

Aurora 激酶及其抑制剂的研究进展

朱海静¹, 焦宇^{2*} (1.解放军第二炮兵总医院, 北京 100088; 2.中国药科大学有机化学教研室, 南京 211198)

摘要:目的 从结构出发介绍 Aurora 激酶及其抑制剂的研究进展。方法 总结 Aurora 激酶抑制剂骨架特征和结合模式, 以及进入临床的 Aurora 激酶抑制剂的研究进展。结果和结论 Aurora 激酶家族是肿瘤治疗的一个新兴靶标。腺嘌呤骨架可能是设计高活性 Aurora 激酶抑制剂的重要母核。

关键词: Aurora 激酶; 抑制剂; 结合模式; 抗肿瘤

中图分类号: R979.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)10-1288-09

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.10.033

Progress of Aurora Kinase and Its Inhibitors

ZHU Haijing¹, JIAO Yu^{2*} (1.The Second Artillery General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100088, China; 2.Division of Organic Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To introduce the research progress of Aurora kinase and its inhibitors based on their structures. **METHODS** To summarize the chemical scaffold, the common binding modes, and the clinical progress of Aurora kinase inhibitors. **RESULTS & CONCLUSION** The Aurora kinase had emerged as an attractive target for cancer therapies. The adenosine mimic scaffolds could be used for further study to design additional potential inhibitors of Aurora with high inhibitory activity.

KEY WORDS: Aurora kinase; inhibitor; binding mode; anti-tumor

正常的细胞分裂对于机体健康、细胞器官的存活至关重要。有丝分裂及细胞分化是一个复杂且高度有序的过程, 在这一过程中细胞内物质完全重组并通过双极纺锤体将 2 个相同的染色体副本分离到 2 个子细胞中^[1]。有丝分裂过程中的错误将产生细胞内染色体数目异常(产生非整倍体)。这会导致细胞死亡或者促使正常细胞向肿瘤细胞发展。由于肿瘤细胞的发生大体上以有丝分裂时的错误导致 DNA 的数量或排列顺序的变化为标志, 所以有丝分裂过程中的物质作为靶点来阻断肿瘤进程的机制成为热门的研究方向^[1-3]。

有丝分裂的进程主要取决于 3 个机制: ①蛋白定位; ②蛋白水解作用; ③磷酸化作用。每个机制涉及一些丝氨酸/苏氨酸激酶, 又称为有丝分裂激酶^[3]。近期证据表明, 有丝分裂激酶对调控细胞周期有重要作用。正确的染色体分离受到有丝分裂激酶如细胞周期素依赖性激酶 1(Cdk1), Polo 样激酶(Plk1), NIMA 相关激酶 2(Nek2)和 Aurora 激酶的严格控制^[3-5]。

本综述总结了 3 种 Aurora 激酶在有丝分裂和肿瘤中的生物学作用, 并且讨论了 Aurora-A 激酶

与其抑制剂的结合方式, 结合位点的热点部位残基及结合时的优势构象。同时, 本文对于已报道的 Aurora 激酶抑制剂的化学母核、结合方式以及主要的临床前/临床研究进行总结, 希望能为新型抑制剂的设计提供一个整体概况。

1 Aurora 激酶

Aurora 激酶于 1995 年被发现, 并于 1998 年首次观察到它们在人类肿瘤组织中表达。目前 Aurora 激酶已经成为高校和制药企业中肿瘤学研究的热门^[2]。Aurora 激酶家族包含 3 种高度同源的丝/苏氨酸蛋白激酶: Aurora-A, Aurora-B 和 Aurora-C。这 3 个同源的 Aurora 激酶催化区保守, 而 N 端区序列长度不同, 功能各异。这 3 种 Aurora 激酶在多种肿瘤中均存在过度表达。

1.1 Aurora-A

Aurora-A(又称为 Aurora-2)位于细胞的中心体上。有丝分裂时 Aurora-A 和纺锤体两极相连并且参与中心体重组和非中心体的纺锤体重组^[6]。编码 Aurora-A 的基因位于染色体 20q13 上, 这一基因在多种上皮肿瘤染色质中会被放大, 包括乳腺癌、胃肠癌、结肠癌、卵巢癌和胰腺癌。

作者简介: 朱海静, 女, 硕士, 副主任药师 Tel: (010)66343033
Tel: (025)86185182 E-mail: jiaoyu923@126.com

E-mail: 13910211601@139.com *通信作者: 焦宇, 男, 博士, 讲师

目前已证明 Aurora-A 是一种致癌基因, Aurora-A 的过度表达会阻断有丝分裂关卡复合物的正确组装, 造成基因的不稳定和肿瘤形成。Aurora-A 的过度异位表达能导致啮齿动物细胞(N1H3T3 和 rat1)变异, 且变异后的细胞能诱发裸鼠的肿瘤形成^[7]。Aurora-A 是 p53 通路的关键组成部分, 它的过度表达将导致 p53 降解上调, 从而促进致癌基因的转录^[3,6,8], 人们发现在缺少 Aurora-A 时, 中心体不能形成两极纺锤体, 这会导致有丝分裂中止。研究还表明, 由 RNA 干涉导致的 Aurora-A 蛋白水平的减少会导致 G2-M 中止, 纺锤体缺陷, 四倍体细胞出现及细胞凋亡^[9]。

在分子水平, Aurora-A 在有丝分裂过程中的作用并没有被完全了解, 然而, 目前已有的发现已经可以证明 Aurora-A 是抗肿瘤药物研发的一个重要靶点。

1.2 Aurora-B

Aurora-B(也称为 Aurora-1)是一种染色体乘客复合物的成分。在细胞分裂前期位于细胞着丝粒上, 在细胞分裂后期迁移到纺锤体中央区。它的功能包括: 磷酸化组蛋白 H3 上的色氨酸 10; 凝聚分裂前期的染色质; 排列和分离染色体, 调节分裂中期节点, 同时它也在胞浆运动中也发挥作用^[3,6,10]。最近研究认为 Aurora-B 控制染色体逆向移动与马达蛋白(MCAK)有关。抑制 Aurora-B 的功能会导致一个重要的纺锤体检验点失活, 有丝分裂将不经历染色体分离和胞质分离而过早结束。这一系列反应会产生多倍体并有可能再次进入细胞周期, 形成多核细胞^[3,5]。Aurora-B 过度表达不会导致啮齿动物的纤维细胞变异, 但它能增强 H-Ras 诱发的变异, 尤其在子宫内膜癌中, Aurora-B 的表达在高级肿瘤细胞中显著增加。

