR、c-KIT 受体激酶。人们起初认为作用于单一靶点的药物其疗效应该更好、毒副作用更低,但之后的研究不断证明,由于肿瘤的发生与多条细胞通路有关并且激酶靶点易产生变异,多靶点的 TKI 具有同时抑制多个细胞信号转导通路的优点,临床上反而易于取得更好的疗效和耐受性。

到 2010 年 FDA 批准的小分子蛋白激酶抑制剂一共有 11 个, 它们主要的适应证及作用靶点见表 1。其中大多为 I 型抑制剂, 包括吉非替尼、厄洛替尼、苏尼替尼、达沙替尼、拉帕替尼等。新出现的 II 型抑制剂仅有索拉替尼、尼罗替尼。TKI 研究呈现由单作用靶点抑制剂向多作用靶点抑制剂、由单一选择性抑制剂向多选择性抑制剂发展的变化趋势。目前进入临床 III 期试验的药物大部分都作用于多个靶点, 其代号、分子结构、适应证及作用靶点见表 2。

3 针对耐药激酶的新型小分子抑制剂研究

3.1 针对伊马替尼耐药性的小分子抑制剂

BCR-ABL 激酶的突变导致了伊马替尼的耐药, 其机制研究相对透彻, 目前已明确主要发生在如下 4 个位点: 磷酸结合点突变, 即 P-loop 位点 (包括 G250E、Q252R、Y253F/H 和 E255K/V); 伊马替尼结合位点突变, 破坏了范德华力 (包括 V289Ih、F311L、T315I 和 F317L); 催化域附近的突变 (M315T 和 E355G); 能控制激酶的活化 A-loop 环的突变 (H396R/P)。突变妨碍伊马替尼与非活化构象蛋白激酶的结合, 从而产生耐药。此外, Src-家族酪氨酸激酶与细胞内多条信号传导途径有关, 其相关基因参与许多重要的生理过程, 如生长、分化、黏附、转录等。Src-家族酪氨酸激酶调控 BCR-ABL 信号级联反应的下游元件, 抑制其活性可为抑制 BCR-ABL 提供协同作用, 甚至阻断 CML 细胞在 BCR-ABL 受到抑制后寻找的其他存活通路。在未检测出 BCR-ABL 激酶突变的对伊马替尼产生耐药的患者中, 发现 Src-家族酪氨酸激酶的 Lyn 被活化或高度表达。同时抑制 Src 激酶和 BCR-ABL 激酶, 对 CML 的疗效更好。

达沙替尼 2006 年被 FDA 批准用于伊马替尼治疗失败或耐药的 CML 患者, 它是源于 Src-家族的淋巴细胞酪氨酸激酶 (lymphocyte cell kinase, LCK) 抑制剂, 在纳摩尔浓度下可抑制 BCR-ABL, 其有效性是伊马替尼的 20 ~ 50 倍, 并且能抑制除 T315I 外的伊马替尼耐药性 BCR-ABL 突变^[16]。2007 年上市的尼罗替尼是伊马替尼的衍生物, 它替换掉了伊马替尼

尾端的 N-甲基哌嗪基团, 并在苯基上引入了电负性较高的三氟甲基, 对野生型 BCR-ABL 非活化构象的亲 and 性可提高 10 ~ 30 倍, 对表达伊马替尼耐药 BCR-ABL 细胞 (如 K562、KBM5) 有效, 但不能克服 T315I 突变。虽然达沙替尼和尼洛替尼显示出令人鼓舞的临床疗效, 但有报道它们使用后将 ABL 激酶区引发新的突变。

