

已上市和部分正在III期临床开发中的多靶点激酶抑制剂抑酶谱及信号传导通路分析

吴文, 卢骋, 陈思宇, 余聂芳*

(中南大学药学院分子设计与药物发现研究所, 湖南 长沙 410013)

摘要: 细胞的信号传导在细胞的代谢、分化以及死亡的过程中起着重要的作用。肿瘤的发生和发展与细胞信号的过度表达有关。以蛋白激酶为靶点的抗肿瘤治疗现已成为肿瘤研究中十分活跃的领域。目前作为抗癌药物已经上市及正在临床开发中的激酶抑制剂多数为多靶点抑制剂。多靶点激酶抑制剂能够同时抑制多个细胞信号转导通路, 从而使得肿瘤细胞在多个方面受到抑制。多靶点激酶抑制剂在疗效和控制耐受性方面具有一定的优势。本文对已经上市及部分正在 III 期临床开发中的多靶点激酶抑制剂的抑酶谱及其信号传导通路进行综述分析。

关键词: 肿瘤; 多靶点; 激酶抑制剂; 信号传导通路; 抗肿瘤药物

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 03-0242-16

The signal transduction pathway of multi-target kinase inhibitors as anticancer agents in clinical use or in phase III

WU Wen, LU Cheng, CHEN Si-yu, YU Nie-fang*

(Institute of Molecular Design and Drug Discovery, School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract: Signal transduction in cells plays an important role in the process of cellular metabolism, segmentation, differentiation, biological behaviors and cell death. Direct and indirect involvement of kinases in tumor growth, metastasis and apoptosis make them the most promising targets for anticancer discovery. Most of the kinase inhibitors in clinical use or in late development stages are multi-target kinase inhibitors (MTKIs). These MTKIs are demonstrated to exert potent anti-tumor effects through several different pathways. This review presents in the view of a medicinal chemistry point, a brief account and analysis of transduction pathways of representative MTKIs in clinical use or in late development stages.

Key words: tumor; multi-target; kinase inhibitor; signal transduction; anticancer agents

自从 20 世纪 80 年代以后, 抗癌药物研究的热点逐步从抑制 DNA 的合成转移到了抑制激酶的催化活性上。BCR-ABL 是第一个被鉴定为可以作为抗癌靶点的激酶。诺华公司 (Novartis) 的科学家们经过了近 10 年的努力, 发现了 BCR-ABL 抑制剂的先导化合物。在此基础上, 于 1992 年设计并合成出了 imatinib

(表 1, 化合物 1)^[1]。诺华公司的努力及其取得的进展吸引了全球的注意。人们对癌细胞的细胞转导机制进行了大量的研究, 从而开发出了以 imatinib 为代表的一系列以激酶为靶点的抗癌药物。此外, 还有众多的候选药物在临床开发研究中 (<http://www.fda.gov>)。

由于激酶的活性结合部即 ATP 结合部极为相似, 因此, 在激酶抑制剂作为抗肿瘤药物的开发过程中, 对激酶的高选择性往往是主要考察指标之一。理论上, 高选择性的激酶抑制剂作为抗肿瘤药物, 其毒

收稿日期: 2009-01-07.

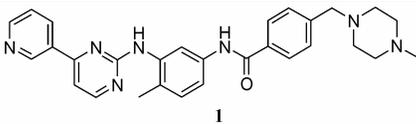
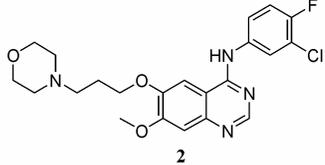
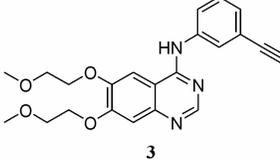
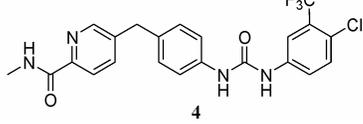
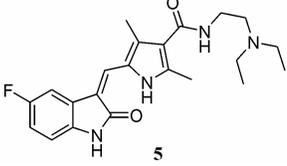
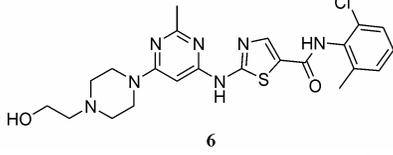
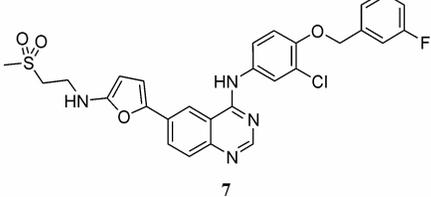
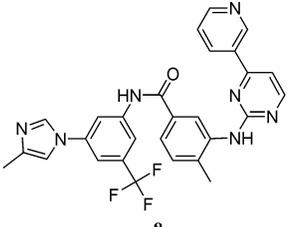
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772645, 30873137).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-731-2650458, E-mail: niefang_yu@yahoo.com

副作用似乎应该更低。但是, 由于至今仍然缺乏高度选择性、仅仅作用于单一激酶的抑制剂, 因此选择性越高毒性越低的思考方向有待证明。另一方面, 激酶抑制剂的毒性来源于缺乏高度选择性的新型抗癌药物的推断也没有得到验证。相反地, 在包括抗癌药物在内的一些治疗领域, 越来越多的实验结果直接挑战

了“一病一靶点、一药一靶点”的传统模式^[2]。尤其是在激酶抑制剂作为抗癌药物的开发实践中, 大多激酶抑制剂都为多靶点抑制剂。不过, 它们所涉及的信号传导是有所区别的。本文就目前作为抗癌药物已经上市以及部分在 III-期临床试验中的激酶抑制剂的抑酶谱及信号传导进行简单分析综述。

表 1 已上市的多靶点激酶抑制剂

名称	结构	上市公司 (上市时间)
Imatinib		Novartis (FDA Approved in May 10, 2001)
Gefitinib		AstraZeneca (FDA Approved in May 5, 2003)
Erlotinib		OSI (FDA Approved in November 18, 2004)
Sorafenib		Bayer (FDA Approved in December 20, 2005)
Sutent		Pfizer (FDA Approved in January 26, 2006)
Dasatinib		Bristol-Myers Squibb (FDA Approved in June 8, 2006)
Lapatinib		Glaxosmithkine (FDA Approved in March 13, 2007)
Nilotinib		Novartis (FDA Approved in October 29, 2007)

1 已上市的激酶抑制剂的抑酶谱及其信号传导通路

1.1 Imatinib (Gleevec)

Imatinib (Gleevec) 是由 Novartis 公司化学研发组在 20 世纪 90 年代发现的。Imatinib 与 ABL 蛋白晶体模型有很好的契合性, 通过多个氢键的形式, 牢牢占据了 ABL 蛋白激酶区的 ATP 口袋, 阻碍 ATP 与 ABL 的结合, 从而抑制其激酶活性 (图 1), 阻断下游信号的传导^[3]。

Imatinib 被认为是第一个通过合理药物设计发展而来的药物。Imatinib 的先导化合物为 2-苯胺嘧啶的衍生物 **9** (图 2)。该化合物是诺华公司利用高通量技术筛选 PKC 抑制剂时发现的。化合物 **9** 具有良好的成药性及足够的潜在多样性。在结构改造中发现, 在苯胺环上引入酰胺基团, 即可提高相应衍生物 **10** (图 2) 的抑制 BCR-ABL 的活性^[4-6]。而在苯胺衍生物的 6-位上引入甲基所得化合物 **11**, 则可以消除 PKC 的抑制活性, 进一步结构优化从而发现了 imatinib。

Imatinib 对慢性粒细胞性白血病 (CML) 具有明显的疗效, 最终在 2001 年 5 月由 FDA 审批上市^[4]。

Imatinib 主要是针对 BCR-ABL 而展开研究的。BCR-ABL 在肿瘤细胞的形成与发展过程中起主要作用。Imatinib 通过与 BCR-ABL 的 ATP 结合位点结合, 使其失去磷酸化的催化活性。但是, 事实上, imatinib 并非仅仅抑制 BCR-ABL。据报道, 在所测试的 518 种激酶中, imatinib 在较低的 $K_d < 10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下主要抑制 ABL-1、ABL-2 和 DDR-1。但是, 在 K_d 为 $10\sim 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 则能抑制 13 种不同的激酶, 详见图 3^[7]。

由于各种激酶所影响信号转导通路有所不同, imatinib 主要通过同时抑制细胞膜上 PDGFR、c-Kit 受体激酶以及细胞内 BCR-ABL 酪氨酸激酶, 达到抑制下游 Ras/Raf/MEK、JAK/STAT 和 PI-3K/Akt 三条细胞信号转导通路, 从而抑制癌细胞增殖、促进癌细胞凋亡和抑制肿瘤血管生成。但是, 值得注意的是,