1.3 Aurora-C

Aurora-C(又称为 Aurora-3)有和 Aurora-B 相似的功能。编码 Aurora-C 的基因位于染色体 19q13 区域中。它在睾丸中高表达, 在其他组织中少量分布^[6]。Aurora-C 最初被认为参与数分裂的纺锤体形成, 并且它在胞质分裂期的后期一直位于中心体上。然而, Aurora-C 并不仅位于中心体上, 已有研究者在其他位置观察到了 Aurora-C。Li 等^[11]的报道认为, Aurora-C 也是一种染色体乘客蛋白, 分布方式与 Aurora-B 相似。在他们的研究中, Aurora-C 和 Aurora-B 存在免疫沉淀反应。最近的研究表明,

Aurora-C 能够挽救 Aurora-B 耗尽的细胞^[12]。

2 Aurora-A 激酶的活性位点

Aurora 家族激酶由大约 400 个残基组成, 其中包含有一个保守 C 端催化区和一个大小不一的 N 端区。Aurora-A 和 Aurora-B 包含特殊序列(N 端的 A 区和 C 端的 D 区), 这些序列调节 M 期末期的降解。而 Aurora-C 缺少 A 区, 因此在 M 期结束时不会被蛋白水解酶水解^[10,13-15]。这 3 种 Aurora 激酶的活性区具有相同的序列 DFGWSxxxxxxRxTx CGTxDYLPPE(多数蛋白激酶都是通过这一序列的磷酸化而被激活)。在这个共同的序列中, 保守的苏氨酸 288 残基是激活激酶的靶点^[16-17]。

Aurora-A 的活性取决于其他激酶的磷酸化作用。在非洲爪蟾卵中, 3 个磷酸化位点已被确证, 分别是: 丝氨酸 53, 苏氨酸 295, 色氨酸 349(分别与人 Aurora 激酶中色氨酸 53, 苏氨酸 288 和色氨酸 342 相对应)。苏氨酸 295 是激酶的活化环区的关键磷酸化残基。色氨酸 349 则对蛋白正确折叠以及 Aurora-A 激酶调控有重要作用^[18]。此外, 蛋白在激活时进行重排表明了它高度的灵活性。这在活化环区和 ATP 结合口袋中尤为明显。

ATP 竞争性抑制剂被认为能够对抗多种可以作为癌症治疗靶点的激酶。因此理解 Aurora 激酶 ATP 结合位点和与 ATP 及 ATP 竞争性抑制剂相互作用的结构基础是设计这种既有选择性又有活性的激酶抑制剂的必须步骤^[13]。Fancelli 课题组确定了 Aurora-A 激酶的 ATP 结合口袋, 结构见图 1^[14]。3-氨基吡啶部分(它在立体化学上与激酶的 ATP 口袋铰链区很好地匹配形成氢键相互作用)的 NH₂-C-N-NH 的协同氮原子部分镶嵌在 1, 4, 5, 6-吡咯烷[3,4-c]吡啶中提供一个具有额外位点的原始母核以增加多样性。口袋能被分为 5 个区域: (I)激酶铰链区、(II)溶剂区、(III)糖区、(IV)磷酸键结合区、(V)包埋区。包埋区很小, 因为它和激酶的主链很近并且不能容纳一个大基团。因此, R2 也应该是一个小基团, 如-H, -CH₃, 或者-OCH₃。磷酸键区域就是 ATP 尾部所在区域。溶剂区部分与溶剂接触。铰链区(残基 210-216)在形成催化活性位点中起着重要作用。在铰链区, 母核与 Aurora-A 激酶的主链有着直接的氢键相互作用, 尤其是通过谷氨酸 211 和丙氨酸 213。此外, 笔者推测了与抑制剂复合的 25 种 Aurora-A 激酶的晶体结构, 然后检验了残基与抑制剂相互作用的频

率。结果表明,最有效的残基是谷氨酸 211、丙氨酸 213、赖氨酸 162、亮氨酸 139 和亮氨酸 263(相互作用的次数>30%),这些残基对与配体的直接成键反应贡献最大。

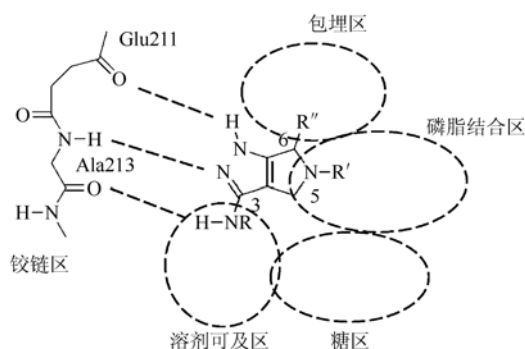


图 1 ATP 激酶结合口袋的 1,4,5,6-吡咯烷[3,4-c]吡唑母核
Fig. 1 Schematic representation of the 1,4,5,6-tetrahydropyrrolo[3,4-c]pyrazole scaffold in the kinase ATP binding pocket

抑制剂母核和 Aurora-A 激酶间重要的反应位于铰链区。改变磷酸键结合区的 R1 基团来设计新抑制剂是重要的。因为 Aurora-A 激酶的磷酸键结合区有足够的空间接受大基团,所以它的结构具有很高的多样性。与溶剂区的 R 基团相比,磷酸键结合区的 R1 基团与 Aurora-A 激酶的反应总是更剧烈。