第三代的新颖抑制剂仍处于研究阶段, 惠氏制药的伯舒替尼 (bosutinib, SKI-606) 是一种 4-苯胺-3-喹啉甲腈衍生物, 它是 SRC 和 BCR-ABL 双重抑制剂, 对 Y253H、E255V、E255K 和 F359V 突变的 BCR-ABL 有效, 但对 T315I 突变依然没有效果^[17]。INNO-406 由 Innovive 公司开发, 是 ABL 和 Src 双重抑制剂, 该化合物对 BCR-ABL 的活性是伊马替尼的 25 ~ 55 倍, 并且还能抑制达沙替尼耐药的 T315A、F317L 和 F317V 突变。但 I 期临床试验结果显示对 Y253H、G250E、T315I、F317L 突变 CML 患者的主要细胞遗传学缓解率 (major cytogenetic response rate, McyR) 只有 19%^[18]。

10% ~ 20% 的 CML 病例在伊马替尼治疗失败后, 会检测到 T315I 突变。它几乎对当前所有被批准的 CML 治疗药物产生抗性。ABL 激酶域中 315 位苏氨酸突变为异亮氨酸, 使 gatekeeper 周围的环境由亲水性变成疏水性, 导致伊马替尼结构中苯胺不能与苏氨酸形成氢键, 从而产生耐药。当前, 针对该突变株的激酶抑制剂成为研究新热点, 出现了一些活性较好的化合物。

GNF-5 是一种选择性的蛋白激酶抑制剂, 当其与尼罗替尼合用时, 可显著改善尼罗替尼的耐药, 体外试验显示当 GNF-5 浓度为 2 μmol · L⁻¹ 时, 尼罗替尼对 T315I 突变的 BCR-ABL 激酶的 IC₅₀ 值降低至 0.8 μmol · L⁻¹^[19]。MK-0457 (VX680) 能与 BCR-ABL 活性部位连接并且有抗 T315I 突变的活性。这种抑制剂已经进入伊马替尼耐药性的 CML 的 II 临床研究中。初始报告显示 3 例有伊马替尼耐药性和 T315I 突变的病人出现了血液学反应, 并且其中两例病人突变体克隆的浓度有所下降^[20]。Danutertib 为 Nerviano Medical Sciences 公司研发的吡唑类化合物, 对 ABL-T315I 突变体有效

表 1 2001 年至 2010 年 FDA 批准上市的抗肿瘤小分子蛋白激酶抑制剂

上市时间	药物名称	商品名	研发公司	适应证	作用受体
2001	伊马替尼 (Imatinib)	格列卫 (Gleevec, Glivec)	诺华制药	慢性粒细胞白血病 (CML); 恶性胃肠道间瘤 (GIST)	BCR-ABL, c-KIT, PDGFR
2003	吉非替尼 (Gefitinib)	易瑞沙 (Iressa)	阿斯利康	非-小细胞肺癌 (NSCLC)	EGFR
2004	埃罗 (厄洛) 替尼 (Erlotinib)	特罗凯 (Tarceva)	罗氏和 OSI Pharmaceuticals	NSCLC	EGFR
2005	索拉非尼 (Sorafenib)	多吉美 (Nexavar)	拜尔和 Onyx 制药	初期肾癌和中期肝癌	VEGFR, PDGFR
2006	舒尼替尼 (Sunitinib)	索坦 (Sutent)	辉瑞	晚期肾细胞癌; GIST	PDGFR, VEGFR, c-KIT
2006	达沙替尼 (Dasatinib)	扑瑞赛 (Sprycel)	百时美施贵宝	耐药或不能耐受的 CML	BCR-ABL, SRC
2007	拉帕替尼 (Lapatinib)	泰克博 (Tykerb)	葛兰素史克	晚期或转移乳癌	EGFR, HER-2
2007	Elmsirolimus	Torisel	惠氏公司	晚期肾细胞癌	mTOR
2007	尼罗替尼 (Nilotinib)	Tasigna	诺华制药	CML	BCR-ABL, c-KIT, PDGFR
2008	依维莫司 (Everolimus)	Afinitor	诺华制药	治疗舒尼替尼或索拉非尼失败的晚期肾细胞癌	mTOR
2009	帕唑帕尼 (Pazopanib)	Votrient	葛兰素史克	晚期肾细胞癌	VEGFR, PDGFR, FGFR, Kit, Itk, 白细胞-特异性蛋白酪氨酸激酶 (Lck), 船膜糖蛋白受体酪氨酸激酶 (c-Fms)

