

Akt 抑制剂的临床研究进展

赵艳梅, 张建康, 蔡兆斌, 庄让笑, 潘金明, 刘寿荣* (杭州市西溪医院, 杭州 310023)

摘要: 随着十几个 Akt 小分子抑制剂先后进入临床研究, Akt 已逐渐成为抗肿瘤药物研究的热门靶点。本文主要综述 Akt 蛋白的结构和功能, 同时详细介绍一些已进入临床试验并且极具开发应用前景的小分子 Akt 抑制剂, 如哌立福新、MK-2206、GSK2110183 等, 并对它们的临床前和临床研究情况进行阐述。

关键词: Akt; 临床研究; 哌立福新; MK-2206; GSK2110183; GSK2141795; GDC0068; AZD5363

中图分类号: R **文献标志码:** B **文章编号:** 1007-7693(2017)04-0625-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.04.033

Clinical Research Progress of Akt Inhibitors

ZHAO Yanmei, ZHANG Jiankang, CAI Zhaobin, ZHUANG Rangxiao, PAN Jinming, LIU Shourong* (Xixi Hospital of Hangzhou, Hangzhou 310023, China)

ABSTRACT: With various clinical trials being conducted of more than ten small Akt inhibitors in these years, the potential of Akt as a promising anti-cancer drug target has been validated. In this review, the structure and function of Akt as well as some promising small Akt inhibitors such as Perifosine, MK-2206 and GSK2110183 are going to be introduced. Additionally, the preclinical and clinical research will be illustrated in detail.

KEY WORDS: protein kinase B(Akt); clinical research; perifosine; MK-2206; GSK2110183; GSK2141795; GDC0068; AZD5363

对细胞信号通路上特定分子或基团的识别促进了肿瘤靶向治疗的发展。PI3K/Akt/mTOR 是目前研究发现的一条重要细胞凋亡信号通路, 近几年来, 围绕该信号通路的研究为靶向抗肿瘤治疗提供了新的思路, 丝/苏氨酸蛋白激酶 Akt, 又名蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB), 作为该细胞信号通路中关键性的节点蛋白也已成为研究的热点。研究表明, Akt 在胃癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、前列腺癌等多种人类肿瘤中均存在过度表达的现象, Akt 功能的异常与这些肿瘤的发生、发展以及对化疗、放疗产生耐受密切相关。因此, Akt 已成为一个极具开发前景的抗肿瘤靶点, 寻找高效、新颖的 Akt 抑制剂也是当前抗肿瘤药物研发的重要策略。

1 Akt 与肿瘤

Akt 位于 PI3K-Akt 信号转导通路的核心位置, 在调控细胞凋亡、增殖和代谢等多种生理活动中发挥重要功能, 见图 1。当信号刺激细胞膜表面受体时, PI3K 被激活并在细胞膜上产生了“第二信使” 3,4,5-三磷酸磷脂酰肌 [phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate, PIP3], PIP3 与 Akt 的 PH 结构

域结合后, 引起胞浆中 Akt 向细胞膜转位, 继而促使胞膜上的 PI3K 依赖性激酶-1(3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1, PDK1)催化 Akt 激酶域的苏氨酸位点 (Akt1/ Thr308、Akt2/Thr309、Akt3/Thr305)使之磷酸化, 同时引起 PI3K 依赖性激酶 2 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase-2, PDK2)使 Akt 的调节域位点 (Akt1/Ser473、Akt2/Ser474、Akt3/Ser472)磷酸化。激活的 Akt 蛋白从细胞膜脱离, 进入细胞浆或者细胞核内, 进而激活其下游一系列信号分子, 如糖原合成酶激酶 3(glycogen synthesis kinase-3 β , GSK-3 β)、半胱天冬酶 caspase-9、MDM2、促凋亡蛋白 Bad 等, 进一步调控细胞生长、分化、凋亡、血管生成等过程^[1-2]。这些研究结果证实, Akt 是一个具有广泛开发前景的抗肿瘤药物靶点, 并已经成为近年来肿瘤基因治疗、抗肿瘤药物开发的热点之一。

尽管 Akt 的 3 种亚型具有高度相似的结构, 但其在体内分布以及生理功能也并非完全相同。研究表明, Akt1 分布遍及全身各组织; Akt2 主要在骨骼肌、脂肪组织及肝脏表达; 而 Akt3 主要分布于大脑、肾脏和肺。通过基因敲除手段进行的