通过 2 个激酶母核的 α -C 相连的 Aurora-A 激酶的 2 个晶体结构的重叠(PDB 编码: 2C6D^[15]和 2C6E^[15])见图 2。由图可知, Aurora-A 激酶的结合口袋是不固定并且灵活的。Aurora-A 激酶抑制剂的结合口袋由下列关键的相互作用的氨基酸残基形成: 亮氨酸 210, 谷氨酸 211, 酪氨酸 212, 丙氨酸 213, 亮氨酸 139, 缬氨酸 147 和亮氨酸 263。因此, Aurora-A 激酶的 ATP 结合口袋是疏水的,这个特点在设计 Aurora-A 激酶抑制剂时应该被考虑。

Aurora 激酶与配体 MTP(PDB 编码: 2BMC^[14])的复合体的一种晶体结构的细节,及其疏水口袋见图 3。从这个图中,可以看到 Aurora-A 激酶的结合口袋能容纳一个大的配体。临近 ATP 结合位点深处的疏水氟苯基口袋是由位于 Aurora-A 铰链区的灵活的甘氨酸富集区形成的。使这种形式的酶成为一个活性靶点,尤其是拥有比其他激酶高的选择性。

3 Aurora 激酶抑制剂及其作用模式

大部分 Aurora-A 激酶抑制剂包含类似腺嘌呤的母核并和激酶有相似氢键结合方式。已知抑制

剂的类似腺嘌呤母核主要有以下 4 种: (A)1,4,5,6-吡咯烷[3,4-c]吡唑; (B)吡咯[2,3-b]嘧啶; (C)喹啉; (D)2-苯胺基-二氨基嘧啶。见图 4。

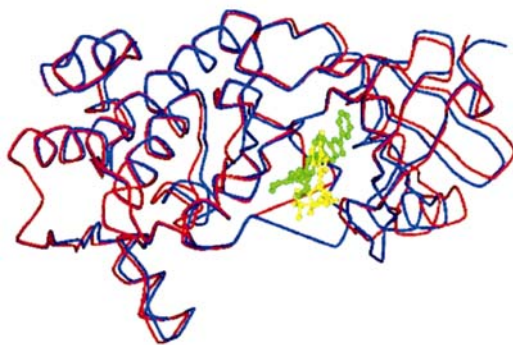


图 2 Aurora-A(蓝色)和它的配体 ANP(黄色), Aurora-A(红色)和它的配体 HPM(绿色)

Fig. 2 Aurora-A (in blue) with its ligand ANP (in yellow), and Aurora-A 2C6E (in red) with its ligand HPM (in green)

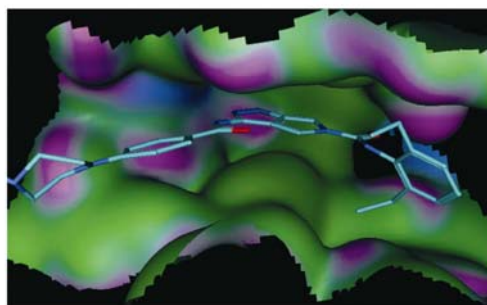


图 3 配体 MPY 的复合晶体结构(表 1 中化合物 4)结合到 Aurora-A 激酶的疏水结合口袋和它们间的相互作用(PDB 编码: 2BMC)。紫色代表氢键区域; 绿色疏水区域和蓝色的弱极性区域

Fig. 3 The co-complex crystal structure of ligand MPY (compound 4 in Table 1) bound to the hydrophobic binding pocket of Aurora-A kinase and the interactions between them (PDB code: 2BMC). Purple indicates the H-bonding area; green the hydrophobic area and blue the mild polar area

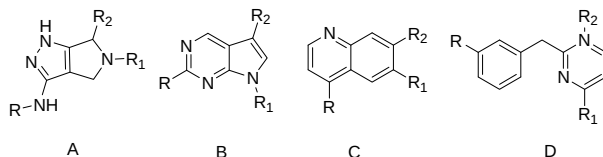


图 4 4 种已知 Aurora-A 抑制剂的类似腺嘌呤母核

Fig. 4 4 types of adenosine mimic scaffold found in reported inhibitors of Aurora-A kinase

这些母核能与激酶铰链区的谷氨酸 211 和丙氨酸 213 形成氢键。其他相互作用,如配体的 R1 基团和 Aurora-A 激酶(图 1)在磷酸结合部位间的相互作用,如 π - π 堆积作用和 p- π 共轭也有重要作用。

表 1 Aurora-A 激酶抑制剂及其 IC₅₀ 值Tab. 1 Inhibitors of Aurora-A kinase with their IC₅₀ values

序号	骨架	R	R1	R2	IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹
1	A1			H	6
2				H	8
3				H	<50
4	A2			H	27
5				H	13
6	B1			H	8
7	B2			H	0.8
8	B3			H	270
9	B4			H	172
10	B5			H	158
11	B6			H	<500
12	B7			H	>1 000
13	C1			OMe	<2 000
14	C2			OMe	<1
15	D1				4
16					<10 000
17					<1 000

续表 1

序号	骨架	R	R1	R2	IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹
18	D2				1.3
19	D3				4
20	D4				1

腺苷酸类似物 Aurora-A 激酶的抑制剂和它们的抑制活性值(IC₅₀)^[2,14,19-33]见表 1。Howard^[34]和 Zhong^[35]等最近报道一些其他的有趣并独特的 Aurora-A 抑制剂, Howard 等^[34]研究的抑制剂母核与 B5 和 B6(表 1)的母核相似, Zhong 等^[35]研究的抑制剂母核与母核 B7(表 1)相似。表 1 中,大部分母核包含一个二元杂环结构。基团 A 有 2 个结合的五元环,基团 B 具有 2 个典型的六元环与五元环结合体(B5 有 2 个与六元环结合的五元环),C 基团有 2 个结合的六元环并且 D 基团有 2 个由仲胺相连的六元环。