表2 近3年部分处于临床Ⅲ期试验的TKI及其作用靶点

激酶抑制剂	结构	研发公司	主要在研适应症	作用靶点 ^[5-15]
Vatalanib, PTK787/ZK222584		诺华制药与先灵制药	肾细胞癌和转移性结直肠癌	VEGFR、PDGFR
Vandetanib, ZD6474		阿斯利康	甲状腺癌	EGFR, VEGFR-2, PDEFR, Raf
Axitinib, AG2013736		辉瑞	肾细胞癌周围血管	VEGF, PDGFR
Pazopanib, GW786034		葛兰素史克	先前细胞因子治疗无效或贝伐单 抗治疗失败的转移性肾癌患者	VEGFR, PDGFR, c- KIT
Neratinib, HKI-272		辉瑞/惠氏	乳腺癌	HER-2
Masitinib, AMG-706		AB Science	黑色素瘤	c-kit, PDGFR, Lyn, VEGF
Dovitinib, TKI258		诺华制药	肾癌	VEGFR, FGFR, PDG- FR, c-KIT
Cediranib, AZD2171		阿斯利康	与紫杉醇等化疗药物联合使用, 提高卵巢癌等治疗效果	VEGFR, c-KIT
Linifanib, ABT-869, AL-39324, RG3635		Abbott	肝癌	VEGFR, PDGFR
Bosutinib		辉瑞/惠氏	CML	SRC, ABL, TEC
Cabozantinib, XL184		Exelixis	甲状腺癌	VEGFR2, MET, c- KIT, Flt3
Afatinib, BIBW 2992		Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals	NSCLC	EGFR, HER2

(IC₅₀为0.12 μmol · L⁻¹)。目前,达努塞替正在进行对伊马替尼或达沙替尼耐受和具有 ABL-T3151 突变的 CML 患者的Ⅱ期临床研究^[21]。

3.2 针对吉非替尼耐药的小分子抑制剂

在具有 EGFR 突变的 NSCLC 优势人群中,初次使用吉非替尼和厄洛替尼,70% ~80% 患者有效,但经过平均3~7个月大部分会出现耐药^[22]。表皮生长因子受体抑制剂(EGFR-TKI)原发耐药和继发耐药的机制尚不是十分清楚,可以肯定的是大约50%的继发耐药由EGFR基因的790密码子(T790M)发生了二次点突变导致。晶体结构模型显示T790残基位于催化区域的结合位点,该位点是吉非替尼和厄洛替尼的关键作用点。当T790M突变后,该点的苏氨酸被甲硫氨酸替换后,两种药物结合到此位点的空间阻碍现象。有研究也显示MET基因放大可导致NSCLC对EGFR-TKI获得性耐

药;ErbB3 信号持续作用可使 ErbB2 扩增突变,使乳腺癌对吉非替尼产生耐药;肝细胞生长因子(HGF)激活的PI3KAKT信号也可导致EGFR突变,使NSCLC对吉非替尼耐药。与MET放大不同的是,HGF介导的耐药性不依赖于ErbB3信号。IGFBP3基因缺失所致IGF1R信号激活可通过用胰岛素受体底物激活PI3K-AKT信号,也与吉非替尼获得性耐药产生有关^[23]。

Neratinib(HKI-272)是第一个出现的针对T790M突变的小分子酪氨酸激酶抑制剂。临床前研究显示了较好效果,对多西环素诱导的EFGF和T790M(EGFR-TL)双突变的转基因小鼠实验发现:Neratinib联合雷帕霉素药物组的疗效优于Neratinib单一给药组,前者肿瘤体积大小(MRZ)降低72%。体内外实验均显示联合用药协同抑制了EGFR-TL-PI3K-mTORX信号转导通路^[24]。但是单独使用neratinib治疗NSCLC的I期和Ⅱ临床实验中,无论患者是否出现T790M二

