

# BTK抑制剂治疗炎症和自身免疫性疾病的 研究进展

杨婉萍, 房小宝, 马宇乐, 施志浩\*

中国药科大学理学院, 江苏 南京

收稿日期: 2022年1月11日; 录用日期: 2022年2月10日; 发布日期: 2022年2月28日

---

## 摘要

布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)在B细胞受体和Fc受体信号通路具有至关重要的作用,同时还参与Toll样受体和趋化因子受体的调节,由于其在免疫过程中的核心作用,BTK抑制作为一种治疗炎症和自身免疫性疾病的方法具有巨大潜力。现已上市了五款BTK抑制剂,其适应症主要集中在抗肿瘤领域。本文综述了BTK的结构功能以及近五年在治疗炎症和自身免疫性疾病领域内BTK小分子抑制剂的研究进展,以求为此领域的进一步研究工作提供理论帮助和指导。

## 关键词

BTK抑制剂, 炎症, 自身免疫, 结构分析

---

# Research Progress of BTK Inhibitors in the Treatment of Inflammatory and Autoimmune Diseases

Wanping Yang, Xiaobao Fang, Yule Ma, Zhihao Shi\*

School of Science, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu

Received: Jan. 11<sup>th</sup>, 2022; accepted: Feb. 10<sup>th</sup>, 2022; published: Feb. 28<sup>th</sup>, 2022

---

## Abstract

Bruton's tyrosine kinase (BTK) plays a crucial role in B-cell receptor and Fc receptor signaling pathways. BTK is also involved in the regulation of Toll-like receptors and chemokine receptors.

\*通讯作者。

Given the central role of BTK in immunity, BTK inhibition represents a promising therapeutic approach for the treatment of inflammatory and autoimmune diseases. Five BTK inhibitors have been listed, and their indications are mainly in the field of anti-tumor. This article reviewed the structure and function of BTK and the research progress of BTK inhibitors in the treatment of inflammation and autoimmune diseases in the past five years, which provided theoretical help and guidance for further research in the field.

## Keywords

BTK Inhibitors, Inflammation, Autoimmunity, Structural Analysis

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 背景

布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)是 Tec 家族中的非受体胞质酪氨酸激酶[1]。在 B 淋巴细胞中, BTK 活性对于 B 细胞受体(BCR)介导的激活至关重要, 可引起细胞发育、抗体和细胞因子产生以及共刺激分子表达[2]。研究表明, B 细胞是包括类风湿性关节炎(RA)、系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合征(SS)和多发性硬化症(MS) [3] [4]等炎症和自身免疫性疾病的关键参与者。BTK 正向调节巨噬细胞中的 Fc 受体(FcR)信号和肥大细胞以及嗜碱性粒细胞中的 Fcε 受体(FcεR)信号, 其在 RA 发病机制中的重要性也得到了证明[5]。BTK 抑制还对其他一些自身免疫性疾病的显示出积极的治疗结果, 包括荨麻疹、免疫性血小板减少症(ITP)、天疱疮和 IgG4 相关疾病(RD)。最近的临床结果证明了 BTK 抑制剂在治疗严重的新型冠状病毒 19 (COVID-19)背景下的过度炎症和预防严重肺损伤方面的有效性[6]。目前已经上市的 5 款 BTK 抑制剂已在多种由致病 B 细胞或骨髓细胞驱动的炎症或自身免疫性疾病的临床前模型中显示出疗效, 并且一些分子已进入临床试验, 但到目前为止, 还没有 BTK 抑制剂被批准用于炎症或自身免疫性疾病。本文综述了 BTK 的结构功能和近五年 BTK 抑制剂在炎症或自身免疫性疾病的研究进展, 以期为相关药物开发提供参考。

## 2. BTK 结构和生物学功能

BTK 是一种含 659 个氨基酸残基的蛋白质, 主要包含五个结构域: 一个 N 端 pleckstrin 同源(PH)结构域、一个富含脯氨酸的 TEC 同源(TH)结构域、两个 SRC 同源结构域(SH2/SH3)和一个 C 末端酪氨酸激酶结构域(TK) (也称为 SH1) [7]。PH 结构域与磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸(PIP3)结合并促进 BTK 定位于细胞膜。TH 结构域包含高度保守的锌指基序和富含脯氨酸的区域。LYN 或脾酪氨酸激酶(SYK)在催化激酶结构域中的 Tyr551 处发生第一次转磷酸化。然后, SH3 结构域内 Tyr223 的自磷酸化稳定了 BTK 的活性构象并完全激活了 BTK。激活的 BTK 将与 SH2 域中的衔接蛋白 BLNK 相互作用并激活一系列下游级联反应[4] (图 1 和图 2)。