正如上面所提到的, R2 基团指向 Aurora-A 激酶的狭小的包埋区。因此, R2 基团体积较小,如 -H, -CH₃ 或 -OCH₃(表 1)。然而,母核与 R2 基团相连的原子是可变的,可以是 C, S, N 或 O(当它是 S 或 O 原子时, R2 基团将不存在)。这些变化将导致母核电性的改变。目前已有一些带有 A 母核活性化合物已经被发表^[19-21]。因此,把它们看作 Aurora-A 激酶的候选物质是合理的。

B 母核可以看作是腺嘌呤或鸟嘌呤的电子等排体。B 母核能被进一步分为 7 个亚类: B1~B7。B1 和 B2 都包含 1 个连有吡咯的嘧啶,并且 B1 和 B2 唯一的不同在于 R1 基团的连接位置不同(R1 基团位于磷酸键区域)。B3 是一个与咪唑连接的嘧啶环,它是一个与腺嘌呤或鸟嘌呤高度相似的母核,曾被深入地研究过。这个母核的大部分衍生物具有抗肿瘤活性。B4~B7 也是腺嘌呤或鸟嘌呤的类似物;然而,由于此母核中协同形成氢键的 2 个 N 原子是缺失的,预计它们的抑制活性会大大降低。

C1 和 C2 也是腺嘌呤和鸟嘌呤的电子等排体,其中的五元环和六元环结构有不同程度的改变。

考虑到 C1 与腺嘌呤或鸟嘌呤母核相似性较低,认为 C2 母核的活性将强于 C1 母核。D1-4 被认为来自鸟嘌呤结构。这个母核有 2 个能够协同形成氢键(一个是氢键供体,另一个是氢键受体)的 N 原子。因此,具有这种母核的化合物应该有很强的抑制活性。然而,化合物 16 和 17(表 1)的抑制活性却不高,这可能是因为 R 基团疏水并暴露在溶剂中。相比之下, D2-4 的 R 基团亲水,这使化合物 18~20 具有很高活性。MLN8237(表 1 中的化合物 20)的 IC₅₀ 值仅有 1 nmol·L⁻¹。当前这个化合物处于临床 I/II 阶段^[2-3]。

简言之, Aurora-A 激酶抑制剂一般包含一个类似腺嘌呤或鸟嘌呤的母核,母核中有能与 Aurora-A 激酶形成氢键网的 2~3 个 N 原子,在母核中通常连接 3 个取代基团(R, R1, R2),分别位于溶剂接触区、磷酸键区以及包埋区域。R 基团大多有极性或亲水性,其中 R1 基团的大小和电性可变。

Aurora-A 激酶抑制剂的大部分母核(表 1)包含一个二环结构。它们与激酶的铰链区谷氨酸 211 和丙氨酸 213 通过氢键结合(图 1)。通常,配体与谷氨酸 211 或丙氨酸 213(PDB 编码: 2J50^[36], 2NP8^[37])形成至少 1 根氢键。一些抑制剂能与谷氨酸 211 形成 1 根氢键同时与丙氨酸 213 形成 2 根氢键。小分子配体和铰链区的残基形成氢键对化合物活性贡献显著。抑制剂尾部的苯基(如 MPY 在 PDB 编码 2BMC^[14];图 3)能与处在上层溶剂-暴露的 Aurora-A 激酶磷酸键的赖氨酸 162 侧链形成一个 π 键。R1 基团也能与赖氨酸 162 侧链(如 MPY 在 PDB 编码 2BMC 和 627 在 PDB 编码 2J50)形成氢键。我们可以通过暴露于溶剂区的部分进行化学修饰来提高药物代谢性质。根据对上述 25

个抑制剂与 Aurora-A 激酶作用的晶体结构进行分析,除了与谷氨酸 211 和丙氨酸 213 主链主要相互作用的配体,通过 R 和 R1 基团与由相关氨基酸(亮氨酸 139,缬氨酸 147,亮氨酸 210,赖氨酸 212,脯氨酸 214,亮氨酸 215,苏氨酸 217 和亮氨酸 263)形成的疏水表面相互作用对增强活性也很重要。

此外,一系列生化 and 结构研究表明, Aurora 激酶激活需要一些其他辅助因子。对 Aurora-A,最常见的辅助因子是 TPX2,它最初被描述为一种参与两极纺锤体集合的微管相关蛋白。然后它被发现能够结合 Aurora-A 并指导 Aurora-A 结合有丝分裂纺锤体。通过比较 Aurora-A-TPX2-VX-680 和 Aurora-A-VX-680 2 个共晶体结构,分析 VX-680 和 Aurora-A 间的相互作用,发现 TPX2 能改变 VX-680 与 Aurora-A 的结合方式^[38]。对 Aurora-A-TPX2 的共晶体结构及其抑制剂的进一步研究有利于 Aurora 激酶抑制剂治疗药物的发现和筛选。

4 设计对抗 Aurora-A 激酶的先导化合物的策略

考虑到辅助因子 TPX2 对 Aurora-A 的作用,在设计 Aurora-A 激酶的 ATP 竞争性抑制剂时,考虑保持抑制剂分子与 Aurora-A 激酶铰链区有一个直接作用氢键。谷氨酸 211 和丙氨酸 213 是热点部位,因为它们对与抑制剂的结合有显著贡献。Aurora-A 的磷酸结合部位有足够的空间容纳具有大体积、结构多样的 R1 基团。R1 基团与 Aurora-A 总是有较强的相互作用。因此,设计 Aurora-A 的新抑制剂,保持抑制剂和激酶间的主要相互作用,进而保证有效的抑制活性十分重要。

现在发现,大多数 Aurora-A 激酶抑制剂同时会对 Aurora-B 激酶有很强的活性^[8]。在最近的调查中, Aurora 激酶抑制剂能被进一步分为 3 个大类:①Aurora 激酶-A 对-B 的选择性;②Aurora-B 对-A 的选择性;③Aurora-A 和-B 的有效抑制剂。多个选择性和非选择性的 Aurora 激酶抑制剂最近在临床前和临床试验中被测试^[8]。首先报道的具有 Aurora-A 选择性的激酶抑制剂是 MLN8054,其结构见图 5。这个化合物在酶实验中对 Aurora-A 和-B 的抑制活性相差 40 倍(分别为 $4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 IC_{50}),并且在细胞实验中显示更强的表现选择性(Aurora-A 自身磷酸化的抑制 $\text{IC}_{50}=34 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,组蛋白 H3 自身磷酸化的抑制 $\text{IC}_{50}=4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[39]。首先报道的具有对 Aurora-B 选择性的 Aurora 激酶抑制剂(AZD-1152;图 5)已经进入临床试验阶段。