次突变,治疗均没有得到预期效果,现已经退出对 NSCLC 适应证的研究^[25]。日前 II 期临床研究用于评估 neratinib 对 ErbB-2 阳性进展性乳腺癌的效果。患者口服 240 mg · d⁻¹, 以达到 16 周无进展生存期 (PFS) 为主要考察指标,单一用药组的获得值为 78%,之前曾接受过曲妥珠单抗 (商品名:赫赛汀) 治疗组的获得值为 59%。PFS 的中位数分别为 39.6 和 22.3 周,反应率 (RR) 分别是 56% 和 24%,显示出了较好的临床疗效。腹泻是最常见的不良反应,但可以通过止泻剂和剂量调整来控制^[26]。EKB-569 是由惠氏公司开发的 4-苯胺基-3-丙烯酰胺唑啉类化合物,与 neratinib 为同类化合物,2009 完成 NSCLC 的 II 期临床试验后终止了项目研究^[27]。

XL647 是 Exelixis 公司开发的 HER2、VEGFR2 多靶点小分子激酶抑制剂,临床前研究发现,它在低于吉非替尼或厄洛替尼的有效剂量下能够降低 EFGFR-TL 双突变模型小鼠的肿瘤生长体积^[28]。针对没有接受过化疗的 NSCLC 患者的 II 期临床试验显示,XL647 对于 EGFR 突变的患者有效,但对于吉非替尼耐药的患者无效,34 例患者中仅 1 人取得部分疗效,而其血浆样本中并没有发现 T790M 突变^[29-30]。

德国勃林格殷格翰公司的阿法替尼 (afatinib),又名 BIBW2992,是一种 HER2 特异性的不可逆 TKI,临床前研究发现其具有抑制 EGFR-TL 双突变的活性,并且有效剂量低于 neratinib^[31]。在研的适应证包括 NSCLC、乳腺癌和头颈癌等实体肿瘤。I 期临床试验在吉非替尼或厄洛替尼耐药的患者体内比较了阿法替尼和安慰剂的作用。结果虽然没有达到提高整体存活率 (OS) 的主要目标,但阿法替尼延长了肿瘤的潜伏期,使潜伏期增长了 3 倍,PFS 从 1.1 个月增加到 3.3 个月。II 期研究结果显示,使用阿法替尼提高了肿瘤缩小的概率,能够使肿瘤潜伏期超过一年,显著延长 NSCLC 患者的无病存活期,从而提高了整体反应率及疾病控制率^[32]。III 期临床试验已经于 2010 年 11 月完成,尚未公开结果,是目前发展前景较好的新型 EFRG-TK。

PF-00299804 是辉瑞制药另一个处于 III 期临床研究的 EGFR-TKI。临床前研究显示其对 T790M 突变的肺癌细胞系 (H1975、H3255GR、H820) 作用明显,IC₅₀ 值分别为 0.119、0.44 和 0.93 μmol · L⁻¹,做为对照的吉非替尼 IC₅₀ > 10 μmol · L⁻¹^[32-33]。该药的药动力学参数,如生物利用度、血浆半衰期、清除率、分布容积均优于第一代的 EGFR-TKI。II 期临床试验用于治疗没有经过靶向治疗的 EGFR 突变的 NSCLC 患者,取得较好效果,至少 85% 的人病情至少在 9 个月内未出现恶化^[34-35]。III 期临床试验拟于 2012 年完成。