BTK 是将 BCR 信号、FcR 信号、TLR 信号和趋化因子受体信号连接起来的关键激酶。BCR 是表达于 B 细胞表面的特异性抗原受体, 其与 Igα/Igβ 异源二聚体结合后被整合到 BCR 复合物中。当特定抗原与 BCR 复合物结合时, SRC 家族激酶 LYN 会磷酸化 Igα/Igβ 胞质尾部内的免疫受体酪氨酸激活基序(ITAM)残基, 然后激活 SYK。SYK 激活后磷酸化一种称为 BLANK 的 B 细胞接头蛋白, 其是连接 BTK

和磷脂酶 C- $\gamma$ 2 (PLC $\gamma$ 2)的桥梁。BTK 被两个关键酪氨酸残基(Tyr551 和 Tyr223)的连续磷酸化而激活。激活的 BTK 和 SYK 磷酸化 PLC $\gamma$ 2。进而导致下游信号 NFAT、NF- $\kappa$ B 和 MAPK 通路等的激活,从而引起细胞的增殖分化、抗体和细胞因子的产生以及共刺激分子的表达[8] (图 2)。

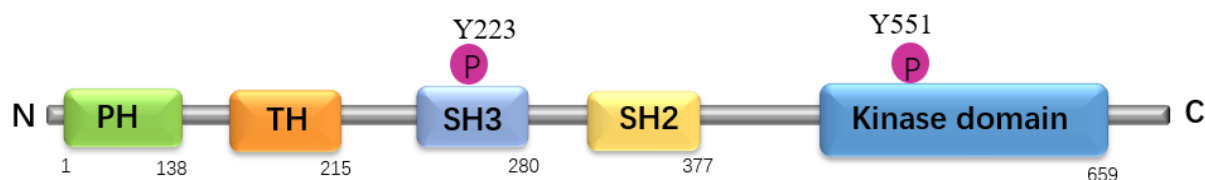


Figure 1. Bruton's tyrosine kinase (BTK) structure diagram

图 1. 布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)结构图

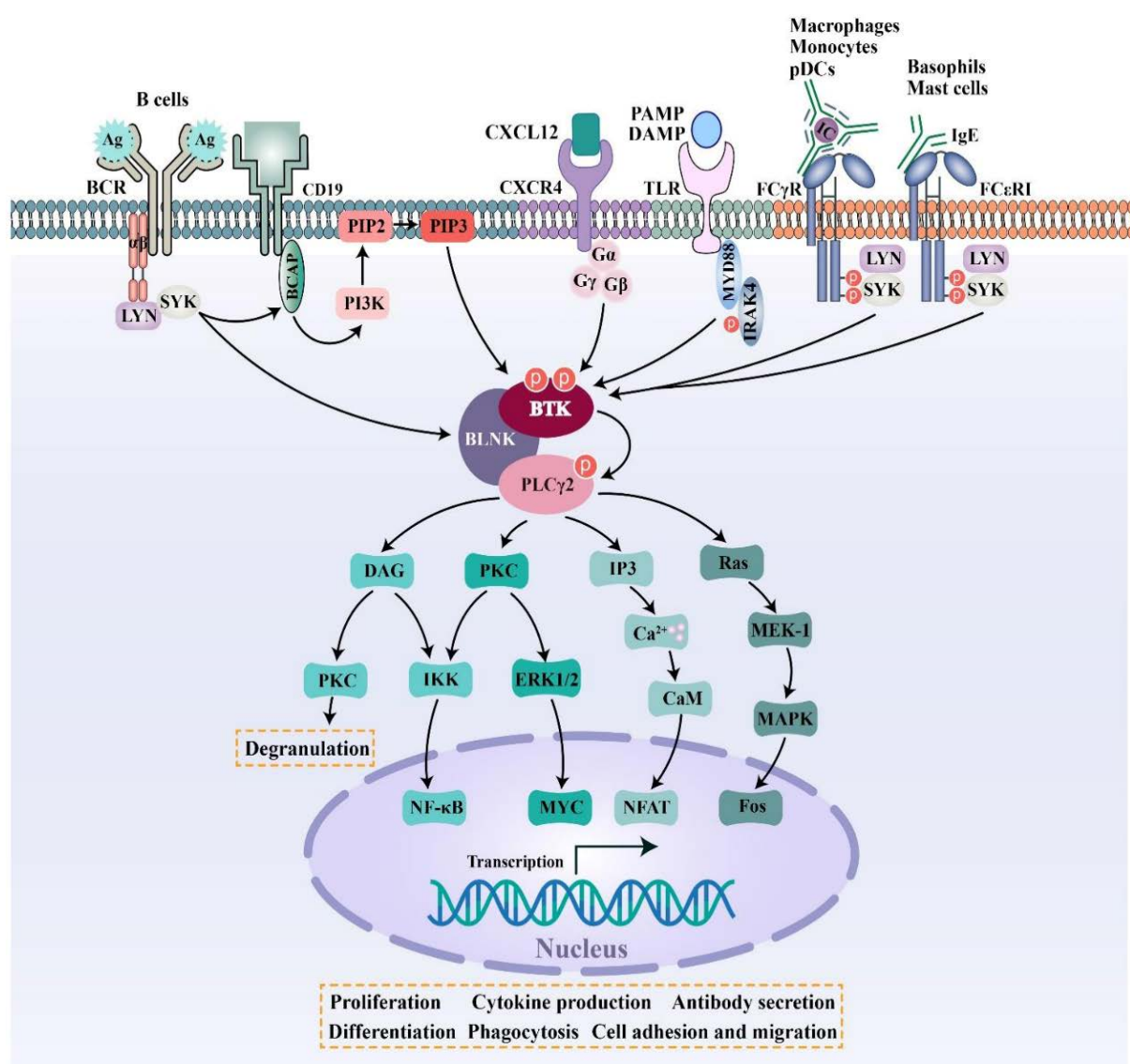