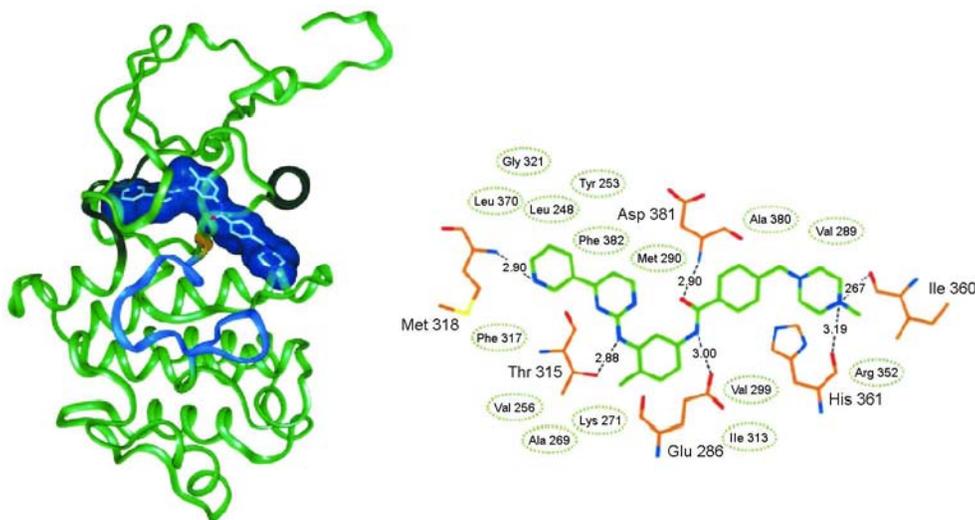


图 1 Imatinib 与 ABL 激酶结合图

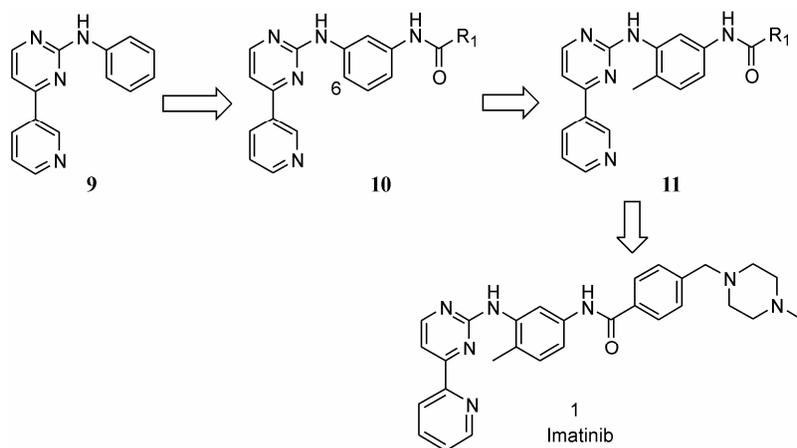


图 2 Imatinib 的开发过程

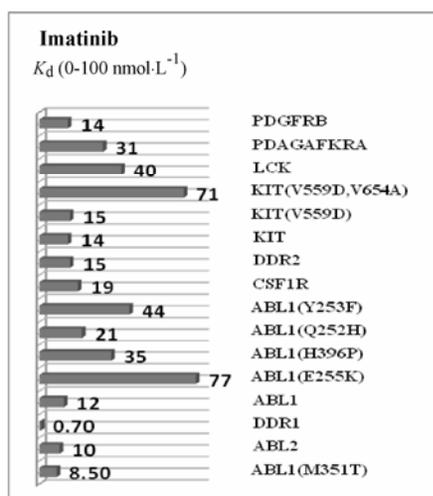


图 3 Imatinib 对部分激酶的抑制活性 (K_d 's in $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

imatinib 对正常细胞则没有影响^[8, 9]。

在临床上, 目前 imatinib 用于 BCR-ABL 过度表达的慢性粒细胞性白血病 (CML), 更多的适应症仍在开发中^[3]。

1.2 Gefitinib

Gefitinib (ZD1839, 表 1, 化合物 2) 是阿斯利康公司针对 EGFR (细胞表皮生长因子受体) 开发的抑制剂, 于 2003 年由 FDA 审批上市。在治疗人体实体肿瘤方面疗效优异。EGFR 是跨膜受体, 属于 HER 受体家族, 在正常人体细胞中通过调节组织形成和分化促进器官组织生长, 但在乳腺癌、头颈癌、非小细胞肺癌、前列腺癌等实体肿瘤中过度表达或以变异体高度表达^[10]。

与 imatinib 不同, gefitinib 的抑酶谱相对较窄。共结晶研究表明, gefitinib 对于肺癌有关的 EGFR 突变异构酶具有极强的结合能力 (图 4)^[11]。在所测试的 518 种激酶中, K_d 在 $10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下的有 EGFR 及其异构酶。 K_d 在 $10\sim 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内, gefitinib 还能抑制 GAK ($K_d = 13 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。在更高浓度还能抑制 FLT3 ($K_d = 1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 等激酶 (图 5)^[7]。

已知 EGFR 受体的配基可分为三类: 与 EGFR 结合的细胞表皮生长因子 (EGF)、转化生长因子 TGF- β 和双向调节因子, 与 EGFR 和 ErbB4 相互作用的 β -动物纤维素, 肝磷脂结合因子等物质。这些配体以单体或二聚体随机性的与 EFGR 结合, 形成同源多聚体或异源多聚体, 使得细胞表皮生长受体对其他配体关闭, 导致分子内区域 N-末端自磷酸化, 而酪氨酸激酶磷酸化的残基可以和第二信使蛋白结合, 被激活后从而引发一系列的信号转导, 如 Ras/Raf, PI3K/AKT 等^[12]。也有报道认为 gefitinib 对 STATS 相关信

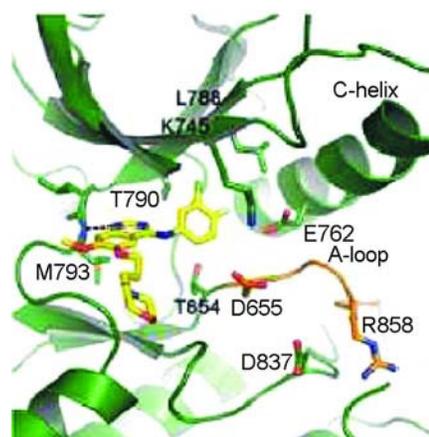


图 4 Gefitinib 与 EGFR 突变株 L858R 的相互作用

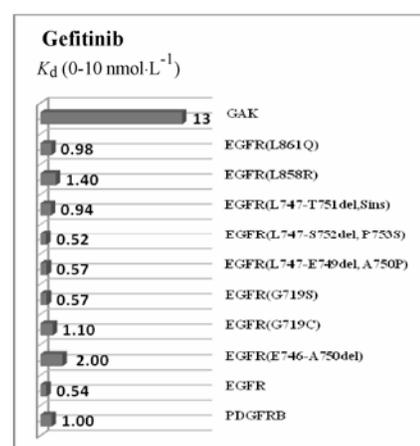


图 5 Gefitinib 对部分激酶的抑制活性 (K_d 's in $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

号转导通道有一定的影响^[13]。但由于酶抑制活性相差较大, 所以其抗癌活性主要是通过抑制细胞膜上 EGFR 受体激酶的活化, 阻断 Ras/Raf/MEK、PI-3K/Akt 两条细胞信号转导通路从而抑制癌细胞增殖、促进癌细胞凋亡和抑制肿瘤血管, 达到抗癌的目的。

临床上, gefitinib 主要用于治疗晚期肺癌。但是, gefitinib 的临床疗效不高, 并且容易产生耐药^[14]。这是否与其选择性有联系, 目前尚未见文献报道。

1.3 Erlotinib

Erlotinib (表 1, 化合物 3) 也是一种表皮生长因子受体-酪氨酸激酶 (EGFR-TK) 拮抗剂, 属小分子化合物, 于 2004 年由 FDA 审批上市。Erlotinib 通过其结构上的三个部分竞争性的结合于 EGFR 受体的 ATP-结合位点: ① 侧链炔键结合于受体由 Thr766 所形成的口袋中; ② 喹唑啉环的 N1 与 Met769 上的酰胺键形成氢键结合; ③ 喹唑啉环的 N3 与 Thr766 侧链形成亲水氢键结合。由于 ErbB (EGFR 家族成员之一) 酪氨酸的磷酸化需要与 ATP 结合位点结合才能进行, erlotinib 阻断了 ErbB 酪氨酸磷酸化过程, 从而

阻断了下游信号转导过程的发生,抑制了细胞的异常增殖,促使细胞凋亡^[15]。

在抑酶谱实验中发现,erlotinib 主要抑制 EGFR 家族激酶 ($K_d < 10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。另外对 LOK 和 SLK 也有很强的作用。此外,erlotinib 对 ABL ($K_d: 100\sim 300 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 FLT ($K_d: 100\sim 300 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 等激酶也有良好的抑制作用。Erlotinib 在更高浓度时,能抑制的激酶更多(图 6)^[17]。

细胞因子等异常配体与表皮生长因子受体(特别是 ErbB 酪氨酸激酶受体)的 ATP 位点结合,导致受体的二聚化,二聚化的受体激活了细胞内的酪氨酸结构域,受激发的酪氨酸引起受体自动磷酸化,从而激活下游 Ras-MAPK 和 Akt/PI-3K 信号转导过程的发生,引起细胞的异常增殖^[16]。此外,erlotinib 可能通过抑制 ABL 及 FLT 双重阻断 PI-3K/Akt 的信号转导通路。

临床上, Erlotinib 可以用于有效治疗原发性或者复发的晚期非小细胞肺癌,主要用于治疗晚期肺癌^[17]。

1.4 Sorafenib

Sorafenib (表 1, 化合物 4) 是 Bayer 公司研发生产的,于 2005 年由美国 FDA 批准上市的用于治疗初期肾癌和中期肝癌的药物。在该药的研发过程中,从

最初的高通量筛选得到的对 Raf 激酶有抑制活性的化合物^[18],再通过组合化学的方法筛选出具有活性的化合物(图 7, 化合物 12),初步结构修饰得到先导化合物 13。对先导化合物进行结构改造才得到最终的药物(图 7)^[18]。

从图 8 可以看出, sorafenib 主要通过两个部分以氢键与 B-Raf 激酶结合: ① 氨基 N 原子与谷氨酸残

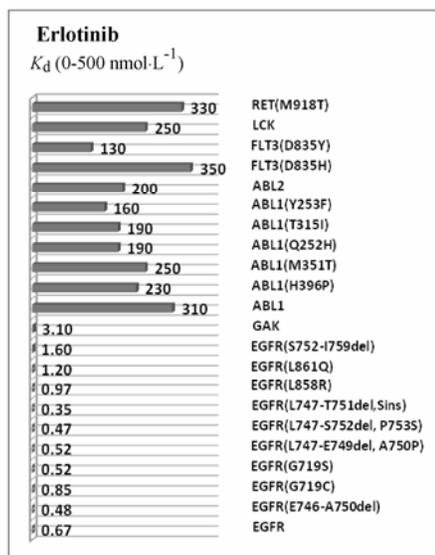


图 6 Erlotinib 对部分激酶的抑制活性 (K_d 's in nmol·L⁻¹)