凡德他尼 (vandetanib, ZD6474), 是阿斯利康公司研制的唑啉类化合物,它在低浓度下主要抑制 EGFR 家族,在高浓度下阻断受体酪氨酸激酶 VEGFR-2 和 PDEFR 及 Raf 激酶,阻断 Raf/MEK/ERK 途径,抑制肿瘤细胞增殖和血管新生。1391 位 IIIB-IV 期的 NSCLC 患者参与的凡德他尼 (100 mg · d⁻¹) 联用多西他赛的 III 期临床结果显示,联合用药组比单独用药组取得了更好的临床效果,PFS 为 4.0 和 3.2 个月 (hazard ratio 0.79, 97.58% CI 0.70 ~ 0.90; P < 0.000 1)^[36]。但是另

一项单独使用凡德他尼的 III 期临床研究显示,对于接受过化疗的 NSCLC 患者,该药并没有获得比厄洛替尼更好的治疗效果,而且副作用发生率高^[37]。

针对 MET 扩增引起吉非替尼耐药的新型 EGFR 激酶抑制剂也处于研究中,进度最快的是 XL-184,目前完成了 II 期临床试验,其他还包括 ARQ-197, PF-2341066, SGX523。2011 年报道了 WZ-4002 在体外对 L858R 和 G719S 突变引起的吉非替尼耐药有效。

4 结 论

PTK 选择性作用于癌症细胞,对于正常细胞无毒性或毒性较低,所以其疗效远优于传统细胞毒类药物,在肿瘤治疗领域具有毋庸置疑的价值。在早期 PTK 研究中,由于药物选择性直接关系到毒副作用,因而一直是药物研发主要的考察指标之一。然而,鉴于肿瘤是一种多因素、多种信号影响的疾病,癌症细胞容易对高选择性抑制剂产生耐药性,因此能够阻断多个细胞生长的信号传导通路的多靶点激酶抑制剂往往在临床上取得了更好的治疗效果,成为肿瘤治疗和新药研发的新趋势。在当前临床应用的小分子抑制剂中,大多数早期被认为作用于单一激酶靶点的抑制剂后来被发现也同样作用于其他的激酶靶点,绝对的单一靶点抑制剂是不存在的。选择性的高低不再是评价磷酸激酶抑制剂的绝对指标,往往采用对激酶敏感的癌症细胞系 (如肾癌、血癌、乳腺癌等) 作为筛选平台往往能够更加有效、综合地反映其临床效果。近年来,随着结构生物学和计算机辅助药物分子设计技术的进步,基于药物合理设计的新型小分子抑制剂不断涌现,特别是对耐药激酶具有活性的药物也纷纷进入了临床研究,可以预见激酶抑制剂在未来将会有着更大的发展。

REFERENCES

- [1] WEI L, MALHOTRA S V. Recent development of cyclic amide (Pyridone/Lactam) moiety containing heterocycles as protein kinase inhibitors[J]. *Curr Med Chem*, 2010, 17(3):234-253.
- [2] SUN D Y, CUI S Y, SUN Y. *Cell Signal Transduction, the Basics (Fourth Edition)* (细胞信号传导 基础篇)[M]. 4th ed. Beijing: Science Press, 2010:260-310.
- [3] HUANG W L, ZHU X F. *Signal Transduction (信号转导)* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 151-199.
- [4] OKRAM B, NAGLE A, ADRIAN F J, *et al.* A general strategy for creating "inactive-conformation" Abl inhibitors[J]. *Chem Biol*, 2006, 13(7):779-786.
- [5] KUMMAR S, GUTIERREZ M E, CHEN A, *et al.* Phase I trial of vandetanib and bevacizumab evaluating the VEGF and EGF signal transduction pathways in adults with solid tumours and lymphomas[J]. *Eur J Cancer*, 47(7):997-1005.
- [6] YAU T, CHAN P, PANG R, *et al.* Phase 1-2 trial of PTK787/ZK222584 combined with intravenous doxorubicin for treatment of patients with advanced hepatocellular carcinoma; implication for antiangiogenic approach to hepatocellular carcinoma. [J] *Cancer*, 2010, 116(21):5022-5029.
- [7] SONPAVDE G, HUTSON T E, STERNBERG C N, *et al.* Pazopanib, a potent orally administered small-molecule multitargeted tyrosine kinase inhibitor for renal cell carcinoma[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2008, 17(2):253-261.