Figure 2. BTK regulates multiple receptor signaling pathways including those of the B-cell receptor (BCR), Fc receptor (FcR), Toll-like receptor (TLR) and chemokine receptor [4]

图 2. BTK 调节的多种受体信号通路(B 细胞受体(BCR)、Fc 受体(FcR)、Toll 样受体(TLR)和趋化因子受体) [4]

免疫球蛋白的不同亚型可通过与各自的 FcRs 结合而作为效应物。IgG 抗体与巨噬细胞、单核细胞和浆细胞样树突细胞(pDCs)上的 Fc $\gamma$ R 结合以启动细胞信号通路,最终触发细胞活化、炎症细胞因子产生或吞噬作用[9]。IgE 抗体与肥大细胞和嗜碱性粒细胞上的 Fc $\epsilon$ R 结合以诱导脱粒和细胞因子产生[10] [11]。BTK 在 FcRs 激活后被激活,进而触发下游信号事件。

除了 B 和 T 淋巴细胞外,在人体中发现的 10 种 TLR 在包括巨噬细胞、单核细胞、中性粒细胞、树突状细胞和内皮细胞[12]等许多不同的细胞类型上表达。大多数 TLR 在细胞表面表达并识别细胞外入侵的病原体。一组由 TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9 组成的 TLRs 在胞内体中表达并识别各种来源的病毒、细菌或 DAMPs [12]。在不依赖抗原的 TLR 信号通路中,大多数 TLR 需要 MYD88 来介导激活信号。随后 BTK 被募集到一个复杂的下游信号,以促进细胞增殖、抗体分泌和促炎细胞因子的产生[6]。然而,BTK 在不同 TLR 中的功能仍有待进一步探索[13] [14] (图 2)。