作者简介: 赵艳梅, 女, 硕士, 药师 Tel: (0571)86481960
Tel: (0571)86481960 E-mail: 20109055@zju.edu.cn

E-mail: kongjian723@163.com

*通信作者: 刘寿荣, 男, 博士, 主任医师

相关研究表明, Akt1 主要参与细胞的生存通路和生长控制; Akt2 除了上述功能外, 还参与了胰岛素介导的糖代谢; 而 Akt3 在维持大脑正常体积方面起重要作用^[3]。这也提示了在临床药物研究中有必要对靶向 Akt 的 3 个亚型小分子抑制剂分别进行开发。

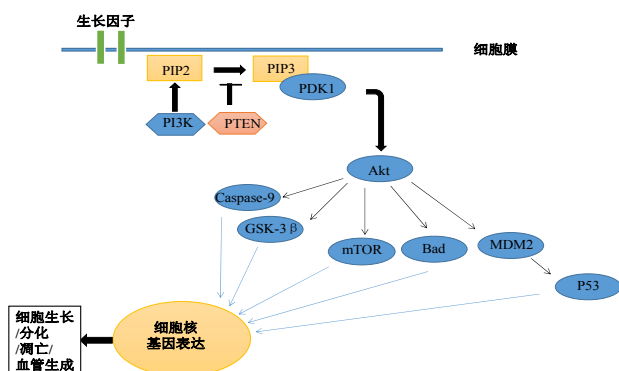


图 1 Akt 信号转导通路在肿瘤中的作用

Fig. 1 Role of the Akt signaling pathway in cancer

2 Akt 蛋白结构与功能

Akt(PKB), 为 AGC 蛋白激酶家族成员, 与 PKA 及 PKC 具有高度的同源性。在同源蛋白 PKA、PKC 及逆转录病毒 v-Akt (viral-Akt) 的基础上, 人类首次发现 Akt 蛋白^[4]。目前已知的 Akt 家族成员有 Akt1、Akt2、Akt3 的 3 种亚型, 这 3 种亚型具有 80% 以上的同源性, 分别定位于人染色体 14q32.32、19q13.1-19q13.2 和 1q44^[5-6]。研究发现, Akt 的不同亚型在结构和功能方面均具有高度一致性, 只是在不同肿瘤中的表达水平有所不同^[7-8]。

所有的 Akt 亚型都由 1 个氨基末端的 PH 结构域、中部的激酶结构域(ATP 结合域)以及羧基末端的调节结构域组成, 见图 2^[5], 并且 3 种亚型的活化方式也高度一致。首先是 Akt 的 PH 结构域, PH 结构域能够与上游 PI3K 产生的第二信使 4,5-二磷酸磷脂酰肌醇[phosphatidylinositol (4,5) bisphosphate, PIP2]及其磷酸化后产生的 PIP3 以相对较高的亲和力特异性地结合, 介导 Akt 定位于膜上并使其磷酸化^[9], 其对 Akt 的活化起重要作用。其次是 Akt 的激酶结构域, 即催化域, 其功能是将 ATP 上的磷酸基团催化转移到底物的丝氨酸/苏氨酸或者酪氨酸残基上, 激酶域中包含 1 个保守的苏氨酸位点(Akt1/Thr308、Akt2/Thr309、Akt3/Thr305), 该位点的磷酸化是 Akt 活化所必需

的^[10]。最后是在催化结构域后的羧基末端为 Akt 的调节结构域, 该调节域含有 Akt 活化所需的第 2 个磷酸化位点 (Akt1/Ser473、Akt2/Ser474、Akt3/Ser472)。激酶域苏氨酸位点的磷酸化使 Akt 具有了部分活性, 而调节域位点的磷酸化则使 Akt 的活性进一步提高, 并且稳定了 Akt 的活性结构。

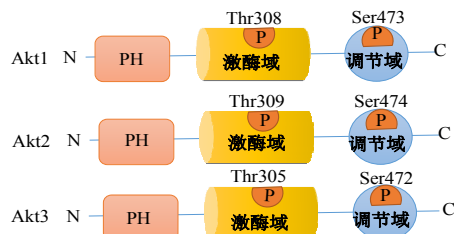


图 2 Akt 亚型蛋白结构示意图

Fig. 2 Various structures of the Akt isoforms

3 进入临床研究的 Akt 抑制剂

虽然目前还没有 Akt 抑制剂在临床上使用, 但已有十几个 Akt 小分子抑制剂进入临床开发阶段, 见表 1。根据与 Akt 蛋白结合模式的差异, 这些药物可以分为 3 类: 作用于蛋白 PH 结构域的磷脂酰肌醇类似物—哌立福新, 变构抑制剂—MK2206 及经典的 ATP 竞争性抑制剂—GSK2110183、GSK2141795、GDC0068、AZD5363 等。