- [8] POLVERINO A, COXON A, STARNES C, *et al.* AMG 706, an oral, multikinase inhibitor that selectively targets vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor, and kit receptors, potently inhibits angiogenesis and induces regression in tumor xenografts[J]. *Cancer Res*, 2006,66 (17): 8715-8721.
- [9] SHANKAR D B, LI J, TAPANG P, *et al.* ABT-869, a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor: inhibition of FLT3 phosphorylation and signaling in acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2007,109(8): 3400-3408.
- [10] SHARMA S, ABHYANKAR V, BURGESS R E, *et al.* A phase I study of axitinib (AG-013736) in combination with bevacizumab plus chemotherapy or chemotherapy alone in patients with metastatic colorectal cancer and other solid tumors[J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(2):297-304.
- [11] SARKER D, MOLIFE R, EVANS T R, *et al.* A phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of TKI258, an oral, multi-targeted receptor tyrosine kinase inhibitor in patients with advanced solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2008,14(7):2075-2081.
- [12] SIEMANN D W, BRAZELLE W D, JÜRGENSMEIER J M. The vascular endothelial growth factor receptor-2 tyrosine kinase inhibitor cediranib (Recentin; AZD2171) inhibits endothelial cell function and growth of human renal tumor xenografts. [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009,73(3):897-903.
- [13] RABBANI S A, VALENTINO M L, ARAKELIAN A, *et al.* SKI-606 (Bosutinib) blocks prostate cancer invasion, growth, and metastasis *in vitro* and *in vivo* through regulation of genes involved in cancer growth and skeletal metastasis. [J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(5):1147-1157.
- [14] DURANTE C, RUSSO D, VERRIENTI A, *et al.* XL184 (cabozantinib) for medullary thyroid carcinoma [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2011, 20(3):407-413.
- [15] ESKENS F A, MOM C H, PLANTING A S, *et al.* A phase I dose escalation study of BIBW 2992, an irreversible dual inhibitor of epidermal growth factor receptor 1 (EGFR) and 2 (HER2) tyrosine kinase in a 2-week on, 2-week off schedule in patients with advanced solid tumours[J]. *Br J Cancer*, 2008,98(1):80-85.
- [16] YANG J L. Nilotibib: A new targeted agent[J]. *Oncol Prog*(癌症进展), 2007,5(2):70-74.
- [17] BOSCHELLI F, ARNDT K, GAMBACORTI-PASSERINI C. Bosutinib: a review of preclinical studies in chronic myelogenous leukaemia[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(10):1781-1789.
- [18] KANTARJIAN H, LE COUTRE P, CORTES J, *et al.* Phase I study of INNO-406, a dual Abl/Lyn kinase inhibitor, in Philadelphia chromosome-positive leukemias after imatinib resistance or intolerance[J]. *Cancer*, 2010,116(11):2665-2672.
- [19] ZHANG J, ADRIÁN F J, JAHNKE W, *et al.* Targeting Bcr-Abl by combining allosteric with ATP-binding-site inhibitors[J]. *Nature*, 2010,463(7280):501-506.
- [20] DONATO N J, FANG D, SUN H, *et al.* Targets and effectors of the cellular response to aurora kinase inhibitor MK-0457 (VX-680) in imatinib sensitive and resistant chronic myelogenous leukemia[J]. *Biochem Pharmacol*, 2010,79(5):688-697.
- [21] GONTAREWICZ A, BRÜMMENDORF T H. Danusertib (formerly PHA-739358)-a novel combined pan-Aurora kinases and third generation Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitor. Recent Results[J]. *Cancer Res*, 2010,184:199-214.
- [22] KOSAKA T, YATABE Y, ENDOH H, *et al.* Analysis of epidermal growth factor receptor gene mutation in patients with non-small cell lung cancer and acquired resistance to gefitinib [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(19):5764-5769.