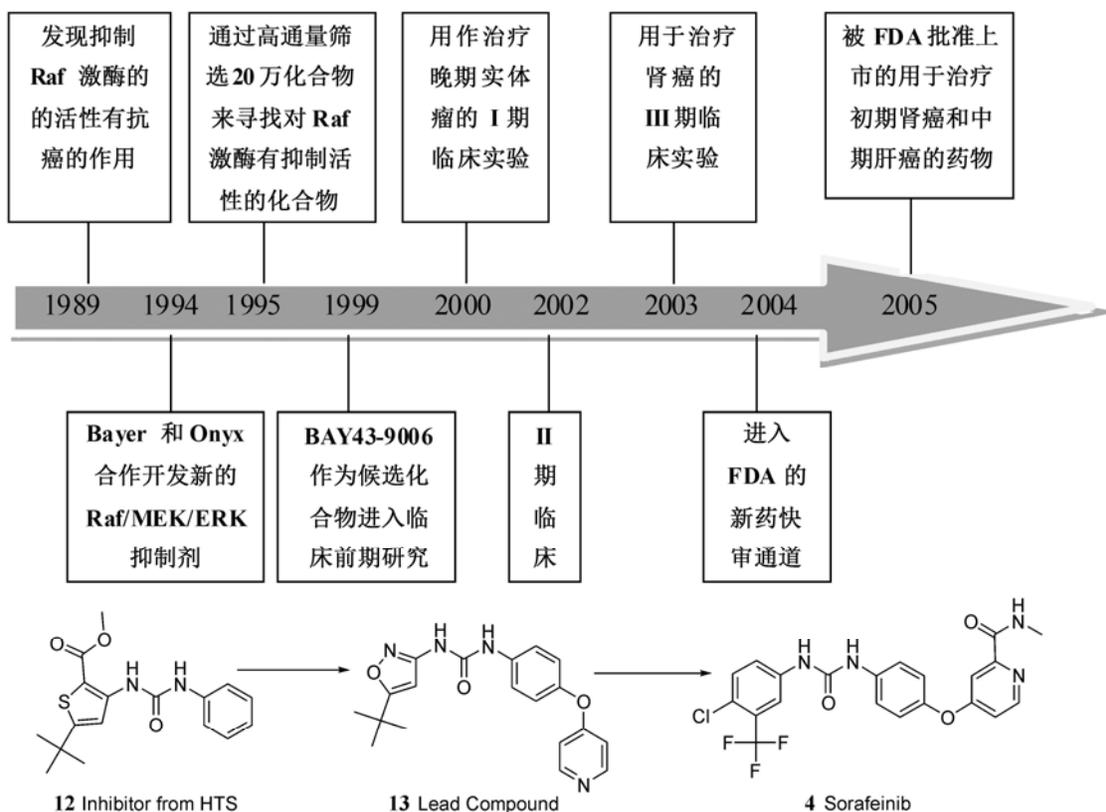


图 7 Sorafenib: 从活性化合物到临床药物

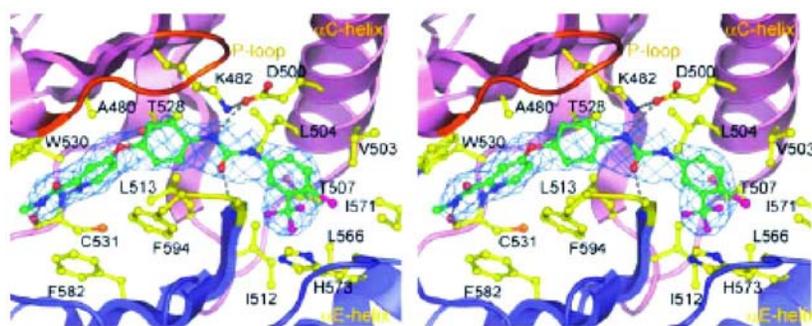


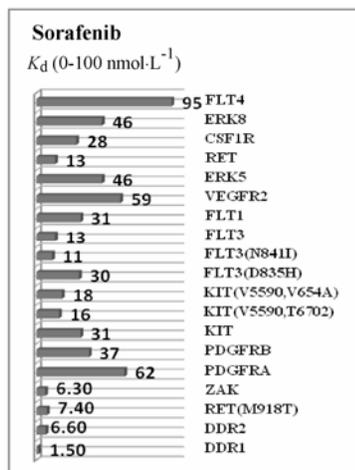
图 8 Sorafenib 与 Raf 激酶相互作用

基 Glu500 的羧基部位以氢键结合; ② 酰胺基上的氧原子与天门冬氨酸 Asp593 的氮原子以氢键结合。除此之外, sorafenib 分子中末梢部位的吡啶环通过范德华力与 Trp530、Phe582 以及 Phe594 的芳香残基作用占据了 ATP 结合口袋; 另一端的三氟甲基则伸进激酶另一侧由 α C、 α E 和末端 N 残基构成的疏水口袋中。这种结合作用使得 B-RAF 激酶不能磷酸化, 从而抑制了其活性^[18]。

在抑酶谱方面, sorafenib 在 $K_d < 10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 主要抑制 DDR1、DDR2 等激酶, 随着浓度的增加, 抑制的激酶的数量增多。当 K_d 在 $10\sim 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 主要抑制 PDGFR、VEGFR、KIT 和 FLT 激酶 (图 9), 当 K_d 在 $100\sim 500 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 抑制了 21 种不同的激酶, 显示出较广的抑酶谱^[7]。

根据抑酶活性大小的不同及不同激酶在细胞信号转导通路中所起的作用不同, sorafenib 主要通过同时抑制细胞膜上 VEGFR2、PDGFR β 、FLT3、c-Kit 受体激酶以及细胞内 ERK1/2 激酶, 抑制下游 Ras/Raf/MEK 和 PI-3K/Akt 两条细胞信号转导通路, 从而抑制癌细胞增殖, 促进癌细胞凋亡, 抑制肿瘤血管生成^[19, 20]。

目前 sorafenib 已用于肾癌、肝癌的治疗, 并且对肾癌、肝癌、黑色素瘤和非小细胞肺癌都有一定的治疗作用^[21]。笔者推测, sorafenib 在临床上的广谱抑癌

图 9 Sorafenib 对部分激酶的抑制活性 (K_d 's in nmol·L⁻¹)

可能与其较广的抑酶谱有关。

1.5 Sunitinib (Sutent)

Sunitinib (Sutent, 表 1, 化合物 5) 是美国 Prifzer 公司研究开发的于 2006 年 2 月由美国 FDA 批准上市的药物^[22], 其药物开发的过程经历了从化合物 14 (新生血管生成抑制剂、VEGFR-2 的特异性抑制剂) 到化合物 15, 最后到 sunitinib 的过程, 即从单一靶点药物到多靶点药物的过程 (图 10)。另一方面, 从改造的过程可以看出, sunitinib 是在化合物 14 的吡咯环上增加了一长链的基团, 增加了化合物的溶解性。这

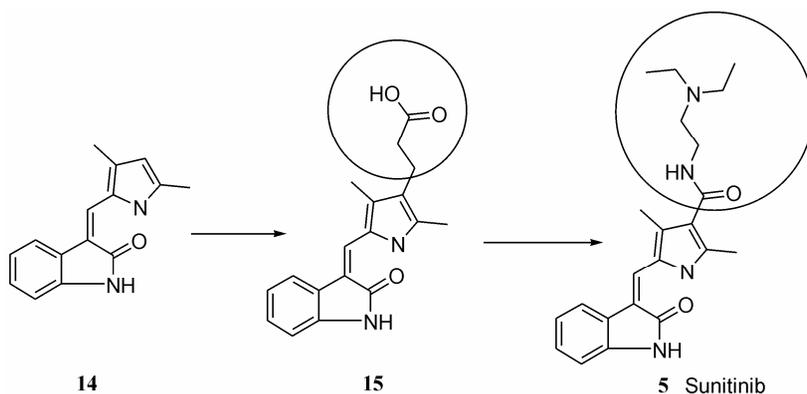


图 10 Sunitinib 的开发过程

也可能是除了多靶点之外, sunitinib 比化合物 **14** 和 **15** 作用效果好的原因之一。

在抑酶谱试验中, sunitinib 在较低的 K_d (<10 nmol·L⁻¹) 下主要抑制 FLT3、Kit、PDGFR 和 VEGFR2 等 18 种不同的激酶, 显示出较强的抑酶活性。而当 K_d 在 $10\sim 100$ nmol·L⁻¹ 时, 则能抑制 44 种不同的激酶。更高浓度时, 则抑制的数量更多 (图 11)^[7]。由此可见, sunitinib 具有较广的抑酶谱。由于 sunitinib 对各种激酶抑制活性相差较大, 故其主要是通过抑制 VEGFR2、PDGFRs、FLT3 和 c-Kit 受体激酶的活性^[22, 23], 抑制了下游 PI-3K/AKT、Ras/Raf/MEK 和 PKCs 三条信号转导通路, 从而抑制癌细胞增殖, 促进肿瘤细胞的凋亡, 抑制肿瘤血管的生成。

在临床应用方面, sunitinib 主要用于治疗肾细胞癌^[24]以及耐 imatinib 的 GIST 患者^[24]。Sunitinib 的抑酶谱较广, 更多临床适应症正在开发中。

1.6 Dasatinib (BMS-354825)

Dasatinib (BMS-354825, 表 1, 化合物 **6**) 是 Bristol-Myers Squibb 公司研究开发的于 2006 年上市的药物。Dasatinib 通过氢键与受体激酶结合, 能同时作用于包括 ABL 在内的多个激酶靶点^[25]。

在 dasatinib 的研发过程中, 发现以噻唑为基本结构的化合物 **16** 具有 LCK 激酶抑制活性。在结构改造中, 将噻唑环上的氨基用不同的杂环替代, 这样得到了具有较好的抑制 Src 家族 (包括 Lck、Fyn、Src、Hck) 活性的化合物 **17**、**18**。进一步的结构改造得到有抑制 Src 和 BCR-ABL 激酶活性的化合物 BMS-334864 (图 12)^[26]。

在抑酶谱实验中, dasatinib 显示出了很广的激酶

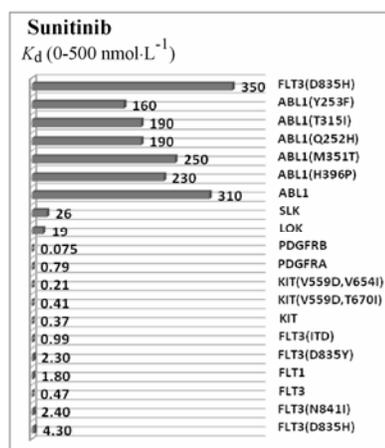


图 11 Sunitinib 对部分激酶的抑制活性 (K_d 's in nmol·L⁻¹)