这个化合物在酶实验中对 Aurora-B 与-A 的活性相差 1 400 倍(IC_{50} 分别 $1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1 400 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

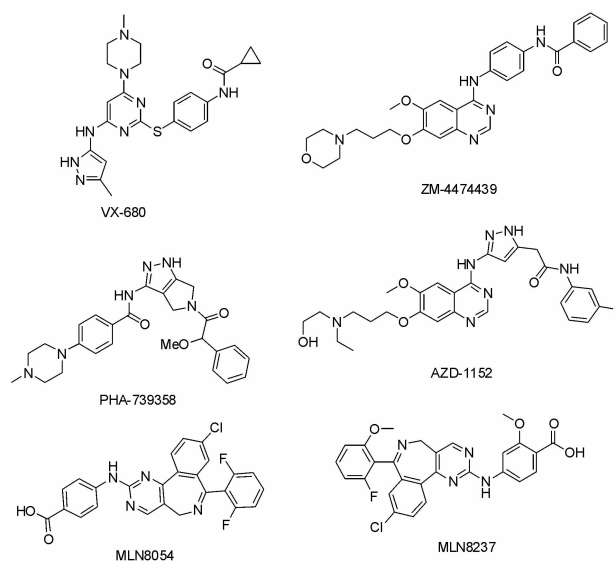


图 5 临床试验中的 Aurora 激酶抑制剂

Fig. 5 Aurora kinase inhibitors in clinical trials

ZM447439, hesperadin 和 VX680(MK-0457)在体外以不同活性同时抑制 Aurora-A 和-B,但他们包含细胞与体内 Aurora-B 的抑制更匹配的表现型。用这些化合物作为工具和生物技术的临床前工作,比如 siRNA 复制,为抑制每种 Aurora 激酶的不同效果提供想法。然而,是否这种可替换的选择性能保证临床上的不同是无法得知的^[2]。根据 siRNA 复制实验, Aurora-A 的复制能导致进入有丝分裂的延迟和经常能被观察到的单级纺锤体的显著分离。在 U2OS 细胞中 Aurora-A 和 TPX2 的分离也能导致有丝分裂中止^[8]。因此,对研究者来说, Aurora-A 是一个极具吸引力的抗肿瘤靶标。

5 Aurora 激酶抑制剂

Aurora 激酶家族已被证明是一种治疗肿瘤的优质靶点。大量临床前体外、体内实验以及临床实验证实 Aurora 激酶抑制剂具有显著的抗肿瘤作用、且不良反应轻微、耐受性良好。

目前有 13 个化合物 Aurora 激酶的小分子抑制剂已经进入临床研究。另外有 12 个化合物处于临床前研究阶段。这些小分子抑制剂被用来治疗多种肿瘤疾病,包括粒细胞白血病,非霍奇金淋巴瘤,黑色素瘤等。一些著名的 Aurora 激酶的抑制剂见图 5^[3-4,40-45]。

5.1 ZM-447439

ZM-447439 是首个 Aurora 激酶抑制剂,其体

外 Aurora-A 和 Aurora-B 的 IC_{50} 分别为 $110 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $130 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。近期研究表明, 使用此药过程中产生的一些不良反应是由于抑制 Aurora-B 造成的, 和抑制 Aurora-A 无关^[3]。据报道染色体能在 ZM-447439 存在的条件下凝集, 但不能成熟。

ZM-447439 能抑制 PALL-1 和 PALL-2 2 种细胞的增殖。它在运用伊马替尼的传统化学疗法后复发的早期 Ph+ALL 细胞中也具有活性。ZM-447439 同时也能被用于 Aurora 药物靶点验证中 Aurora 激酶的生物学^[42]。

5.2 VX-680(MK-0457)

2004 年, Vertex 公司公布了关于 VX-680 完整的活性报告, 首次证明 Aurora 激酶在临床前动物模型中作为癌症的药物靶点^[40]。VX-680 是一个 Aurora 激酶的有效抑制剂, 具有抑制持久性(体内对 Aurora-A, Aurora-B, Aurora-C[$K_i(\text{app})$]分别为 0.6, 18, $4.6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。对多种人类肿瘤细胞株, VX-680 的 IC_{50} 值在 $15\sim 13 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[40]。研究表明 VX-680 是 Aurora-A 激酶的选择性抑制剂, 在体内外能够诱发细胞死亡、阻断细胞增殖。使用可接受剂量的 VX-680 能够实现肿瘤抑制, 且没有观察到毒性。尽管各种结果都很好, 但由于发现之前的 QTc 延长的临床安全性实验数据仅在一例患者中采集, 于是 Merck 在进行 P I / P II 临床试验时放缓了这个化合物的推进速度, 对这个化合物的所有安全性和有效性数据进行了全面分析^[36]。

5.3 AZD-1152(barasertib)

AZD-1152 是阿斯利康公司研发的一种吡唑啉二氢磷酸盐的衍生物^[44], 具有易活化性、高水溶性、高活性、长效性等特质。AZD-1152 很容易转化为一种活性化合物 AZD-1152HQA, AZD-1152HQA 是一个 Aurora-B 激酶的选择性抑制剂($IC_{50}<1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。在可接受剂量范围内, AZD-1152 在人类肿瘤移植模型中导致的药效变化能够保证这个化合物的长效性。AZD-1152 对多个人类肿瘤株具有抑制活性, 目前正处在临床试验 II 期。对 AZD-1152 的临床试验在患有晚期实体瘤(如结肠癌)的患者身上进行。限制剂量的不良反应是 3 例按规定 450 mg 服用的患者 CTC4 级中性粒细胞减少^[40]。