3.1 哌立福新一临床 III 期

哌立福新是由 Aeterna Zentaris 公司开发的一类磷脂酰肌醇类似物, 也是第一个进入临床研究的 Akt 抑制剂, 结构式见图 3A。它能够靶向作用于 Akt 的 PH 结构域, 通过阻碍 PIP3 与 Akt 的 PH 结构域结合, 使 Akt 不能从细胞转移到细胞膜, 从而抑制 Akt 的活化。研究表明, 哌立福新不仅抑制 Akt 介导的细胞信号通路, 同时也作用于 MAPK 和 JNK 相关信号通路。

在临床前研究中, 哌立福新能够抑制永生化角质形成细胞(HaCaT 细胞)和头颈部鳞状癌细胞的增殖($IC_{50}=0.6\sim8.9\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 也能大大降低 Akt 的磷酸化水平, 诱导细胞周期停滞在 G1 和 G2 期, 并引起小鼠神经胶质祖细胞的剂量依赖性生长抑制^[11]。此外, 哌立福新对小鼠神经母细胞瘤表现出良好的抗肿瘤活性。当与放射疗法联合使用时, 其对人类鳞状细胞癌也显示出较强的抑制活性。在大鼠乳腺癌模型中, 与米替福新相比, 当给药负荷剂量为 $68.1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时维持剂量为 $2.15\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ^[12], 哌立福新在疗效和毒性上显示出更大的优势。

表 1 进入临床研究的 Akt 抑制剂

Tab. 1 Akt inhibitors in clinical development

化合物	研发公司	给药方式	联用/单用	临床研究阶段	临床试验
哌立福新	Aeterna Zentaris	口服	联用/单用	II / III	NCT01051557
					NCT01049841
					NCT01097018
					NCT01224730
					NCT02238496
MK-2206	Merck	口服	联用/单用	II	NCT01802320
					NCT01776008
					NCT01859182
					NCT01783171
					NCT01705340
GSK2141795	GSK	口服	联用/单用	II	NCT01941927
					NCT01907815
					NCT01935973
GSK2110183	GSK	口服	联用/单用	I / II	NCT02380313
					NCT02235740
					NCT02240212
					NCT02177682
					NCT02040480
GDC-0068	Array Biopharma, Genentech	口服	联用/单用	I / II	NCT01896530
					NCT01485861
					NCT01362374
					NCT01090960
					NCT02576444
AZD5363	英国癌症 研究所、 Astell	口服	联用/单用	II	NCT02664935
					NCT02449655
					NCT02451956
					NCT02525068
					NCT02476955
ARQ0092	ArQule	口服	联用/单用	I	NCT01473095
AT13148	英国癌症 研究所	口服	单用	I	NCT01585701
GSK690963	GSK	注射	单用	Failed	/
XL148	Exelixis	口服	单用	Failed	/

注：数据来源于 www.clinicaltrials.gov；除所列临床试验，还有其他试验正在进行中。

Note: The data comes from www.clinicaltrials.gov; In addition to the clinical trials listed, other trials were in progress.

基于这些优异的临床前研究数据，研究人员针对哌立福新开展了十几项临床试验。在 I 期临床试验中，哌立福新不仅具有较佳的安全性和耐受性，其联合放射疗法用于治疗肿瘤也取得了较好疗效^[13]。此外，哌立福新与其他靶向治疗药物如索拉菲尼、mTOR 抑制剂 Temsirolimus 等的联用，大大促进了双重抑制疗法的发展^[14-15]。在 II 期临床试验中，其对包括恶性血液肿瘤和实体瘤在内的一系列肿瘤的疗效明显且毒性较小，同时，哌立福新联合地塞米松治疗多发性骨髓瘤也取得了较好结果。另外，哌立福新在用作治疗多发性骨髓瘤和顽固性直肠癌的口服新药进入了 III 期临床试验^[16]，但此项研究最终因疗效欠佳于 2013 年