抑制谱。在 K_d 为 $0\sim 10$ nmol·L⁻¹ 范围内的抑制百分比与其他已上市的激酶抑制剂相比最高 (图 13)^[7], 主要抑制 DDR、EPHA、EPHB 等激酶受体家族, 并且该药在不同的浓度下都能抑制较多数量的激酶。

在细胞信号传导的过程中, dasatinib 主要通过同时抑制细胞膜上 TCR 受体、细胞内 Src 激酶及 BCR-ABL 酪氨酸激酶的活化, 抑制下游 Ras/Raf/MEK、JAK/STAT 和 PI-3K/Akt 三条细胞信号转导通路^[27, 28], 从而抑制肿瘤细胞的生成。

现阶段 dasatinib 主要用来治疗 imatinib 耐药的慢性粒细胞性白血病 (CML) 和急性淋巴细胞白血病 (ALL)^[25]。

1.7 Lapatinib (GW572016)

Lapatinib (GW572016, 表 1, 化合物 **7**) 是 Glaxosmithkine 公司研发的在 2007 年上市的药物, 被 FDA 批准与 capecitabine 联合用药治疗乳腺癌, 是抑

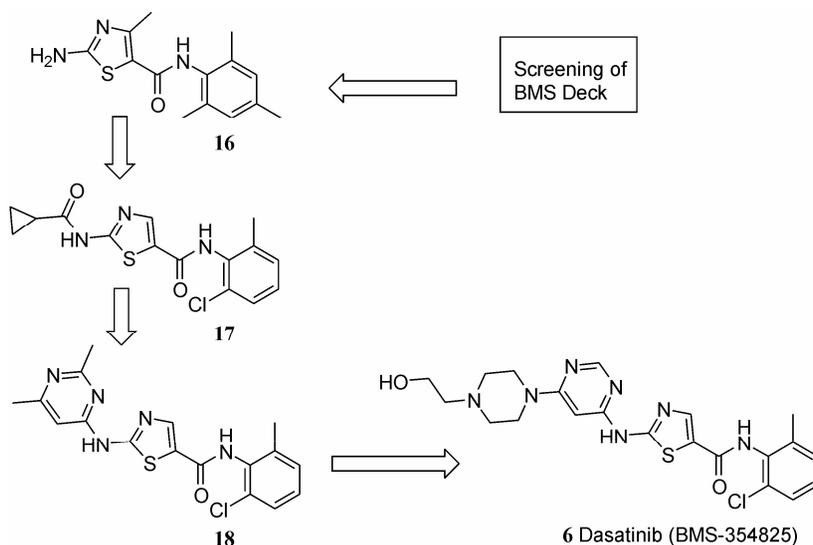


图 12 Dasatinib 的开发过程

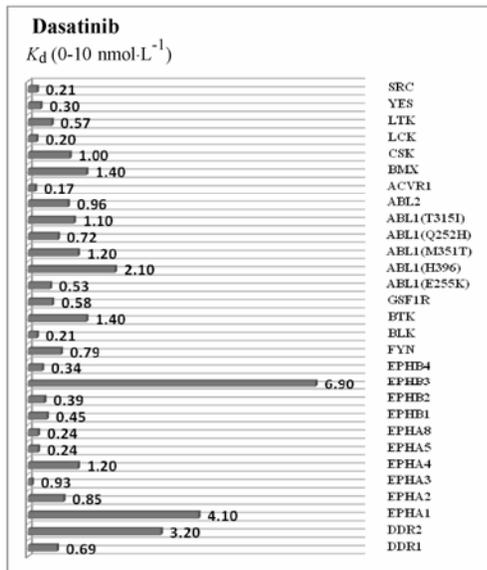


图 13 Dasatinib 对部分激酶的抑制活性 (K_d's in nmol·L⁻¹)

制 EGFR 和 HER2 的酪氨酸激酶抑制剂。

人类 EGFR 家族由 4 个不同的受体酪氨酸激酶 (RTKs) 组成, 分别是 EGFR、HER2、HER3 和 HER4。EGFR 在头颈鳞癌、非小细胞肺癌、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌等多种肿瘤中可出现过度表达, 并可同时伴有 TGF- α 等配体的过多产生, 形成自分泌或旁分泌通路, 持续激活信号转导, HER2 在多种肿瘤中出现过度表达, 导致细胞表面异源二聚体形成增多, 信号转导增强, 它的过度表达会与女性的乳腺癌有关。和 sorafenib 一样, lapatinib 也是一个有效的用来减少癌症导致的乳腺细胞增殖的激酶抑制剂^[29, 30]。

Lapatinib 和其他的 EGFR 抑制剂如 gefitinib 和 erlotinib 在结构上有一个共同的 4-苯胺喹唑啉的母核。据报道, erlotinib 与 EGFR 的 ATP 区域结合的开口比 lapatinib 与 EGFR 的 ATP 区域结合的开口要大, 这个大的口袋在 C helix 的末端 (图 14、15), 有足够的空间来容纳 3-氟苯甲氧基, 3-氟苯甲氧基伸向此空间可能改变了药物分子与激酶的结合力^[30]。

在抑酶谱实验中, lapatinib 在 K_d 小于 10 nmol·L⁻¹ 时, 主要抑制 EGFR 激酶亚型和 ERBB2 激酶, 在更高浓度时, 能抑制激酶的数量也不多 (图 16)^[7]。虽然 lapatinib 的抑酶谱较窄, 但它的抑酶活性较强。

在细胞信号传导方面, lapatinib 主要通过同时抑制细胞膜上 EGFR、HER2 以及 P95HER2 受体激酶的活化, 达到抑制下游 Ras/Raf/MEK、PI-3K/Akt 两条细胞信号转导通路^[29, 31], 抑制癌细胞增殖, 促进癌细胞凋亡, 抑制肿瘤血管生成的结果。

临床上, lapatinib 主要用于转移性乳腺癌的一线治疗^[30]。

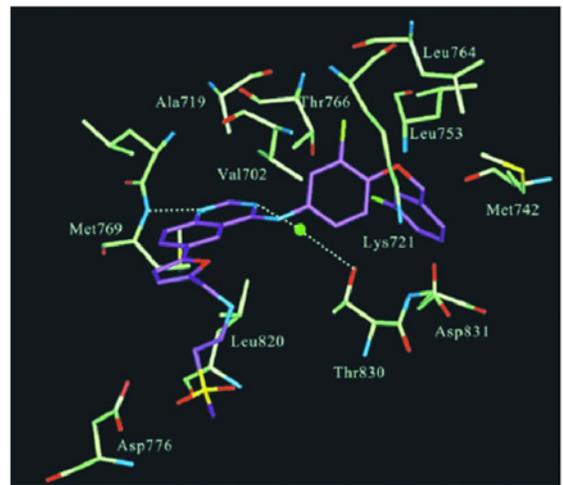


图 14 Lapatinib 与 EGFR 的 ATP 区域结合图. Lapatinib 在图上用紫色表示, 氢键用虚线表示

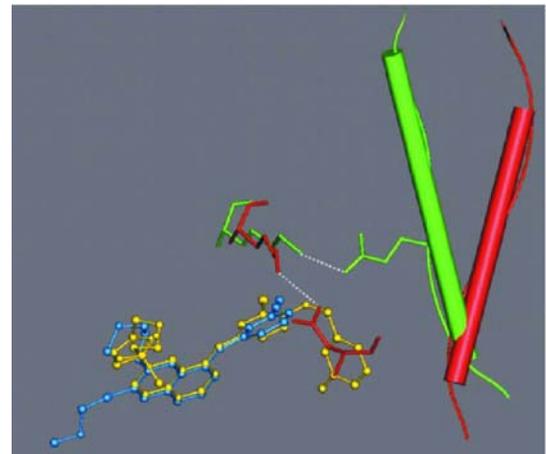


图 15 Lapatinib 和 erlotinib 与 EGFR 结合的区别. Lapatinib 和 erlotinib 分别用黄色和蓝色的球棒模型表示, 红色和绿色分别表示 C helix 与 lapatinib 和 erlotinib 结构的结合, 虚线表示与 Lys721 和 Glu738 在两个 lapatinib 和 erlotinib 之间的氢键

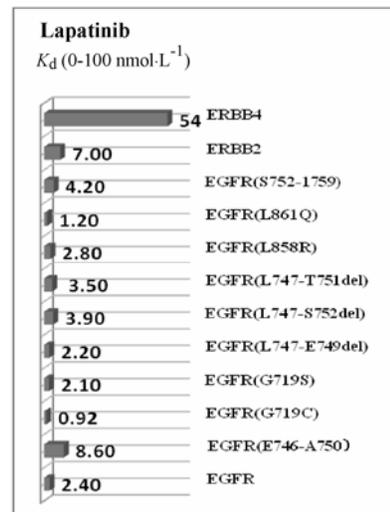


图 16 Lapatinib 对部分激酶的抑制活性 (K_d's in nmol·L⁻¹)

1.8 Nilotinib

Nilotinib (表 1, 化合物 8) 是 Novartis 公司在 2007 上市的酪氨酸激酶抑制剂, 是由 imatinib 分子结构改进而来, 设计的思路是在 imatinib 的分子结构基础上增加药物分子与 ABL 激酶的亲和力, 从而达到更好的抑制效果^[32]。

与 imatinib 类似, nilotinib 为 BCR-ABL 激酶抑制剂, 它与突变的 ABL 激酶的 ATP 结合位点通过多个氢键相结合 (图 17)^[33], 阻断了 ATP 与 ABL 的结合, 从而抑制了激酶活性, 阻断下游 Ras/Raf/MEK、JAK/STAT 和 PI-3K/Akt 三条细胞信号转导通路, 抑制癌细胞增殖, 促进癌细胞凋亡, 抑制肿瘤血管生成。

从图 17 中可以看出, nilotinib 与 imatinib 都以 4 个氢键与激酶结合, 不同的是 nilotinib 的甲基异吡唑基侧链伸向了 Glu286、Lys285 和 Glu282 构成的疏水区域中, 这点不同可能是导致 nilotinib 比 imatinib 抑制更多 ABL 变异激酶的原因^[34]。