5.4 MLN8054

MLN8054 由 Millennium 公司研发, 在体外实验中能抑制重组 Aurora-A 激酶活性, 并且对于同

家族 Aurora-B 具有选择性(对 Aurora-A/B 的活性分别为 $4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $172 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

在 I 期临床试验中, 口服的 MLN8054 可以快速被吸收。同时, 观察到在用 MLN8054 治疗时有嗜睡反应^[45]。最近, Millennium MLN8054 被第 2 代 Aurora 激酶抑制剂 MLN8237 取代, 目前终止临床实验。

5.5 MLN8237(alisertib)

MLN8237 是一种新的高选择性 Aurora-A 激酶抑制剂($IC_{50}=1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 可抑制多种瘤株的增殖, 如 HCT-116, PC3, SK-OV-3 和 LY-3($GI_{50}=16\sim 469 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。对 MLN8237 的研究已经进入 I 期及 II 期临床试验^[40]。每周加上紫杉醇或者每周只有紫杉醇的随机的 MLN8237 的 II 期研究正在进行中, 用于治疗周期卵巢上皮细胞癌、输卵管癌、或早期腹膜癌, 以及在 I 期试验前患有卵巢癌和乳腺癌的患者。一个对 MLN8237 I 期剂量增加的研究正在患有非血液性恶性肿瘤的患者中进行, 这之后紧跟着对患有肺、乳腺、头、颈或胃食管恶性肿瘤的成人患者的 MLN8237 II 期研究。对于晚期实体瘤和晚期血液型恶性肿瘤的 I 期临床试验正在进行。

5.6 PHA-739358

PHA-739358 是一个 Aurora-A 和 Aurora-B 的双重抑制剂, IC_{50} 分别为 $13 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $79 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[2]。它是基于临床前候选药物 PHA-680632 与 Aurora-A 的复合物的 X 射线晶体结构设计。PHA-739358 显示出比 PHA-680632 更高的细胞活性和 Aurora 酶抑制活性^[40]。PHA-739358 正在进行治疗在伊马替尼或 c-Abl 靶向疗法后复发的慢性粒细胞性白血病以及转移性激素前列腺癌的 II 期临床试验。临床前信息证明其 Aurora 激酶特异性抑制能力, 以及在治疗特殊肿瘤中的进展^[46]。

进入临床研究的抑制剂(如 VX-680, MLN8054, MLN8237 和 PHA-739358)以相似的连接方式连接在 Aurora-A 激酶上(如在铰链区的结合位点形成氢键)。配体 VX-680 和 PHA-739358 通过与残基谷氨酸 211 和丙氨酸 213 在结合位点的铰链区的氢键结合到 Aurora-A 上。它们都通过铰链区的主链与直接氢键的相互作用连接在 Aurora-A 上。尽管大部分临床抑制剂显示对 Aurora 激酶的高抑制活性, 它们应用中的不良反应和安全性仍然需要进一步研究。

6 小结

传统抗有丝分裂的抗肿瘤药物, 虽有显著的抗肿瘤效果, 但用药后易引起急性过敏性反应、神经毒性以及对造血系统、胃肠道系统等产生明显不良反应。因此探寻高效低毒的抗有丝分裂的靶向药物已成为新药研究领域的热点。Aurora 激酶可以对有丝分裂中纺锤体检测点进行精确监测和调控, 并且在人肿瘤细胞中异常增殖, 基于该激酶独特的作用机制, Aurora 家族被证明是一种治疗癌症的优质靶点。Aurora 激酶抑制剂则已被证实具有抗肿瘤作用显著、不良反应轻微、耐受性良好等优点。然而目前 Aurora 激酶抑制剂也存在一些不足, 例如其对实体瘤的治疗效果仍然不尽如人意。随着对 Aurora-A、Aurora-B 激酶作用机制探索的不断深入, 将会有更多的新型 Aurora 激酶抑制剂进入临床研究。从目前的临床数据可以预见高效低毒的 Aurora 激酶抑制剂在未来抗肿瘤领域中将拥有广阔的应用前景。