6 月宣告失败。目前，一项针对联用或不联用哌立福新，对地塞米松与硼替佐米联用治疗血液肿瘤的 III 期临床试验正在进行中^[17]。

尽管哌立福新能够较好地作用于 Akt 的 PH 结构域，并达到有效抑制活性，但由于蛋白 PH 结构域氨基酸序列的保守性，且研究表明人体约有 40 个蛋白需通过其 PH 结构域与 PI3K 结合来发挥重要生理作用^[18]，所以该类抑制剂的选择性可能存在问题，但目前几乎没有研究报道涉及其他蛋白 PH 结构域的选择性问题，因此需要更进一步的研究。虽然这类抑制剂开发相对较早，但普遍存在溶解性差、易聚集、药动学性质较差等方面的问题，目前进展也十分缓慢。除哌立福新外，无其他靶向 PH 结构域的 Akt 抑制剂进入临床研究。

3.2 MK-2206—临床 II 期

MK-2206 是由美国 Merck 公司研究发现的第一个进入临床研究阶段的 Akt 小分子变构抑制剂，结构式见图 3C。最初研究人员筛选发现，化合物 A(图 3B)不仅具有一定的 Akt 抑制活性，还对 Akt 的不同亚型有一定选择性^[19]。随后，该研究小组对化合物 A 进行一系列的结构修饰和改造，包括最终引入三氮唑并蔡啶母核和末端的环丁烷，得到化合物 MK-2206。研究人员发现，Akt 在激活之前主要以“PH-in”的构象存在，PH 结构域与激酶催化区处于一种折叠的状态，两区域之间会产生特殊的变构位点(位于短肽 Link 上)，而 MK-2206 能与此变构位点结合，锁定 Akt 的“PH-in”状态，限制 Akt 发生构象改变，进而抑制 Akt 激活^[14,20]，也阻止 Akt 调节的下游信号分子[包括结节性硬化症 2 蛋白(tuberous sclerosis complex 2, TSC2)、PRAS40 及核糖体 S6 蛋白]的磷酸化作用。由于 Akt 的 3 种亚型在此变构位点存在一定差距，因此 MK-2206 能在一定程度上实现 Akt 亚型间的选择性(Akt1、Akt2 和 Akt3 的 IC₅₀ 分别为 8, 12, 65 nmol·L⁻¹)。

临床前研究发现，MK-2206 在细胞水平对 Akt 的 3 个亚型的抑制活性都达到了纳摩尔水平。与抑制 Ras 突变型细胞系(如 NCI-H358、NCI-H23、NCI-H1299 和 Calu-6)相比，MK-2206 更能有效抑制 Ras 野生型细胞系(如 A431、HCC827 和 NCI-H292)。当与细胞毒素药剂如厄罗替尼和拉帕替尼联用，作用于肺部 NCI-H460 肿瘤细胞或卵巢 A2780 肿瘤细胞，MK-2206 显示出协同效应^[15]。