由于 nilotinib 对 ABL 激酶具有比 imatinib 更好的抑制活性, 临床上 nilotinib 主要用于对 imatinib 耐

药或不耐受的慢性粒细胞性白血病。同时 nilotinib 还应用于难治性或复发的 Ph 染色体阳性的急性淋巴细胞性白血病、胃肠道基质细胞瘤以及初治的系统性肥大细胞增多症等, 更多的适应症仍在开发中^[35]。

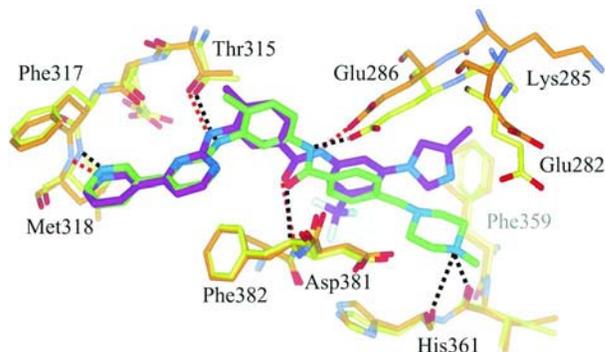


图 17 Nilotinib 和 imatinib 与 ABL 的相互作用. 紫色部分代表 nilotinib, 绿色部分代表 imatinib, 黄色部分代表 ABL 激酶与药物的结合部位, 橙色部分代表 ABL^{M351T} 激酶 (ABL 激酶的变异体) 的结合部位, 红色虚线表示 nilotinib 与 ABL^{M351T} 激酶相结合的氢键, 黑色虚线表示 imatinib 与 ABL 激酶相结合的氢键

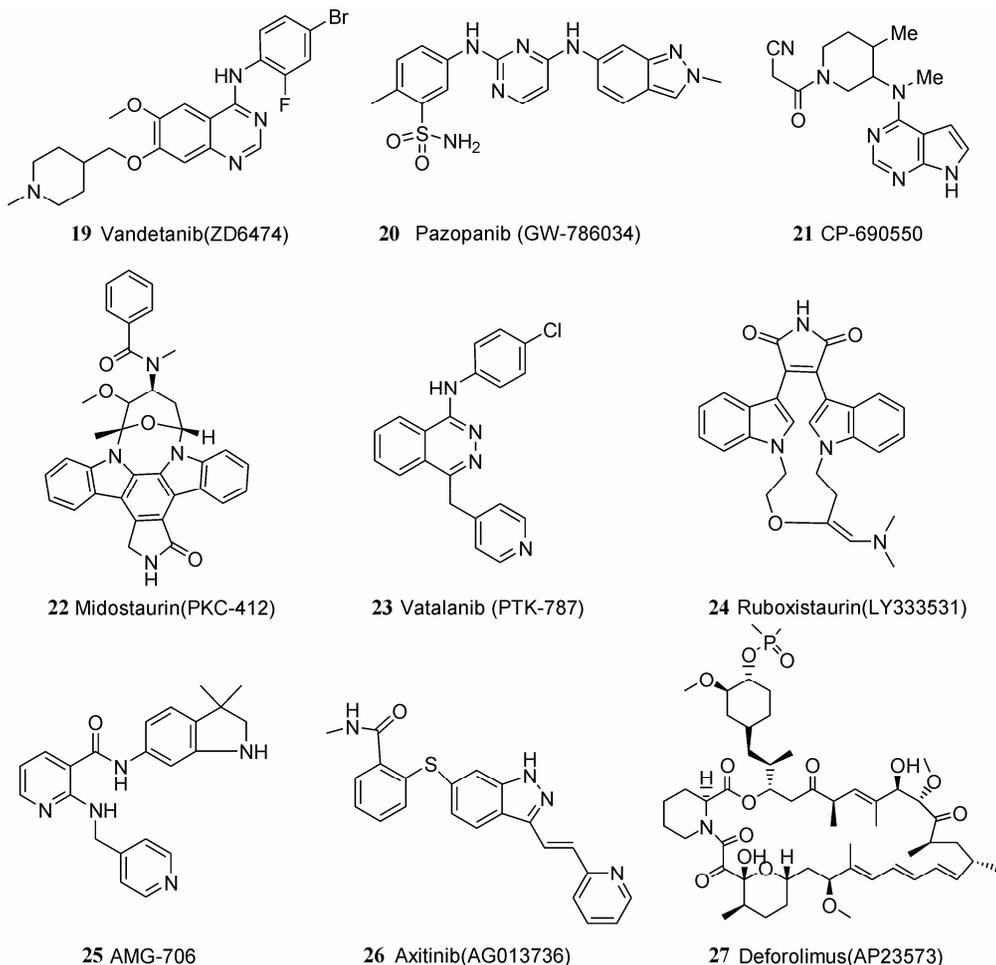


图 18 III 期临床的多靶点激酶抑制剂

2 部分 III 期临床试验中的激酶抑制剂的抑酶谱及其信号转导通路

2.1 Vandetanib

Vandetanib (ZD6474, 图 18, 化合物 19) 是 Astra Zeneca 公司研制开发的治疗髓质型甲状腺药物^[36], 能同时作用于 VEGFR、EGFR、RET 等多个靶点, RET 对某些类型的甲状腺癌是重要的生长驱动因子^[37]。

Vandetanib 具有较广的激酶抑制谱(图 19)^[7]。它在低浓度下主要抑制 EGFR 家族。在高浓度下, 则抑制 ABL、RET、Src 等在传导中有着重要作用的激酶。该药物是通过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的靶向抗肿瘤药物^[38, 39]。

在临床上该药除了应用于甲状腺癌之外, 在治疗非小细胞肺癌上, 临床结果表明该药与抑酶谱较窄的 gefitinib 相比更有效^[40]。

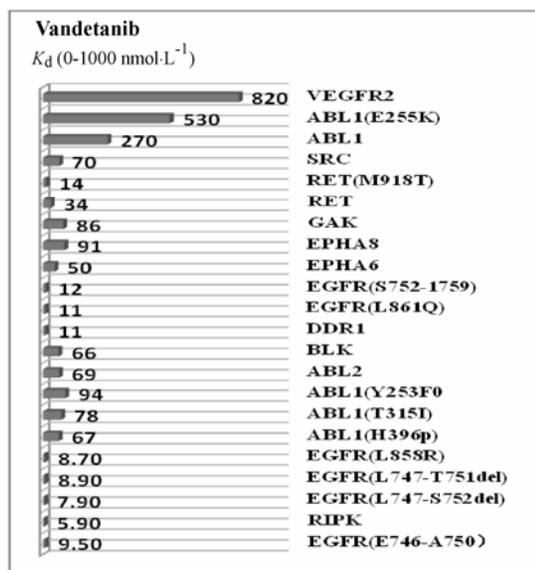


图 19 Vandetanib 对部分激酶的抑制活性 (K_d 's in $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

2.2 Pazopanib

Pazopanib (GW-786034, 图 18, 化合物 20) 是葛兰素史克公司针对肾细胞癌研发的药物, 目前已进入临床 III 期研究^[41]。临床 II 期研究表明, pazopanib 对未经处理或者经过氧氨嘧啶预处理的肾癌细胞 (RCC) 有良好的抑制作用^[42], 它的主要作用靶点是 VEGFR、PDGFR 以及 c-Kit 激酶受体。

在抑酶谱试验中, GW-786034 能较好地抑制 Kit、PDGFR 等 6 种不同的激酶 ($K_d < 10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 而当 K_d 在 $10\sim 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 则能抑制 9 种不同的激酶 (图 20)^[7]。

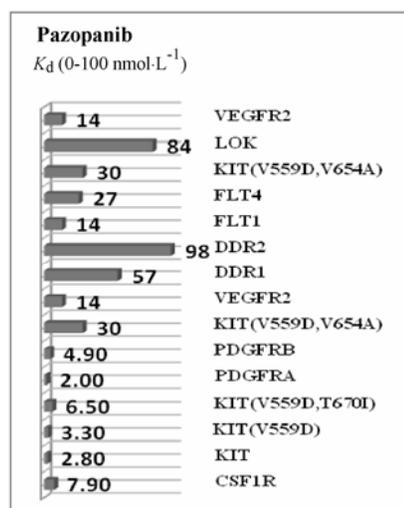


图 20 Pazopanib 对部分激酶的抑制活性 (K_d 's in $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

2.3 CP-690550

CP-690550 (图 18, 化合物 21) 是新型的 JAK1、JAK2、JAK3 激酶抑制剂^[43], 是 Pfizer 公司从具有对 JAK3 激酶有活性的原始化合物中经过筛选、结构改造而得到的。目前对于该化合物的研究已进入临床 III 期^[44]。经过前期的研究发现, CP-690550 是良好的 JAK 激酶的抑制剂, 通过阻断 JAK1、JAK2、JAK3 激酶的活化阻断肿瘤细胞的下游信号转导通路^[45], 抑制肿瘤的生长。

据报道, 在所测试的 518 种激酶中, CP-690550 在较低的 $K_d (< 10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1})$ 下主要抑制 JAK2、JAK3、DCAMKL3 等 3 种不同的激酶, 对 JAK 激酶的选择性比较明显 (图 21)^[7]。

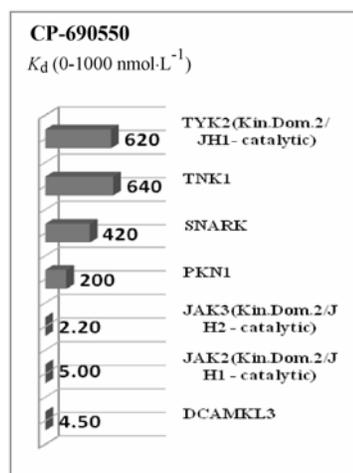


图 21 CP-690550 对部分激酶的抑制活性 (K_d 's in $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

2.4 Midostaurin

Midostaurin (PKC412, 图 18, 化合物 22) 是 Novartis 公司研究开发的抗肿瘤药物。目前已经进入

III 期临床，主要与其他药物联合应用于白血病的治
疗^[46]。研究表明，midostaurin 为 PKC、FLT3、KIT、
VEGFR 和 PDGFR 蛋白激酶抑制剂，通过阻断激酶
的活化抑制肿瘤细胞的分化与增殖^[46, 47]。