REFERENCES

- [1] SARDON T, COTTIN T, XU J, et al. Development and biological evaluation of a novel Aurora A kinase inhibitor [J]. *Chem Bio Chem*, 2009, 10(3): 464-478.
- [2] POLLARD J R, MORTIMORE M. Discovery and development of Aurora kinase inhibitors as anticancer agents [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(9): 2629-2651.
- [3] KITZEN J J, DEJONGE M J, VERWEIJ J. Aurora kinase inhibitors [J]. *Crit Rev Oncol /Hematol*, 2010, 73(2): 99-110.
- [4] MALUMBRES M, BARBACID M. Cell cycle kinases in cancer [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2007, 17(1):60-65.
- [5] NIGG E A. Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2(1): 21-32.
- [6] WANG S D, MIDGLEY C A, SCAEROU F, et al. Discovery of N-phenyl-4-(thiazol-5-yl) pyrimidin-2-amine Aurora kinase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2010, 53(11): 4367- 4378.
- [7] MAHADEVAN D, BEECK S. Aurora kinase targeted therapeutics in oncology: past, present and future [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2007, 2(7): 1011-1026.
- [8] YANG H, BURKE T, DEMPSEY J, et al. Mitotic requirement for Aurora A kinase is bypassed in the absence of Aurora B kinase [J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(16): 3385-3391.
- [9] GIET R, PETRETTI C, PRIGENT C. Aurora kinases, aneuploidy and cancer, a coincidence or a real link? [J]. *Trends Cell Biol*, 2005, 15(5): 241-250.
- [10] ALIAGAS-MARTIN I, BURDICK D, CORSON L, et al. A class of 2,4-bis pyrimidine Aurora A inhibitors with unusually high selectivity against Aurora B [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(10): 3300-3307.
- [11] LI X, SAKASHITA G, MATSUZAKI H, et al. Direct association with inner centromere protein (INCENP) activates the novel chromosomal passenger protein, Aurora-C [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(45): 47201-47211.
- [12] SASAI K, KATAYAMA H, STENOIEN D L, et al. Aurora-C kinase is a novel chromosomal passenger protein that can complement Aurora-B kinase function in mitotic cells [J]. *Cell Motil Cytoskeleton*, 2004, 59(4): 249-263.
- [13] TALELE T T, MCLAUGHLIN M L. Molecular docking /dynamics studies of Aurora A kinase inhibitors [J]. *J Mol Graphi Model*, 2008, 26(8): 1213- 1222.
- [14] FANCELLI D, DERTA D, BINDI S, et al. Potent and selective aurora inhibitors identified by the expansion of a novel scaffold for protein kinase inhibition [J]. *J Med Chem*, 2005, 48(8): 3080-3084.
- [15] HERON N M, ANDERSON M, BLOWERS D P, et al. SAR and inhibitor complex structure determination of a novel class of potent and specific Aurora kinase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006,16(5): 1320-1323.
- [16] GIET R, PRIGENT C. Aurora/Ipl1p-related kinases, a new oncogenic family of mitotic serine-threonine kinases [J]. *J Cell Sci*, 1999, 112(Pt 21): 3591-3601.
- [17] BAYLISS R, SARDON T, VERNOS I, et al. Structural basis of Aurora-A activation by TPX2 at the mitotic spindle [J]. *Mol Cell*, 2003, 12(4): 851-862.
- [18] LITTLEPAGE L E, WU H, ANDRESSON T, et al. Identification of phosphorylated residues that affect the activity of the mitotic kinase aurora-A [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(24): 15440-15445.
- [19] FANCELLI D, MOLL J, PULICI M, et al. 1H- thieno[2, 3-c]pyrazoles compounds useful as kinase inhibitors: US, WO2007009898 A1 [P]. 2007-01-25.
- [20] BARBERIS C, CARRY J C, DOERFINGER G, et al. Hydrazinocarbonyl-thieno[2,3-c]pyrazoles, preparation method, compositions containing same and use: US, AE, AL, et al, WO2006092510 A1 [P]. 2006-09-08.
- [21] CARRY J C, DOERFLINGER G, BIGOT A, et al. Substituted 1H- thieno[2,3-c]pyrazoles, method for the preparation thereof, compositions containing them and their use thereof: AE, AG AL, et al, WO 2006056697 A1[P]. 2006-06-01.
- [22] MAUGER J, NAIR A, MA L, et al. Preparation of 1,4-dihydropyridine-fused heterocycles as inhibitors of Aurora kinases. EP1746097 A1 [P]. 2007-01-24.
- [23] MORIARTY K J, KOBLISH H K, GARRABRANT T, et al. The synthesis and SAR of 2-amino-pyrrolo [2,3-d]pyrimidines: a new class of Aurora-A kinase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(22): 5778-5783.
- [24] FISCHER P M, WANG S D, MEADES C K, et al. Preparation of 4-(1H-indol-3-yl)-pyrimidin-2-ylamine derivatives as protein kinase inhibitors and their use in therapy. WO2006075152 A1 [P]. 2006-07-20.
- [25] TABART M, BACQVE E, HALIEY F, et al. New pyrrolo pyridine compounds are kinase inhibitors useful as an inhibiting agent for kinase-catalyzed reaction and for the manufacture of a drug to treat cancer. FR2884821A1 [P]. 2006-10-27.
- [26] GEORGES G, GOLLER B, KRELL H, et al. Preparation of pyrazolylbenzimidazole derivatives as Aurora A kinase inhibitors for treatment of cancer: GM, KE, LS, et al, WO2006032519 A1 [P]. 2006-03-30.
- [27] BAVETSIAS V, MACDONALD E, LINARDOPOULOS S, et al. Preparation of imidazopyridines as enzyme inhibitors, especially Aurora kinase inhibitors, for treating cell proliferative diseases. WO2007072017 A2 [P]. 2007-06-28.
- [28] LEW W, BASKARAN S, OSLOB J, et al. Thienopyrimidines useful as Aurora kinase inhibitors and their preparation, pharmaceutical compositions, and their use for treatment of Aurora kinase-mediated diseases. US2006035908 A1 [P]. 2006-02-16.
- [29] DAVIDSON A H, DAVIES S J, MOFFAT D F C, et al. Preparation of quinoline and quinazoline amino acid derivatives as inhibitors of kinase enzymatic activity. WO2006117552 A1 [P]. 2006-11-09.
- [30] ANDO R, OIKE S, TOM OZANE H, et al. Preparation of aminopyrimidine derivatives as aurora 2 kinase inhibitors for treatment of cancer: AE, AG, AL, et al, WO2005113550 A1 [P]. 2005-12-01.