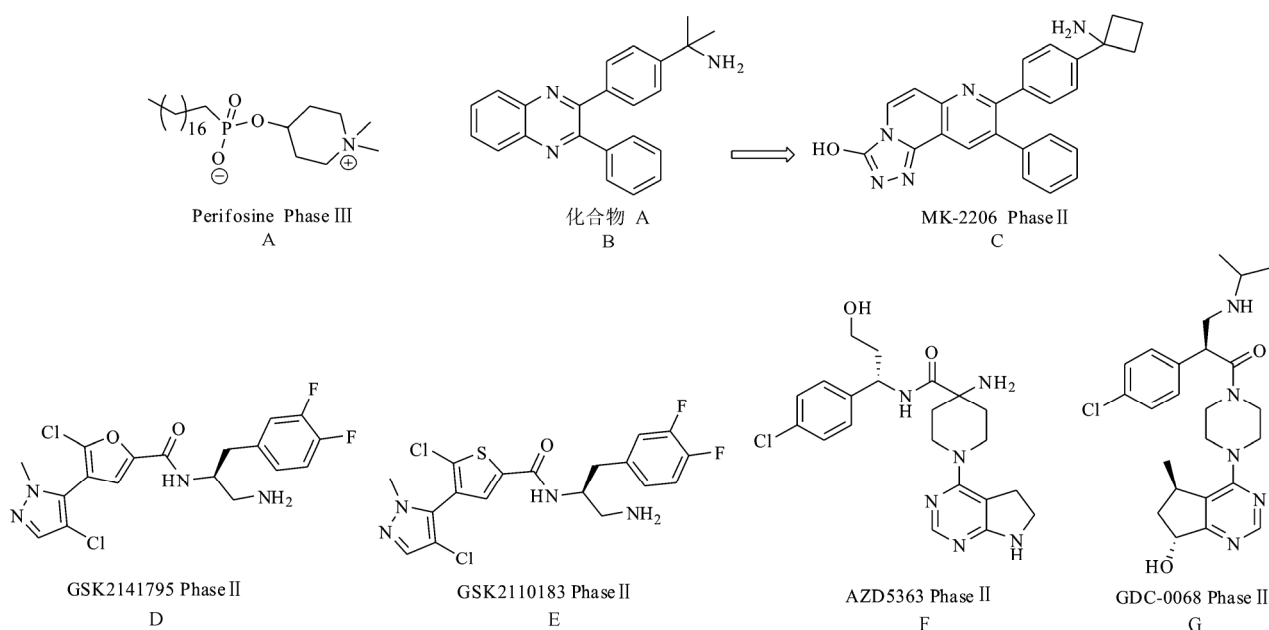


图3 化合物 A 及进入临床研究的 Akt 抑制剂结构式

Fig. 3 Compound A and Akt inhibitors in clinical research

与细胞毒素药剂联用作用于 NCI-H292 移植瘤, MK-2206 也显示出非常有效的抗癌活性^[21]。

鉴于其较好的临床前研究数据, MK-2206 的临床进展十分迅速。目前, 针对 MK-2206 的多项 I 期和 II 期临床试验已经完成。在 I 期临床试验中, MK-2206 表现出良好的安全性和耐受性^[20]; 其针对局部晚期或转移性肿瘤的 I 期临床试验也展现较好疗效; MK-2206 针对铂-耐药的复发性卵巢、输卵管或腹膜癌的 II 期临床研究也已顺利完成。目前, 针对 MK-2206 的临床 III 期研究还没有报道。而对 Akt 小分子变构抑制剂的研究, 主要集中在对 MK-2206 类化合物进一步的结构优化, 这也限制了该类变构抑制剂的迅速发展^[22]。

3.3 GSK2141795 和 GSK2110183

GSK2141795 和 GSK2110183 是近几年葛兰素史克公司研发的高效、可口服小分子 Akt 抑制剂, 二者结构高度相似, 都属于五元杂环类衍生物, 结构式见图 3D~E。

临床前试验结果表明, GSK2110183 对多重 Akt 底物磷酸化水平, 包括 GSK3b、PRAS40、FOXO 和 caspase 9 表现出浓度依赖性作用。总体 65% 的血液学细胞系对 GSK2110183 ($EC_{50} < 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 敏感。在测试的实体肿瘤细胞系中, 21% 对 GSK2110183 响应 ($EC_{50} < 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[23]。在临床试验中, GSK2141795 和 GSK2110183 单独或联合用药均具有优异的抗肿瘤效果, 前者与 Raf 抑制剂达

拉菲尼或 MEK 抑制剂曲美替尼联用正在开展多项 II 期临床研究, 用于治疗多发性骨髓瘤、转移性黑色素瘤等^[24]; 后者针对血液瘤和实体瘤的多项 II 期临床研究也正在开展中^[25], 如针对 GSK2110183 与奥法木单抗联用治疗慢性淋巴细胞白血病 (NCT01532700)^[26]。目前, 针对 GSK2141795 和 GSK2110183 的临床 III 期研究还未见报道。

ATP 竞争性抑制剂是研究最广泛的一类 Akt 抑制剂, 这类抑制剂通过竞争性作用于 Akt 的 ATP 口袋, 阻碍 Akt 下游底物蛋白的磷酸化而发挥抗肿瘤作用。由于同属于 AGC 家族蛋白, Akt 与 PKA、PKC 等蛋白在 ATP 结合口袋存在高度相似性, 所以这类 ATP 竞争性抑制剂都存在一定程度上的激酶选择性问题^[27], 对 Akt 蛋白的 3 种亚型也没有选择性 (如 GSK2110183 对 Akt1、Akt2 和 Akt3 的 IC_{50} 分别为 0.08, 2, $2.6 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