据报道，在所测试的 518 种激酶中，midostaurin
在较低的 K_d ($<10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 下主要抑制 FLT3、KIT、
PKN1 等 4 种不同的激酶。当 K_d 在 $10\sim 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
时，则能抑制 27 种不同的激酶（图 22）^[7]。

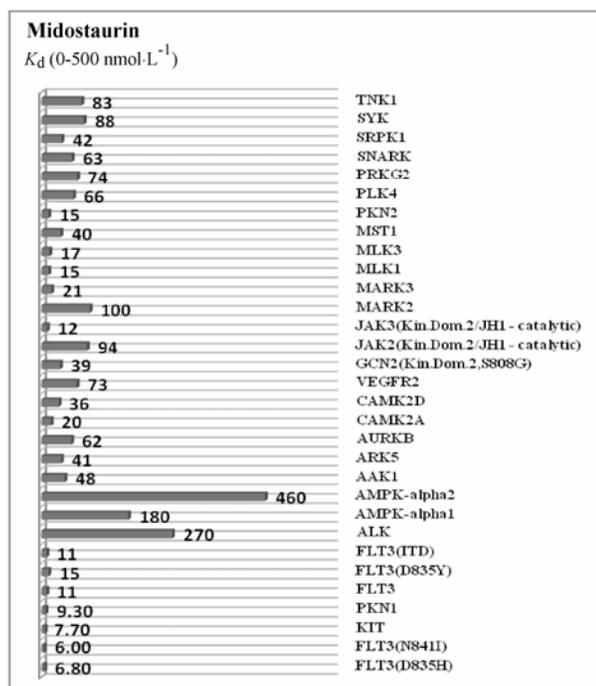


图 22 Midostaurin 对部分激酶的抑制活性 (K_d 's in $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

2.5 Vatalanib (PTK-787)

Vatalanib (PTK-787, 图 18, 化合物 23) 是由
Novartis 和 Bayer 公司共同研发的多靶点血管生成抑
制剂，它是一种氨基酞嗪结构的化合物^[48]，vatalanib
与 ZD6474 同属于 VEGF 抑制剂，从结构上分析，两者
有共同的喹啉结构。基于此母核的生物活性，Lu
等^[49]用苯并三嗪结构替换，并引入烷氧基或短链甲
氧基合成的新系列衍生物，同样对测试的癌细胞有较
好的抑制活性。

作为有口服活性的血管生成抑制剂，vatalanib 能
够抑制 VEGF 的已知亚型 VEGF1、VEGF2 和 VEGF3。
但它对 VEGF2 的抑制作用最强。PTK787 同样抑制
属于同家族的蛋白酪氨酸激酶，包括血小板生长因子
(PDGF) 受体酪氨酸激酶、c-Kit 激酶和 c-fms^[50]。在
 $K_d < 10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围，PTK-787 主要抑制 FLT1 和
KIT，而当 K_d 在 $10\sim 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围，其可抑制
VEGFR2 等激酶，且对 KIT 变异型 KIT (V559D) 也
有较好的抑制活性（图 23）^[7]。

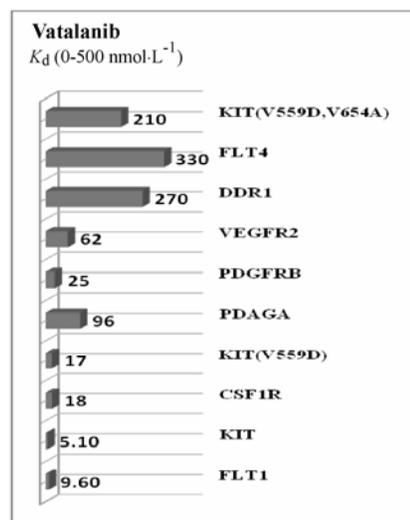


图 23 Vatalanib 对部分激酶的抑制活性 (K_d 's in $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

目前 vatalanib 在临床上应用于结肠癌、原发
性肿瘤及实体肿瘤的治疗^[51]。最近几年采用动态
对比增强分子磁共振成像 (DCE-MRI) 技术作为生
物标记来研究药物对癌细胞的动态影响^[52]，观察到
vatalanib (PTK-787) 在小鼠肾癌细胞及转移模型中减
少肿瘤细胞血管的流量，抑制癌细胞生长及扩散，
Bazelaire 等将 vatalanib 应用于临床试验，可以抑制
肾癌细胞的转移。

2.6 Ruboxistaurin

Ruboxistaurin (LY333531, 图 18, 化合物 24) 是
由 Eli Lilly 公司开发^[53]，用于治疗糖尿病性视网膜
病变的一类有大环双顺丁烯二酰亚胺结构的新化合
物^[54]，LY333531 是从天然化合物 staurosporine 结构
改造而来，是由 staurosporine 的内酰胺结构改造为
顺丁烯二酰亚胺结构，并在其天然结构上去除了吡
啶环间的共价键（图 24）得到的。结构改造后得到
的 LY333531 不仅较原化合物 staurosporine 更易合成，
而且生物选择性也得到了提高^[55]。

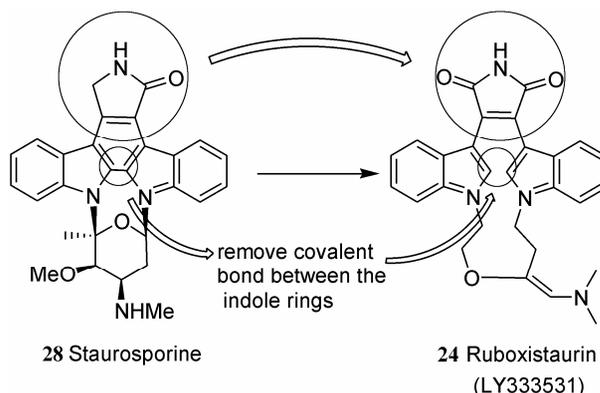


图 24 Ruboxistaurin 的开发过程

Ruboxistaurin (LY-333531) 能抑制 PKC 激酶各亚型的活性, 在 $K_d < 10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对 PRKCD 和 PRKCE 的抑制活性很高, 分别为 3.6 和 2.5; 在 $10\sim 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 可抑制 PIM3、ERK8 等激酶 (图 25)^[7]。Ruboxistaurin 用于治疗糖尿病黄斑水肿和糖尿病肾病^[56]的临床研究目前也在进行中。

2.7 其他 III 期临床的多靶点激酶抑制剂

AMG-706 (图 18, 化合物 25) 是 Amgen 开发的多靶点抑制剂^[57], 它作用于 EGFR1/FLT1、VEGFR2/Flk-1、VEGFR3/FLT4、PDGF 和 c-Kit 靶点。临床试验表明 AMG 706 是口服生物活性高、耐受性较强的多靶点激酶抑制剂, 现用于治疗各种人体恶性肿瘤^[58]。Axitinib (AG013736, 图 18, 化合物 26) 是 Pfizer 公司开发的一种 VEGFR-1,2,3、PDGFR 和 cKIT 受体抑制剂^[59], 临床可用于实体瘤的治疗, 并在临床研究

中发现对于转移性的肾细胞瘤有抑制活性^[60]。

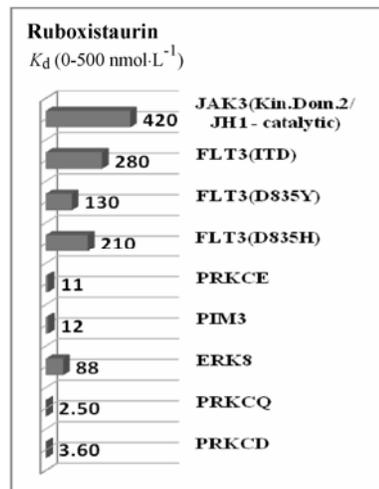


图 25 Ruboxistaurin 与部分激酶结合活性图(K_d 's in $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

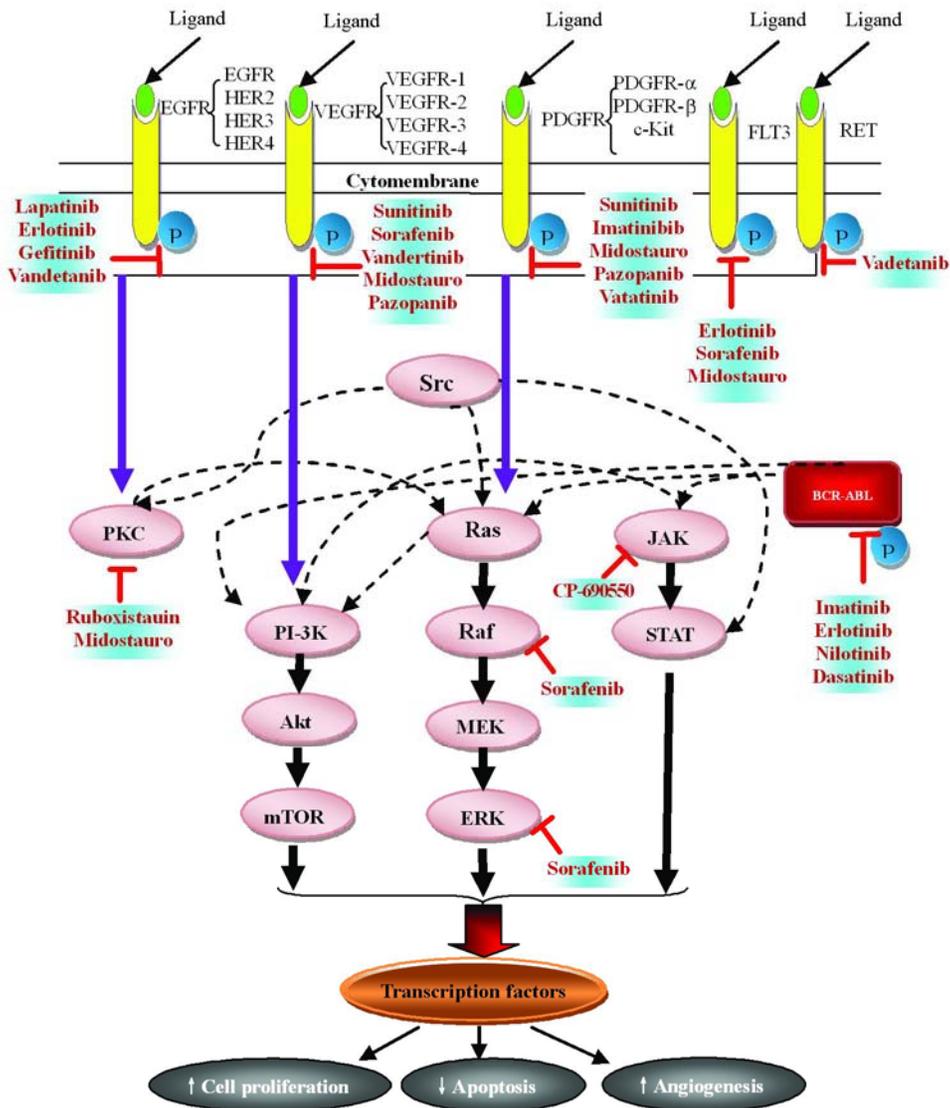


图 26 激酶介导的细胞信号传导途径示意图

Deforolimus (AP23573, 图 18, 化合物 27) 是 Ariad 和 Merck 公司联合研制的作用于 mTOR、Src 等靶点的抑制剂^[61], 在 2008 年被 FDA 批准用作多发性的软组织和骨肉瘤的化疗研究^[62]。