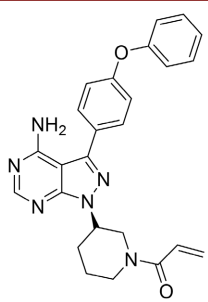
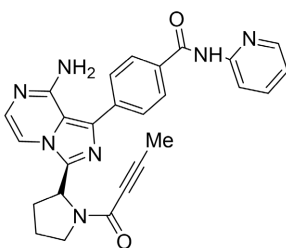
BTK 还参与趋化因子受体信号转导。CXC-趋化因子配体 12 (CXCL12)在骨髓和生发中心高度表达,其与 CXCR4 偶联后,通过 BTK 和膜表面 CXC 趋化因子受体 4 (CXCR4)连接的异源三聚体 G 蛋白亚基之间相互作用激活 BTK。活化的 BTK 磷酸化下游 PLC $\gamma$ 2、ERK1/2、JNK 和 AKT,从而调节 B 细胞的迁移和粘附(图 2) [8]。鉴于 BTK 在 BCR 和 FcR 信号通路中的核心作用及其在调节 TLR 和趋化因子受体中的重要功能,BTK 抑制剂作为炎症和自身免疫性疾病的潜在治疗方法具有巨大前景,其在自身免疫和慢性炎症中的重要作用也促进了小分子 BTK 抑制剂的开发。

### 3. 治疗炎症和自身免疫性疾病的 BTK 抑制剂的研究进展

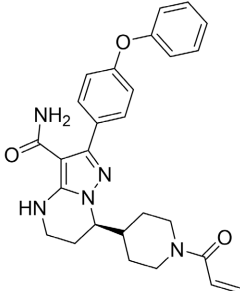
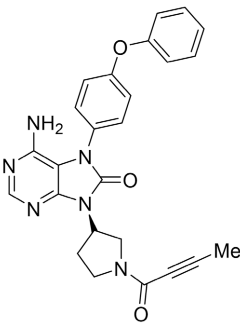
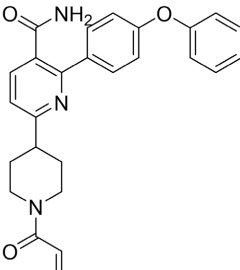
迄今为止,小分子 BTK 抑制剂主要分为两类:共价抑制剂和非共价抑制剂。共价抑制剂以  $\alpha,\beta$ -不饱和酰胺作为亲电弹头,通过与 BTK 铰链区的 Cys481 发生迈克尔加成反应形成共价键,非共价抑制剂不具有迈克尔加成受体。现批准的 5 种 BTK 抑制剂都是共价不可逆抑制剂(表 1),具有不饱和酰胺亲电基团。所有抑制剂都具有能与 BTK 铰链区形成氢键的杂环母核部分,下文将根据母核的骨架特征进一步进行分类,并对化合物的临床前和临床中研究进展作一综述。

**Table 1.** The approved BTK inhibitors and their indications

**表 1.** 临床已获批 BTK 抑制剂及其适应症

化合物	结构式	适应症	公司
1. Ibrutinib		MCL, CLL, SLL, WM, cGVHD, etc.	Pharmacyclics/Johnson
2. Acalabrutinib		MCL, CLL, SLL	Acerta Pharma

Continued

3. Zanubrutinib		MCL	BeiGene
4. Tirabrutinib		PCNSL	Ono Pharma
5. Orelabrutinib		MCL, CLL, SLL	InnoCare Pharma

### 3.1. 共价抑制剂

#### 3.1.1. 吡咯并嘧啶类

Ibrutinib (1, 表 1) (PCI-32765) 是典型的共价不可逆 BTK 抑制剂, 其于 2013 年首次在美国上市, 用于治疗套细胞淋巴瘤(MCL), 随后在不同国家获批用于治疗 CLL、华氏巨球蛋白血症(WM)和慢性移植物抗宿主病(cGVHD)。此外, Ibrutinib 在 RA 的 CIA 动物模型中显示出治疗效果, 以及对单核细胞、巨噬细胞和肥大细胞对 FcεR 和 FcγR 介导的细胞因子释放具抑制作用。虽然 Ibrutinib 对 BTK 非常有效, 但也显示出对 hERG、JAK3、EGFR、ERBB4 和 TEC 的中度到高等效力[15], 较强的脱靶效应也带来了皮疹、心房颤动、腹泻和出血等副作用, 故后续的小分子 BTK 抑制剂开发一直致力于减少脱靶效应以提高用药安全性。尽管如此, 作为第一个上市的 BTK 抑制剂, Ibrutinib 单独或者联合用药以期治疗肿瘤、炎症或者自身性免疫疾病依然是药化研究者的工作热点。目前, Ibrutinib 正在作为自身免疫性溶血性贫血的潜在疗法进行 2 期临床试验。