3.4 GDC-0068

GDC-0068 (Ipatasertib) 是 Array Biopharma 和 Genentech 公司联合研发的一类高选择哌嗪类 pan-Akt 抑制剂。目前已顺利进入 II 期临床研究, 结构式见图 3G。

临床前研究表明, 在无细胞试验中, GDC-0068 对 Akt 的选择性是 PKA 的 620 倍。在 230 种激酶测试中, GDC-0068 只抑制 3 种激酶 (PRKG1 α 、PRKG1 β 、p70S6K, IC_{50} 分别为 98, 69, $860 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[28]。

用 GDC-0068 处理多种移植瘤模型包括 PTEN-缺陷的前列腺癌模型 LNCaP 和 PC3, 突变的乳腺癌模型 KPL-4 和 MCF7-neo/HER2 肿瘤模型, 均表现出良好的抗癌活性。

针对 GDC-0068 的 I 期临床试验结果显示, 其与一般化疗药物联合使用对多种实体瘤具有明显治疗作用, 且毒性可控。目前, 数十项 GDC-0068 与其他药物联合用药临床 II 期研究正在开展^[21]。如 GDC-0068、奥沙利铂及氟嘧啶联合用药, 用于转移性胃癌的 II 期临床研究正在进行中; 其与醋酸阿比特龙联用, 用于前列腺癌的 II 期临床研究也正在进行中。目前, 针对 GDC-0068 的临床 III 期研究还未见报道。需要强调的是, 它是目前临床试验中唯一具有较好 PKA 选择性的 ATP 竞争性抑制。

3.5 AZD5363

AZD5363 是英国癌症研究所和 Astex 公司联合研发的一类具有 6-苯基嘌呤结构、口服无 hERG 毒性的泛 Akt 抑制剂, 结构式见图 3E。在临床前研究中, 其对 Akt 的 3 个亚型 IC₅₀ 分别为 3, 8, 8 nmol·L⁻¹, 除了对 P70S6K 和 PKA 具有相似的抑制效果(IC₅₀ 分别为 6, 7 nmol·L⁻¹), AZD5363 对 ROCK1/2 等其他激酶的抑制活性较低, 有较好的选择性及发展前景。

基于其良好的体内外抗肿瘤活性, 目前针对 AZD5363 单独用药或与其他药物联合使用的多项临床 I 期试验已完成, 如针对转移性恶性肿瘤患者的临床 I 期试验^[29]; 针对前列腺癌患者的安全性、耐受性及疗效的临床 I 期试验, 其可喜的 I 期临床数据使得 AZD5363 迅速被推入 II 期临床^[30], 目前多项 II 期临床研究正在进行中, 如 mTOR 抑制剂 AZD2014 与 AZD5363 联用, 针对复发性子宫内膜癌或卵巢癌的 II 期临床研究; 其对耐药性乳腺癌的治疗作用的 II 期临床研究等。而目前针对 AZD5363 的临床 III 期研究还未见报道。

4 结语

Akt 已成为一个明确的抗肿瘤靶点, 开发新颖、高效的小分子 Akt 抑制剂也被越来越多人关注。自 2003 年第一个 Akt 小分子抑制剂被公开以来, 不同作用机制和结构类型的小分子 Akt 抑制剂如雨后天春笋般涌现。先后有十几个 Akt 抑制剂进入临床研究阶段, 其中主要包括作用于 PH 结构域的磷脂酰肌醇类似物、变构抑制剂及经典的 ATP

竞争性抑制剂。磷脂酰肌醇类似物是开发最早的一类 Akt 抑制剂, 其代表药物是哌立福新, 然而这类化合物的研究进展十分缓慢, 普遍存在类药性差等方面的问题, 同时由于蛋白 PH 结构域氨基酸序列的保守性, 这类化合物对人体同样需要通过其 PH 结构域与 PI3K 结合来发挥重要生理作用的蛋白选择性差, 对 Akt 蛋白的 3 个亚型也没有选择性。目前对这类化合物的开发已不是研究的热点。变构抑制剂对 Akt 蛋白的 3 个亚型在一定程度上具有选择性, 其代表药物 MK-2206 的临床进展也十分迅速, 但目前具有全新骨架的其他变构抑制剂报道较少, 大部分都是在 MK-2206 骨架基础上通过结构优化得到, 这些也限制了变构抑制剂的发展。ATP 竞争性 Akt 抑制剂是研究得最广泛的一类抑制剂, 大部分进入临床研究的 Akt 抑制剂都属于这类, 虽然这类抑制剂对 Akt 的 3 个亚型没有选择性, 对同属于 AGC 家族的 PKA、PKB、PKC 等蛋白的激酶选择性也有一定问题, 但随着晶体学、结构生物学及计算机辅助药物设计学的发展, 具有一定选择性的 ATP 竞争性抑制剂的研发也取得了较大进展, 如候选药物 GDC-0068 能够实现对 PKA 蛋白的选择性, 具有良好发展前景。