- [23] JANNE P A, GRAY N, SETTLEMAN J. Factors underlying sensitivity of cancers to small-molecule kinase inhibitors[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009,8(9):709-723.
- [24] LI D, SHIMAMURA T, JI H, *et al.* Bronchial and peripheral murine lung carcinomas induced by T790M-L858R mutant EGFR respond to HKI-272 and rapamycin combination therapy[J]. *Cancer Cell*, 2007,12(1):81-93.
- [25] SEQUIST L V, BESSE B, LYNCH T J, *et al.* Neratinib, an irreversible pan-ErbB receptor tyrosine kinase inhibitor: results of a phase II trial in patients with advanced non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010,28(18):3076-3083.
- [26] BURSTEIN J, SUN Y, DIRIX Y, *et al.* Neratinib, an irreversible ErbB receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced ErbB2-positive breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010,28(8):1301-1307.
- [27] WISSNER A, MANSOUR T S. The development of HKI-272 and related compounds for the treatment of cancer [J]. *Arch Pharm* 2008,341(8):465-477.
- [28] GENDREAU S B, VENTURA R, KEAST P, *et al.* Inhibition of the T790M gatekeeper mutant of the epidermal growth factor receptor by EXEL-7647 [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(12):3713-3723.
- [29] RIZVI N A, KRIS M G, MILLER V A, *et al.* Activity of XL647 in clinically selected NSCLC patients (pts) enriched for the presence of EGFR mutations: Results from Phase 2 [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(18 suppl):437.
- [30] MILLER V A, WAKELEE H A, LARA P N, *et al.* Activity and tolerance of XL647 in NSCLC patients with acquired resistance to EGFR-TKIs: Preliminary results of a phase II trial [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(18 suppl):430.
- [31] LI D, AMBROGIO L, SHIMAMURA T, *et al.* BIBW2992, an irreversible EGFR/HER2 inhibitor highly effective in preclinical lung cancer models[J]. *Oncogene*, 2008,27(34):4702-4711.
- [32] YANG C, SHIH J, CHAO T, *et al.* Use of BIBW 2992, a novel irreversible EGFR/HER2 TKI, to induce regression in patients with adenocarcinoma of the lung and activating EGFR mutations: Preliminary results of a single-arm phase II clinical trial [J]. *J Clin Oncol*, 2008,26(18 suppl):430.
- [33] JANNE P A, SCHELLENS J H, ENGELMAN J A, *et al.* Preliminary activity and safety results from a phase I clinical trial of PF-00299804, an irreversible pan-HER inhibitor, in patients (pts) with NSCLC [J]. *J Clin Oncol*, 2008,26(18 suppl):430.
- [34] ENGELMAN J A, ZEJNULLAHU K, GALE C M, *et al.* PF00299804, an irreversible pan-ErbB inhibitor, is effective in lung cancer models with EGFR and ErbB2 mutations that are resistant to gefitinib [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(24):11924-11932.
- [35] GONZALES A J, HOOK K E, ALTHAUS I W, *et al.* Antitumor activity and pharmacokinetic properties of PF-00299804, a second-generation irreversible pan-ErbB receptor tyrosine kinase inhibitor [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008,7(7):1880-1889.
- [36] HERBST R S, SUN Y, EBERHARDT W E. Vandetanib plus docetaxel versus docetaxel as second-line treatment for patients with advanced non-small-cell lung cancer (ZODIAC): a double-blind, randomised, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2010,11(7):619-626.
- [37] NATALE R B, THONGPRASERT S, GRECO F A, *et al.* Phase III trial of vandetanib compared with erlotinib in patients with previously treated advanced non-small-cell Lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2011,29(8):1059-1066.

(收稿日期:2011-05-31)