XL184 是 Exelixis 公司研究开发的抗癌药物, 目前已进入临床 III 期研究, 用于治疗甲状腺癌的研究^[46]。前期的研究表明, XL184 是一个有效的 VEGFR2、MET 和 RET 激酶的抑制剂^[63], 并且对 gefitinib 耐药的非小细胞肺癌的癌细胞具有抑制作用^[64]。

3 多靶点激酶抑制剂的信号转导通路分析

总结已上市和部分正在 III 期临床开发的多靶点激酶抑制剂的传导通路, 可以得到图 26。

位于细胞膜上的受体激酶有表皮生长因子受体家族 (EGFR), 血小板衍生生长因子受体家族 (PDGFR), 血管内皮生长因子受体家族 (VEGFR) 以及 FLT3、RET 等, 受体激酶在接受配体的刺激后发生自身的磷酸化, 激活信号分子, 信号分子激活下游的信号转导途径, 图 26 中以较粗的紫色实线箭头表示位于细胞膜上的受体激酶在接受配体刺激后引起的细胞内的下游信号转导通路的途径, 主要包括 PKC、Ras/Raf/MEK 和 PI-3K/Akt 三条途径, 引起一系列的生物效应, 例如细胞增殖增加, 细胞凋亡减少, 肿瘤血管生成等, 导致肿瘤的形成。

位于细胞膜内的非受体激酶包括 BCR-ABL、Raf、Src、JAK 和 PKC 等, 图 26 中以虚线箭头表示位于细胞膜内的非受体激酶之间的相互作用。从图中可以看出, 位于细胞膜内的各种非受体激酶除了能引起细胞膜上受体激酶所能引起的 PKC、Ras/Raf/MEK

和 PI-3K/Akt 三条途径外, 还能引起 JAK/STAT 途径。例如 BCR-ABL 激酶活化后能激活 JAK 激酶, 引起 JAK/STAT 转导途径, 同时活化的 BCR-ABL 激酶还同时激活 Ras/Raf/MEK 和 PI-3K/Akt 途径, 引起细胞的癌变。多靶点激酶抑制剂通过抑制位于细胞膜上的受体激酶与细胞膜内的非受体激酶, 主要阻断下游 Ras/Raf/MEK、PI-3K/Akt、PKC、JAK/STAT 信号转导通路, 抑制细胞的癌变, 从而抑制肿瘤的形成。

对已经上市和 III 期临床的多靶点激酶抑制剂作用靶点与信号转导通路归纳如表 2。值得说明的是, 表中给出的每一种多靶点激酶抑制剂的抑制靶点与抑制的信号转导通路都只是主要的, 激酶抑制剂所抑制的其他靶点以及各个信号转导通路之间更多的相互作用关系仍然在进一步的研究中。

4 结论与展望

肿瘤发病机制比较复杂。它是一种多因素, 多种信号影响的疾病。如肿瘤新生血管发生是因为肿瘤细胞产生过多的促血管生长因子。要阻断血管生成, 就需要抑制这些过生长因子的形成。VEGF/VEGFR2 是内皮细胞增殖最重要的信号通路, 但其他因子如 EGF、bFGF、PDGF 也起相当大的作用^[65]。并且所有这些因子下游的信号通路之间, 或多或少的都有代偿作用。仅仅通过抑制某一种因子可能难以达到抑制血管生成的目的。

多靶点激酶抑制剂能够同时抑制或者阻断多个细胞生长的信号转导通路。多靶点激酶抑制剂已经成为肿瘤治疗和新药研发的热点。上述已上市的和部分在临床 III 期的多靶点激酶抑制剂在临床中显示出较

表 2 已上市和 III 期临床多靶点激酶抑制剂主要传导通路

激酶抑制剂	主要抑制靶点	主要抑制转导通路
Imatinib	PDGFR, c-Kit, BCR-ABL	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt, JAK/STAT
Gefitinib	EGFR (各亚型)	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt
Erlotinib	EGFR, ABL, FLT	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt
Sunitinib	FLT3, c-Kit, PDGFR, VEGFR2	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt, PKCs
Sorafenib	VEGFR2, PDGFR, FLT3, c-Kit, Erk, Raf	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt
Dasatinib	Src, BCR-ABL, TCR	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt, JAK/STAT
Lapatinib	EGFR, HER2, p95HER2	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt
Nilotinib	ABL (各亚型及变异体)	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt, JAK/STAT
Vandetanib	VEGFR, EGFR, RET	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt
Pazopanib	c-Kit, PDGFR, VEGFR2	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt
CP-690550	JAK1, 2, 3	JAK/STAT
PKC-412	PKC, FLT3, KIT, VEGFR, PDGFR	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt, PKCs, JAK/STAT
Vatalanib	PDGFR, c-Kit	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt
Ruboxistaurin	PKC (各亚型)	Ras/Raf/MEK, PI-3K/Akt, PKCs

好的效果。多靶点抑制剂可能对某些耐药肿瘤也有抑制作用。抑酶谱较广的 **dasatinib** 可以用来治疗 **imatinib** 耐药的慢性粒细胞性白血病 (CML) 和急性淋巴细胞白血病 (ALL)^[25]就是其中一个例子。

另外,同一激酶家族的不同亚型的激酶,其生物学功能也可能比较接近。如果能彻底抑制该亚类所有或者大部分异构酶,则相应的抑制剂对肿瘤也有良好的抑制活性,不过可能有产生耐药性的问题(如 **gefitinib**)。

至于多靶点抑制剂是否由于对某些与肿瘤无关的激酶的抑制而带来某些潜在的副作用,目前仍然需要进一步的研究^[66, 67]。

References

- [1] Levitzki A. Targeting signal transduction for disease therapy [J]. *Med Oncol*, 1997, 14: 83–89.
- [2] Wermuth CG. Multitargeted drugs: the end of the ‘one-target-one-disease’ philosophy? [J]. *Drug Discov Today*, 2004, 9: 826–827.
- [3] Nagar B, Bornmann WG, Pellicena P, et al. Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571) [J]. *Cancer Res*, 2002, 62: 4236–4243.
- [4] Capdeville R, Buchdunger E, Zimmermann J, et al. Glivec (STI571, imatinib), a rationally developed, targeted anticancer drug [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1: 493–502.
- [5] Bilanges B, Torbett N, Vanhaesebroeck B. Killing two kinase families with one stone [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4: 648–649.
- [6] Buchdunger E, Mett H, Meyer T, et al. Inhibition of the Abl protein-tyrosine kinase *in vitro* and *in vivo* by a 2-phenylaminopyrimidine derivative [J]. *Cancer Res*, 1996, 56: 100–104.
- [7] Kraman MW, Herrgard S, Treiber DK, et al. A quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity [J]. *Nat Biotechnol*, 2008, 26: 127–132.
- [8] Advani AS, Pendergast AM. BCR-Abl variants: biological and clinical aspects [J]. *Leuk Res*, 2002, 26: 713–720.
- [9] Czechowska A, Poplawski T, Drzewoski J, et al. Imatinib (STI571) induces DNA damage in BCR/ABL-expressing leukemic cells but not in normal lymphocytes [J]. *Chem Biol Interact*, 2005, 152: 139–150.
- [10] Ciardiello F, Tortora G. Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a target in cancer therapy: understanding the role of receptor expression and other molecular determinants that could influence the response to anti-EGFR drugs [J]. *Eur J Cancer*, 2003, 39: 1348–1354.
- [11] Bellezza I, Bracarda S, Caserta C, et al. Targeting of EGFR tyrosine kinase by ZD1839 (“Gefitinib”) in androgen-responsive prostate cancer *in vitro* [J]. *Mol Genet Metab*, 2006, 88: 114–122.
- [12] She QB, Solit D, Basso A, et al. Resistance to gefitinib in PTEN-Null HER-overexpressing tumor cells can be overcome through restoration of PTEN function or pharmacologic modulation of constitutive phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway signaling [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9: 4340–4346.
- [13] Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, et al. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signaling [J]. *Exp Cell Res*, 2003, 284: 31–53.
- [14] Luo QJ, Ma T, Yin QY. Gefitinib: a target-based anticancer drug for treatment of advanced lung cancer [J]. *J Ningxia Med Coll (宁夏医学院学报)*, 2007, 6: 642–643.
- [15] Bose R, Zhang XW. The ErbB kinase domain: Structural perspectives into kinase activation and inhibition [J]. *Exp Cell Research*, in press.
- [16] de Bono JS, Rowinsky EK. The ErbB receptor family: a therapeutic target for cancer [J]. *Trends Mol Med*, 2002, 8: 19–26.
- [17] Lu S, Li ZM, Cheng BJ, et al. The evaluations of advanced non-small cell lung cancer patients treated with erlotinib [J]. *China Oncol (中国癌症杂志)*, 2007, 9: 711–715.
- [18] Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF [J]. *Cell*, 2004, 116: 855–867.
- [19] Huether A, Baradari V, Schuppan D, et al. Sorafenib alone or as combination therapy for growth control of cholangiocarcinoma [J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73: 1308–1317.
- [20] Rahmani M, Davis EM, Bauer C, et al. Apoptosis induced by the kinase inhibitor BAY43-9006 in human leukemia cells involves down-regulation of MCL-1 through inhibition of translation [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 35217–35227.
- [21] Wang F, Fu lw. Research advances in sorafenib: a multiple targeted anti-tumor agent [J]. *Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报)*, 2008, 24: 1117–1120.
- [22] 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.
- [23] Faivre S, Demetri G, Sargent W, et al. Molecular basis for sunitinib efficacy and future clinical development [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6: 734–745.
- [24] Wang CM, Shi YQ. The application of target-based anticancer drug — sunitinib in treatment of GIST [J]. *Tumor (肿瘤)*, 2008, 28: 268–271.