临床研究表明, 大部分 Akt 抑制剂单独用药能够达到较好的抗肿瘤效果, 而与其他抗肿瘤药物联合使用可产生显著的协同作用, 并减轻不良反应, 联合用药已成为 Akt 抑制剂的临床主要评价方式。虽然磷脂酰肌醇类似物哌立福新治疗晚期难治性大肠癌的 III 期临床试验宣告失败, 但同时也有多个活性高、选择性好的候选药物出现, 且临床评价结果令人鼓舞。尽管 Akt 抑制剂存在的药动学性质差及毒性高等一些关键性问题都未完全解决, 且开发新型、高效的 Akt 抑制剂依旧任重而道远, 但随着对 Akt 结构认识的逐渐深入以及临床后期研究结果的相继公开, Akt 抑制剂的研究将进入一个新的发展阶段, 将会有更多有潜力的候选化合物进入临床试验, 这也必将给肿瘤患者带来新希望。

REFERENCES

- [1] FREDULSPERGER C, HORN D, WEISSFUSS S, et al. Phosphorylation of AKT(Ser473) serves as an independent prognostic marker for radiosensitivity in advanced head and neck squamous cell carcinoma [J]. Int J Cancer, 2015, 136(12):

- 2775-2785.
- [2] CHEN J M, LIAN X L, DU J, et al. Inhibition of phosphorylated Ser473-Akt from translocating into the nucleus contributes to 2-cell arrest and defective zygotic genome activation in mouse preimplantation embryogenesis [J]. *Dev Growth Differ*, 2016, 58(3): 280-292.
 - [3] WANG Q, YU W N, CHEN X, et al. Spontaneous Hepatocellular Carcinoma after the Combined Deletion of Akt Isoforms [J]. *Cancer Cell*, 2016, 29(4): 523-535.
 - [4] ZHAO L R, DU Y J, CHEN L L, et al. Mentin-1 promotes the growth of neural stem cells via activation of Akt signaling [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(3): 1859-1864.
 - [5] BRODBECK D, CRON P, HEMMINGS B A. A human protein kinase Bgamma with regulatory phosphorylation sites in the activation loop and in the C-terminal hydrophobic domain [J]. *Biol Chem*, 1999, 274(14): 9133-9136.
 - [6] ZHANG X, ZHANG S, YAMANE H, et al. Kinetic mechanism of AKT/PKB enzyme family [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(20): 13949-13956.
 - [7] THOMAS C C, DEAK M, ALESSI D R. High-resolution structure of the pleckstrin homology domain of protein kinase B/Akt bound to phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate [J]. *Curr Biol*, 2002, 12(14): 1256-1262.
 - [8] MAFFUCCI T, FALASCA M. Specificity in pleckstrin homology (PH) domain membrane targeting: a role for a phosphoinositide-protein co-operative mechanism [J]. *FEBS Lett*, 2001, 506(3): 173-179.
 - [9] BERGES C, BEDKE T, STUEHLER C, et al. Combined PI3K/Akt and Hsp90 targeting synergistically suppresses essential functions of alloreactive T cells and increases Tregs [J]. *J Leukoc Biol*, 2015, 98(6): 1091-1105.
 - [10] LINDSLEY C W. The Akt/PKB family of protein kinases: a review of small molecule inhibitors and progress towards target validation: a 2009 update [J]. *Curr Top Med Chem*, 2010, 10(4): 458-477.
 - [11] MOMOTA H, NERIO E, HOLLAND E C. Perifosine inhibits multiple signaling pathways in glial progenitors and cooperates with temozolomide to arrest cell proliferation in gliomas *in vivo* [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(16): 7429-7435.
 - [12] NCT00398814. Phase I study of perifosine+sorafenib for patients with advanced cancers [EB/OL]. 2014-02-14. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=NCT00398814&search=Search>.
 - [13] FIGG W, MONGA M, HEADLEE D, et al. A phase I and pharmacokinetic study of oral perifosine with different loading schedules in patients with refractory neoplasms [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2014, 74(5): 955-967.
 - [14] CALLEJA V, LAGUERRE M, PARKER P J, et al. Role of a novel PH-kinase domain interface in PKB/Akt regulation: structural mechanism for allosteric inhibition [J]. *PLoS Biol*, 2009, 7(1): e17.
 - [15] HIRAI H, SOOTOME H, NAKATSURU Y, et al. MK-2206, an allosteric Akt inhibitor, enhances antitumor efficacy by standard chemotherapeutic agents or molecular targeted drugs *in vitro* and *in vivo* [J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(7): 1956-1967.