Rilzabrutinib (6, 图 3) 是高选择性的有效 BTK 抑制剂, Rilzabrutinib 有效抑制抗 IgM 诱导的人类 B 细胞增殖( $IC_{50} = 5 \text{ nm}$ )和 B 细胞 CD69 表达( $IC_{50} = 123 \text{ nm}$ ), 并且剂量依赖性地逆转并完全抑制 CIA 大鼠 [16]。临床试验表明, Rilzabrutinib 口服给药后耐受性良好, 并且在 PBMC 中实现了高的、持续性的 BTK 占用水平[17]。Rilzabrutinib 于 2018 年 10 月在美国被指定为治疗 ITP 的孤儿药。目前, Rilzabrutinib 正



在招募患有持续性或慢性 ITP 的成人和青少年进行 3 期临床试验。Principia Biopharma 还在开展 Rilzabrutinib 的 2 期临床计划, 该计划针对具有风湿病适应症、IgG4 相关疾病(RD)的患者。

### 3.1.2. 咪唑并吡嗪类

Acalabrutinib (2, 表 1) (ACP-196)是 Acerta Pharma 开发的第二代不可逆 BTK 抑制剂。它具有咪唑并吡嗪胺中心, 其上的丁烯酰胺弹头作为亲电受体与 Cys481 发生共价结合, 中心杂环另一侧的 2-吡啶酰胺充当疏水基团。Acalabrutinib 于 2017 年在美国上市, 用于治疗 CLL。与 Ibrutinib 相比, Acalabrutinib 显示出更好的选择性和安全性[18]。2020 年 11 月完成了一项关于 Acalabrutinib 联合最佳支持治疗(BSC)与单独 BSC 在 COVID-19 住院患者中的疗效和安全性的开放标签随机研究。临床结果证明了 Acalabrutinib 在严重 COVID-19 背景下治疗过度炎症的有效性。对 COVID-19 患者进行标签外使用 Acalabrutinib 显示炎症标志物正常化和氧气需求降低。然而, 来自 Calavi 2 期试验的数据显示其并未达到主要疗效终点[6]。

### 3.1.3. 嘌呤类

Tirabrutinib (4, 表 1) (ONO-4059/GS-4059, 表 1)最初由小野制药开发, 用于治疗 B 细胞淋巴瘤和 CLL [19]。在 Tirabrutinib 中, 嘌呤环母核结合丁烯酰胺弹头以维持共价作用。2020 年 3 月, Tirabrutinib 在日本获批用于治疗复发性或难治性原发性中枢神经系统淋巴瘤。在 CIA 模型中, 用 Tirabrutinib 治疗显示出对关节炎和骨损伤的剂量依赖性抑制[20] [21]。吉利德正在进行一项 2 期临床试验, 以评估 Tirabrutinib 在成人活动性 SS 中的安全性和有效性。小野制药还在开展一项开放标签、多中心的 2 期研究, 计划评估 Tirabrutinib 在日本难治性天疱疮患者中的疗效和安全性[22]。

### 3.1.4. 吡啶甲酰胺类

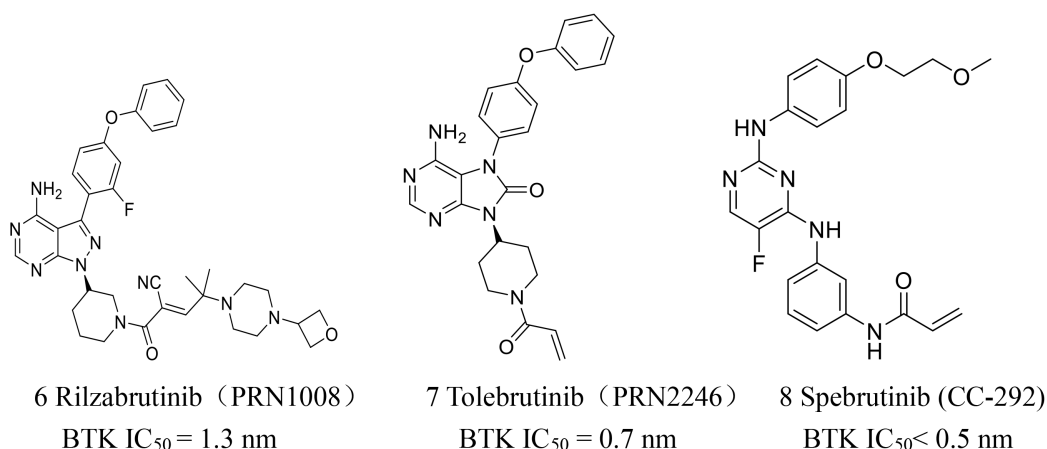
Orelabrutinib (5, 表 1)是由 InnoCare Pharma 开发的具有吡啶甲酰胺母核的具高效力的共价不可逆 BTK 抑制剂(BTK  $IC_{50}$  = 1.6 nM), 于 2020 年 12 月在中国获批用于治疗 MCL、CLL 和小淋巴细胞淋巴瘤(SLL) [23]。在针对 1 $\mu$ M 的 456 种激酶的筛选试验中, Orelabrutinib 仅靶向 BTK, 抑制率大于 90%, 表明其具有卓越的激酶选择性。目前, Orelabrutinib 正在作为复发缓解型 MS 的潜在疗法进行 2 期试验。InnoCare Pharma 还在进行一项使用 Orelabrutinib 治疗 SLE 患者的 1/2 期试验。