- [25] Quintas-Cardama A, Kantarjian H, Jones D, et al. Dasatinib (BMS-354825) is active in Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia after imatinib and nilotinib (AMN107) therapy failure [J]. *Blood*, 2007, 109: 497–499.
- [26] Tokarski JS, Newitt JA, Chang CY, et al. The structure of dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL Mutants [J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 5790–5797.
- [27] Blake S, Hughes TP, Mayrhofer G, et al. The Src/ABL kinase inhibitor dasatinib (BMS-354825) inhibits function of normal human T-lymphocytes *in vitro* [J]. *Clin Immunol*, 2008, 27: 330–339.
- [28] Steinberg M. Dasatinib: a tyrosine kinase inhibitor for the treatment of chronic myelogenous leukemia and Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic [J]. *Clin Ther*, 2007, 29: 2289–2308.
- [29] Xia WL, Mullin RJ, Keith BR, et al. Anti-tumor activity of GW572016: a dual tyrosine kinase inhibitor blocks EGF activation of EGFR/erbB2 and downstream Erk1/2 and AKT pathways [J]. *Oncogene*, 2002, 21: 6255–6263.
- [30] Wood ER, Truesdale AT, McDonald OB, et al. A unique structure for epidermal growth factor receptor bound to GW572016 (lapatinib): relationships among protein conformation, inhibitor off-rate, and receptor activity in tumor cells [J]. *Cancer Res*, 2004, 64: 6652–6659.
- [31] Spector NL, Xia W, Burris H, et al. Study of the biologic effects of lapatinib, a reversible inhibitor of ErbB1 and ErbB2 tyrosine kinases, on tumor growth and survival pathways in patients with advanced malignancies [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23: 2502–2512.
- [32] Weisberg E, Manley P, Mestan J, et al. AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of BCR-ABL [J]. *Br J Cancer*, 2006, 94: 1765–1769.
- [33] Weisberg E, Manley P, Breitenstein W, et al. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl [J]. *Cancer Cell*, 2005, 7: 129–141.
- [34] Dequchi Y, Kimura S, Ashihara E, et al. Comparison of imatinib, dasatinib, nilotinib and INNO-406 in imatinib-resistant cell lines [J]. *Leuk Res*, 2008, 32: 980–983.
- [35] Kantarjian H, Giles F, Wunderle L, et al. Nilotinib in imatinib-resistant CML and Philadelphia chromosome-positive ALL [J]. *N Engl J Med*, 2006, 24: 2542–2551.
- [36] Wheeler C, Stephens T, Byth K, et al. Novel approaches in oncology at AstraZeneca [J]. *Eur J Cancer Suppl*, 2003, 1: 3–8.
- [37] Lanzi C, Giuliana C, Valentina N, et al. Targeting RET for thyroid cancer therapy [J]. *Biochem Pharmacol*, in Press, corrected proof, available online 6 November 2008.
- [38] Arao T, Fukumoto H, Takeda M, et al. Small in-frame deletion in the epidermal growth factor receptor as a target for ZD6474 [J]. *Cancer Res*, 2004, 64: 9101–9104.
- [39] Holden SN, Eckhardt SG, Basser R, et al. Effects of ZD6474, an orally active inhibitor of VEGF receptor tyrosine kinase, in patients with solid tumors: results from a phase I study [J]. *Eur J Cancer*, 2001, 36: S73.
- [40] Ranson M, Bodkin D, Govindan R, et al. Results of a randomized, double-blind phase II trial of ZD6474 versus gefitinib in patients with NSCLC [J]. *Eur J Cancer Suppl*, 2005, 3: 324–325.
- [41] Sonpavde G, Hutson TE. Pazopanib: a novel multitargeted tyrosine kinase inhibitor [J]. *Curr Oncol Rep*, 2007, 9: 115–119.
- [42] Podar K, Tonon G, Sattler M, et al. The small-molecule VEGF receptor inhibitor pazopanib (GW786034B) targets both tumor and endothelial cells in multiple myeloma [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 19478–19483.
- [43] Kvalac E, Perry B, Sawyer P, et al. The novel JAK-3 inhibitor CP-690550 is a potent immunosuppressive agent in various murine models [J]. *Am J Transplant*, 2004, 4: 51–57.
- [44] <http://www.clinicaltrials.gov/>
- [45] Kvalac E, Conklyn M, Andresen C, et al. The JAK-3 inhibitor CP-690550 is a potent anti-inflammatory agent in murine model of pulmonary eosinophilia [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 582: 154–161.
- [46] Propper DJ, McDonald AC, Man A, et al. Phase I and pharmacokinetic study of PKC412, an inhibitor of protein kinase C [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19: 1485–1492.
- [47] Millward MJ, House C, Bowtell D, et al. The multikinase inhibitor midostaurin (PKC412A) lacks activity in metastatic melanoma: a phase IIA clinical and biologic study [J]. *Br J Cancer*, 2006, 95: 829–834.
- [48] Manley PW, Furet P, Bold G, et al. Anthranilic acid amides: a novel class of antiangiogenic VEGF receptor kinase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2002, 45: 5687–5693.
- [49] Lv JL, Wang R, Liu D, et al. Design, synthesis, and antitumor activities of some novel substituted 1, 2, 3-benzotriazines [J]. *Molecules*, 2008, 13: 1427–1440.
- [50] Giles FJ, List AF, Carroll M, et al. PTK787/ZK 222584, a small molecule tyrosine kinase receptor inhibitor of vascular endothelial growth factor (VEGF), has modest activity in myelofibrosis with myeloid metaplasia [J]. *Leuk Res*, 2007, 31: 891–897.
- [51] Drevs J, Müller-Driver R, Wittig C, et al. PTK787/ZK 222584,

- a specific vascular endothelial growth factor-receptor tyrosine kinase inhibitor, affects the anatomy of the tumor vascular bed and the functional vascular properties as detected by dynamic enhanced magnetic resonance imaging [J]. *Cancer Res*, 2002, 62: 4015–4022.
- [52] Lee L, Sharma S, Morgan B, et al. Biomarkers for assessment of pharmacologic activity for a vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor inhibitor, PTK787/ZK 222584 (PTK/ZK): translation of biological activity in a mouse melanoma metastasis model to phase I studies in patients with advanced colorectal cancer with liver metastases [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2006, 57: 761–771.
- [53] Trost BM, Tang WP. An enantioselective strategy to macrocyclic bisindolylmaleimides. An efficient formal synthesis of LY 333531 [J]. *Org Lett*, 2001, 3: 3409–3411.
- [54] Caille JC, Govindan CK, Junga H, et al. Hetero Diels-Alder-biocatalysis approach for the synthesis of (*S*)-3-[2-((methylsulfonyl)oxy)ethoxy]-4-(triphenylmethoxy)-1-butanol methanesulfonate, a key intermediate for the synthesis of the PKC inhibitor LY333531 [J]. *Org Proc Res Dev*, 2002, 6: 471–476.
- [55] Komander D, Kular GS, Deak M, et al. Interactions of LY333531 and other bisindolyl maleimide inhibitors with PDK1 [J]. *Structure*, 2004, 12: 215–226.
- [56] Bartlett S, Beddard GS, Jackson RM, et al. Comparison of the ATP binding sites of protein kinases using conformationally diverse bisindolylmaleimides [J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 11699–11708.
- [57] Alva G, Neervannan S. Hydrate forms of AMG706: US, 20080039501 [P], 2007-01-26.
- [58] 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: 8715–8721.
- [59] Wilmes LJ, Pallavicini MG, Fleming LM, et al. AG-013736, a novel inhibitor of VEGF receptor tyrosine kinases, inhibits breast cancer growth and decreases vascular permeability as detected by dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging [J]. *Magn Reson Imaging*, 2007, 25: 319–327.
- [60] Rixe O, Bukowski RM, Michaelson MD, et al. Axitinib treatment in patients with cytokine-refractory metastatic renal-cell cancer: a phase II study [J]. *Lancet Oncol*, 2007, 8: 975–984.
- [61] Rinaldi A, Kwee I, Bertoni F, et al. 195 POSTER pharmacogenomic analysis of the peripheral blood cell transcriptome in patients with advanced solid tumors treated with the mTOR inhibitor deforolimus (AP23573; MK 8669) in phase Ib studies [J]. *Eur J Cancer Suppl*, 2008, 6: 62.
- [62] Deforolimus (AP23573) in treatment of sarcoma - SUCCEED (sarcoma multi-center clinical evaluation of the efficacy of deforolimus) study. *Clinical Trials gov* (2008-03-07).
- [63] Salgia R, Hong DS, Camacho LH, et al. A phase I dose-escalation study of the safety and pharmacokinetics of XL184, a VEGFR and MET kinase inhibitor, administered orally to patients with advanced malignancies [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(18S): 14031.
- [64] Janne PA, Wax M, Leach J, et al. Targeting MET with XL184 to reverse EGFR tyrosine kinase inhibitor (TKI) resistance in NSCLC: impact of preclinical studies on clinical trial design. www.exelixis.com/eortc/posters/EORTC08_552_XL184-202.pdf
- [65] Yang J, Chen ZL. Advance in angiogenesis and tumor growth [J]. *J Zhejiang Univ (Med Sci)* (浙江大学学报(医学版)), 2001, 30: 189–192.
- [66] Frantz S. Drug discovery: playing dirty [J]. *Nature*, 2005, 437: 942–943.
- [67] Imming P, Sinning C, Meyer A. Drugs, their targets and the nature and number of drug targets [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5: 821–834.