 - [16] RICHARDSON P G, ENG C, KOLESAR J, et al. Perifosine, an oral, anti-cancer agent and inhibitor of the Akt pathway: mechanistic actions, pharmacodynamics, pharmacokinetics, and clinical activity [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2012, 8(5): 623-633.
 - [17] NCT01002248. Assessment of efficacy and safety of perifosine, bortezomib and dexamethasone in multiple myeloma patients [EB/OL]. 2014-02-14. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=NCT01002248&search=Search>.
 - [18] REBECCHI M J, SCARLATA S. Pleckstrin homology domains: a common fold with diverse functions [J]. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 1998, 27: 503-528.
 - [19] LINDSLEY C W, ZHAO Z, LEISTER W H, et al. Allosteric Akt (PKB) inhibitors: discovery and SAR of isozyme selective inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15(3): 761-764.
 - [20] MATTMANN M E, STOOPS S L, LINDSLEY C W. Inhibition of Akt with small molecules and biologics: historical perspective and current status of the patent landscape [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2011, 21(9): 1309-1338.
 - [21] LIN J, SAMPATH D, NANNINI M A, et al. Targeting activated Akt with GDC0068, a novel selective Akt inhibitor that is efficacious in multiple tumor models [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(7): 1760-1772.
 - [22] LAYTON M. Discovery of oral allosteric AKT kinase inhibitors for the treatment of cancer [C]. Abstracts of Papers, 246th ACS National Meeting & Exposition, Indianapolis, IN, United States, September 8-12, 2013, MEDI-300.
 - [23] DUMBLE M, CROUTHAMEL M C, ZHANG S Y, et al. Discovery of novel AKT inhibitors with enhanced anti-tumor effects in combination with the MEK inhibitor [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): 30.
 - [24] BLAGDEN S, HAMILTON A, MILESHKIN L, et al. Afuresertib (GSK2110183), an oral AKT kinase inhibitor, in combination with carboplatin AKT and paclitaxel in recurrent ovarian cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2014(50): 7.
 - [25] SPENCER A, YOON S S, HARRISON J, et al. The novel AKT inhibitor afuresertib shows favorable safety, pharmacokinetics, and clinical activity in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2014, 124(14): 2190-2195.
 - [26] NCT01532700. An open-label phase 2 study of ofatumumab (Arzerra) in combination with oral GSK2110183 in the treatment of relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL) [EB/OL]. 2016-10-31. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01532700>.
 - [27] WU W I, VOEGTLI W C, STURGIS H L, et al. Crystal structure of human AKT1 with an allosteric inhibitor reveals a new mode of kinase inhibition [J]. *PLoS One*, 2010, 5(9): e12913. doi: 10.1371/journal.pone.0012913.
 - [28] BLAKE J F, XU R, BENCSIK J R, et al. Discovery and preclinical pharmacology of a selective ATP-competitive Akt inhibitor (GDC0068) for the treatment of human tumors [J]. *J Med Chem*, 2012, 55(18): 8110-8127.
 - [29] ADDIE M, BALLARD P, BUTTAR D, et al. Discovery of 4-amino-N-[(1S)-1-(4-chlorophenyl)-3-hydroxypropyl]-1-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)piperidine-4-carboxamide(AZD5363), an orally bioavailable, potent inhibitor of Akt kinases [J]. *Med Chem*, 2013, 56(5): 2059-2073.
 - [30] DAVIES B R, GREENWOOD H, DUDLEY P, et al. Preclinical pharmacology of AZD5363, an inhibitor of AKT: pharmacodynamics, antitumor activity, and correlation of monotherapy activity with genetic background [J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(4): 873-887.

收稿日期: 2016-05-19

(本文责编: 蔡珊珊)