### 3.1.5. 咪唑酮并吡啶类

Tolebrutinib (7, 图 3) (PRN2246/SAR442168)是咪唑酮吡啶类化合物, 它是一种口服共价不可逆 BTK 抑制剂, 具有强效和持久的作用, 旨在穿过血脑屏障进入大脑和脊髓。Tolebrutinib 在 CNS 和外周均显示出对 BTK 依赖性疾病的药理抑制作用。除了 BLACK、BMX、TEC 和 ERBB4( $IC_{50}$  分别为 0.6 nm、1.1 nm、1.0 nm 和 1.0 nm)外, 它对 BTK 显示了出色的选择性, 在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)小鼠模型中, 这种 BTK 抑制剂被证明对预防 MS 具剂量依赖性[24]。2020 年 2 月, 赛诺菲公布了 Tolebrutinib 治疗复发性 MS 的 2b 期临床试验结果, 表明了 Tolebrutinib 显著降低了 MS 患者的疾病活动度, 且耐受性良好。赛诺菲在 2020 年年中启动了 3 期临床试验, 以评估 Tolebrutinib 在复发缓解(RMS)、原发性进展(PPMS)和继发性进展(SPMS)形式的 MS 中的疗效。

### 3.1.6. 氨基嘧啶类

Spebrutinib (8, 图 3) (CC-292/AVL-292)是一种口服有效、高选择性的不可逆 BTK 抑制剂, 2,4-二氨基嘧啶为核心骨架。Spebrutinib 可抑制淋巴瘤细胞中的 BCR 信号传导, 并选择性抑制 BTK Y223 的自磷酸化及其下游底物(包括 PLC $\gamma$ 2 和 ERK)的反式磷酸化。在小鼠模型中, 该药物剂量依赖性减轻关节和爪肿胀[25] [26]。Spebrutinib 于 2017 年 7 月完成了一项 2 期研究, 以评估其与安慰剂相比作为与甲氨蝶呤联合治疗在活动性 RA 中的疗效和安全性, 但结果未公开。