- [31] ADAMS J L, FATIG T H, RALPH J M, et al. Pyrimidinyl-pyrazole inhibitors of Aurora kinases and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of cell proliferative diseases. WO2007024843 A2 [P]. 2007-03-01.
- [32] DUNCAN K, JONES S, MCLACHLAN J, et al. Preparation of pyrimidinyl substituted pyrrolopyrazinones as protein kinase inhibitors useful in treatment of diseases. WO2007042784 A2 [P]. 2007-04-19.
- [33] BURDICK D J, KRUEGER E B, RAWSON T E, et al. Preparation of pyrimidines as Aurora kinase inhibitors. PIXXD2 WO2008079719 A1 [P]. 2008-07-03.
- [34] HOWARD S, BERDINI V, BOULSTRIDGE J A, et al. Fragment- based discovery of the pyrazol-4-yl urea (AT9283), a multi-targeted kinase inhibitor with potent aurora kinase activity [J]. J Med Chem, 2009, 52(2): 379-388.
- [35] ZHONG M, BUI M, SHEN W. et al. 2-Aminobenzimidazoles as potent Aurora kinase inhibitors [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2009, 19(17): 5158-5161.
- [36] FANCELLI D, MOLL J, VARASI M, et al. 1,4,5,6-Tetrahydropyrrolo[3,4-c]pyrazoles: identification of a potent Aurora kinase inhibitor with a favorable antitumor kinase inhibition profile [J]. J Med Chem, 2006, 49(24): 7247-7251.
- [37] TARI L W, HOFFMAN I D, BENSEN D C, et al. Structural basis for the inhibition of Aurora A kinase by a novel class of high affinity disubstituted pyrimidine inhibitors [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17(3): 688-691.
- [38] ZHAO B G, SMALLWOOD A, YANG J S, et al. Modulation of kinase-inhibitor interactions by auxiliary protein binding: Crystallography studies on Aurora A interactions with VX-680 and with TPX2 [J]. Protein Sci, 2008, 17(10): 1791-1797.
- [39] MANFREDI N G, ECSEDY J A, MEETZE K A, et al. Antitumor activity of MLN8054, an orally active small-molecule inhibitor of Aurora A kinase [J]. P Natl Acad Sci USA, 2007, 104(10): 4106-4111.
- [40] CHEUNG C H, COUMAR M S, HSIEH H P, et al. Aurora kinase inhibitors in preclinical and testing [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2009, 18(4): 379-398.
- [41] GADEA B B, RUDEMAN J V. Aurora kinase inhibitor ZM447439 blocks chromosome-induced spindle assembly, the completion of chromosome condensation, and the establishment of the spindle integrity checkpoint in egg extracts [J]. Mol Biol Cell, 2005, 16(3): 1305-1318.
- [42] IKEZOE T, YANG J, NISHIOKA C, et al. A novel treatment strategy targeting Aurora kinases in acute myelogenous leukemia [J]. Mol Cancer Ther, 2007, 6(6): 1851-1857.
- [43] HARRINGTON E A, BEBBINGTON D, MOORE J, et al. VX-680, a potent and selective small molecule inhibitor of the Aurora kinases, suppresses tumor growth *in vivo* [J]. Nat Med, 2004, 10(3): 262-267.
- [44] MONTEBAULT E, PRIGENT C. Aurora kinases: therapeutic potential [J]. Drug Fut, 2005, 30(1): 1-9.
- [45] JONES S F, BURRIS H A, DUMEZ H, et al. Preliminary results of a Phase I accelerated dose-escalation, pharmacokinetic and pharmacodynamic study of PF- 03814735, an oral Aurora kinase A and B inhibitor, in patients with advanced solid tumors [J]. J Clin Oncol(Meeting Abstracts), 2008, 26(15): 2517- 2517.
- [46] MOUNTZIOS G, TERPOS E, DIMOPOULOS M A. Aurora kinases as targets for cancer therapy [J]. Cancer Treat Rev, 2008, 34(2): 175-182.

收稿日期: 2013-11-08

(上接第 1283 页)

性好, 定期复查 PT/INR, 并按药师指导调整华法林剂量, 但仍在出院 2 周 INR 才达到目标范围, 剂量增加略显保守。药师建议对于疑似华法林抵抗患者(携带 *VKORC1-1639 G>A* 型)应住院期间低分子肝素桥接至华法林达标。

4 结论

该患者服用华法林 2 周后未达标, 累计剂量达 60 mg, 考虑其存在华法林抵抗现象。排除后天非遗传因素, 考虑为 *VKORC1* 和 *CYP2C9* 基因多态性的影响, 在起始阶段, *VKORC1* 影响大于 *CYP2C9*, *VKORC1* 与 INR 达标所需时间密切相关; 携带 *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3* 基因型患者需要的华法林剂量较低, *VKORC1-1639 G>A* 华法林剂量较高, 该患者 *CYP2C9 *1/*1*, *VKORC1-1639 GA* 型, *VKORC1-1639 GA* 可从一定程度上解释其达标时间较长, 华法林维持剂量较高。此外, 不能排除其他基因多态性的影响。临床药师应根据患者基因检测结果及 INR 变化及时判断患者是否存在华法林抵抗现象, 对于华法林抵抗患者需长期随访及药学监护。

REFERENCES

- [1] TAN S L, ZHOU X M, LI Z, et al. Diagnosis and treatment of warfarin resistance [J]. J Cent South Univ (Med Sci)(中南大学学报: 医学版), 2013, 38(3): 313-317.
- [2] SINXADI P, BLOCKMAN M. Warfarin resistance [J]. Cardiovasc J Afr, 2008, 19(4): 215-217.
- [3] LAM M P, CHEUNG B M. The pharmacogenetics of the response to warfarin in Chinese [J]. Br J Clin Pharmacol, 2011, 73(3): 340-347.
- [4] YANG L, GE W, YU F, et al. Impact of *VKORC1* gene polymorphism on interindividual and interethnic warfarin dosage requirement—a systematic review and meta analysis [J]. Thromb Res, 2010, 125(4): e159-e66.
- [5] YOSHIZAWA M, HAYASHI H, TASHIRO Y, et al. Effect of *VKORC1-1639 GNA* polymorphism, body weight, age, and serum albumin alterations on warfarin response in Japanese patients [J]. Thromb Res, 2009, 124(2): 161-166.
- [6] RETTIE A E, TAI G. The pharmacogenomics of warfarin [J]. Mol Interv, 2006, 6(4): 223-227.
- [7] XIE S. *VKORC1* and *CYP2C9* polymorphisms are associated with response to warfarin during initial anticoagulation in Chinese [D]. Peking: Peking Union Medical College, 2009.
- [8] YUAN H Y, CHEN J J, LEE M T, et al. A novel functional *VKORC1* promoter polymorphism is associated with interindividual and interethnic differences in warfarin sensitivity [J]. Hum Mol Genet, 2005, 14(13): 1745-1751.
- [9] ZHANG H Y, LUO W W, FANG H R, et al. Influence of *VKORC1*, *CYP2C9*, *CYP4F2* and *EPHX1* gene polymorphisms on warfarin dose [J]. J China Pharm(中国药房), 2012, 23(34): 3201-3205.

收稿日期: 2013-12-09