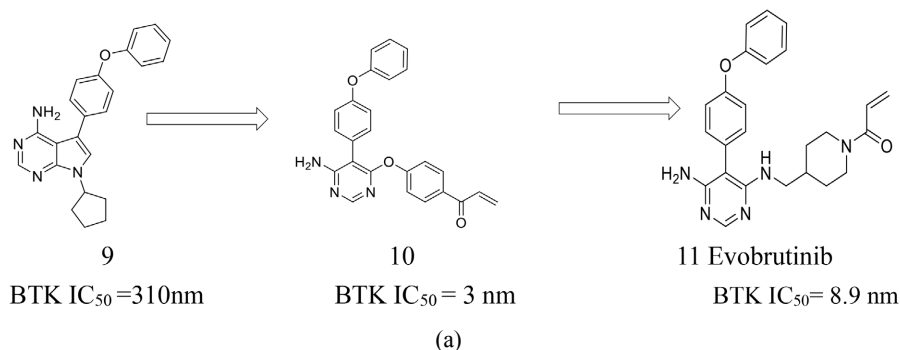


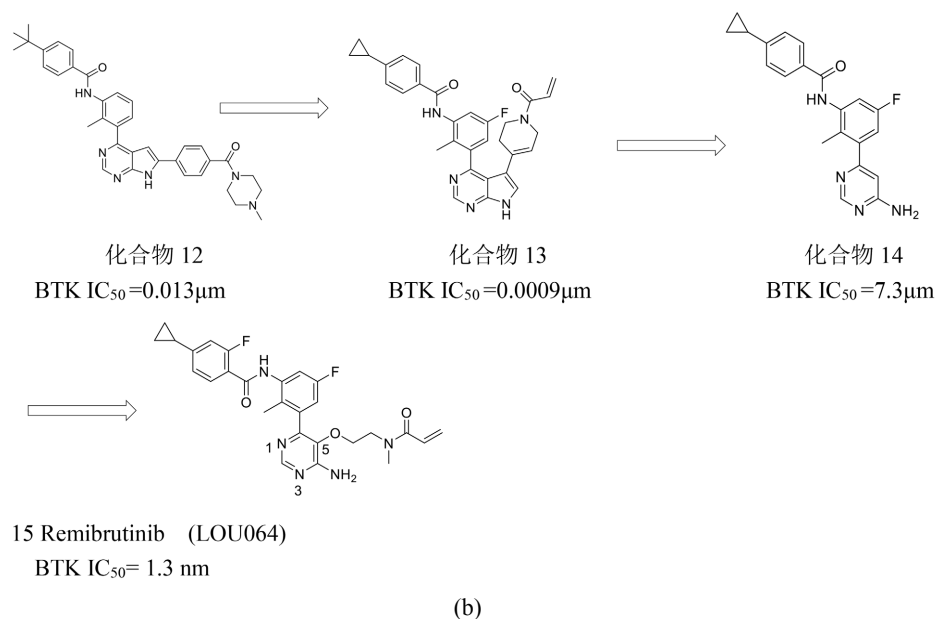
**Figure 3.** The representative structures of covalent irreversible BTK inhibitors with pyrrolopyrimidine, imidazopyridine and aminopyrimidine scaffolds

**图 3.** 代表性吡咯并嘧啶类, 咪唑酮并吡啶类, 氨基嘧啶类共价不可逆 BTK 抑制剂

化合物 9 是一种中等强度的 BTK 抑制剂, 占据 BTK 激酶结构域的 ATP 结合口袋。用氨基嘧啶母核代替化合物 9 的吡咯并嘧啶, 并在母核上引入氧连接的芳基丙烯酰胺弹头得到了化合物 10, 其在生化分析中显示出对 BTK 的较强抑制。将化合物 10 的共价弹头连接子部分进一步改造即得到了 Evobrutinib [27] (图 4(a))。Evobrutinib 有效抑制 PBMC 中 BCR 刺激的 B 细胞活化(CD69:IC<sub>50</sub> = 15.8 nM)和由 CD64 特异性 Ab 激活的 FcγR 信号传导(IC<sub>50</sub> = 78 nM), 以及细胞因子 IL-2、TNF-α、IL-17A 和 IL-6。这种抑制作用在 B 细胞驱动的自身免疫性疾病 RA 和 SLE 的动物模型中转化为疗效。Evobrutinib 在 RA 患者中的 2b 期研究于 2020 年 9 月完成, 但没有披露结果。默克还在进行使用该药物治疗复发性 MS 患者的两项 3 期临床研究。

化合物 12 是具有吡咯并嘧啶母核的可逆 BTK 抑制剂, 以其为起点设计出了在体外抑制活性更高的化合物 13, 但由于 13 在体内的高清除率, 导致其在低剂量时药效较低。Daniela Angst 课题组用 6-氨基嘧啶母核替换化合物 13 的吡咯并嘧啶得到可逆的 BTK 抑制剂化合物 14, 进一步的结构优化发现在化合物 14 的 5 位引入氧连接的丙烯酰胺共价弹头即得到高选择性的共价抑制剂 Remibrutinib (图 4(b)), 它显示出对 BCR/CD69 (IC<sub>50</sub> = 2.5 nM)和 FcγR/IL8 (IC<sub>50</sub> = 18 nM)信号通路的有效抑制。该化合物与其他已上市和临床阶段共价 BTK 抑制剂相比具有出色的激酶选择性。在竞争结合试验中, Remibrutinib 对 BTK 显示出非常强的亲和力, K<sub>d</sub> 为 0.63 nM, 对 TEC 和 BMX 的选择性分别为 175 倍和 857 倍。在临床 1 期研究 [28]中, 健康受试者使用该药物未产生任何安全性信号。Remibrutinib 目前正在两项针对慢性自发性荨麻疹和 SS 的 2 期临床研究中进行测试。



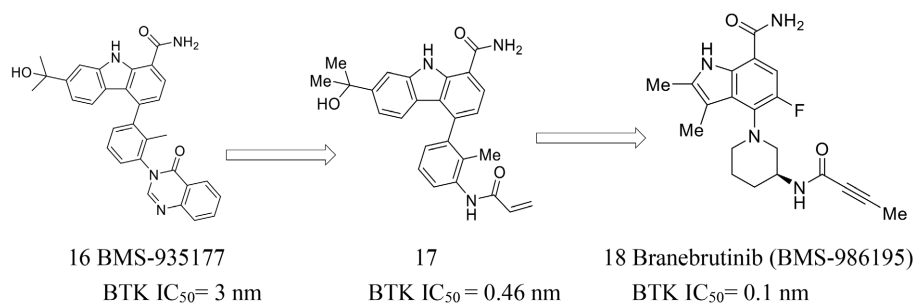


**Figure 4.** (a), (b) The representative structures of covalent irreversible BTK inhibitors with aminopyrimidine scaffolds and their research and development history

**图 4.** (a), (b)代表性氨基嘧啶类共价不可逆 BTK 抑制剂研发历程

### 3.1.7. 吡啶甲酰胺类

Bristol Myers Squibb 基于咪唑骨架开发了口服的可逆 BTK 抑制剂 BMS-935177 (16, 图 5),  $IC_{50}$  为 3 nM, 用丙烯酰胺代替 BMS-935177 的噻唑啉酮将可逆 BTK 抑制剂转化为不可逆抑制剂 17 后效力增加 [29]。小鼠 PK 的研究发现口服咪唑衍生物 17 后苯胺代谢物的血浆浓度较低。而苯胺代谢物由丙烯酰胺水解产生, 构成了循环中主要的药物相关化合物。Squibb 的科学家进一步优化结构, 获得了具有二甲基吡啶甲酰胺核心的 Branebrutinib (18) (BMS-986195) (图 5)。在咪唑 C5 处引入氟原子后对 BTK 的抑制活性增强, 使用丁炔基酰胺弹头与(S)-3-氨基吡啶接头配对实现了效力和反应性以及 PK 和稳定性之间的平衡。Branebrutinib 具有高度选择性, 与超过 240 种激酶对比, 其对 BTK 有 >5000 倍的选择性, 并只对四种相关的 Tec 家族激酶显示出低于 5000 倍的选择性(9 到 1000 倍)。在健康受试者的 1 期研究中, 每天接受一次 3 mg 剂量的 Branebrutinib 耐受性良好, BTK 占用率 > 99% (失活) [30]。目前, Squibb 还在开展另一项 2 期研究, 以评估 Branebrutinib 治疗活动性 SLE 或原发性 SS 受试者的安全性和有效性, 或评估 Branebrutinib 治疗后对活动性 RA 患者进行开放标签阿巴西普治疗的安全性和有效性。



**Figure 5.** The representative structures of non-covalent reversible BTK inhibitors with indolecarboxamide scaffolds and their research and development history

**图 5.** 代表性吡啶甲酰胺类共价不可逆 BTK 抑制剂研发历程



## 3.2. 非共价抑制剂

### 3.2.1. 吡嗪酮和哒嗪酮类

CGI-1746 (19, 图 6) 为一种有效且可逆的 BTK 抑制剂 ( $IC_{50} = 1.9 \text{ nm}$ ), 具有吡嗪酮母核。其 (100 mg/kg b.i.d) 在 CAIA 模型中显示出预防关节炎发展的功效 [5]。然而, 不良的 ADME 特性阻碍了 CGI-1746 的进一步开发 (清除率 (CL) = 87 mL/min/kg; 口服生物利用度 (F%) < 5%)。随后基因泰克和吉利德围绕 CGI-1746 进行了系统的结构修饰。在筛选了 100 多种类似物后, 四氢苯并噻吩被确定为叔丁基苯基的最佳替代基团。在保留四氢苯并噻吩部分的同时, 用二甲基-3-氧代哌嗪代替吗啉-酰胺部分为临床候选药物 GDC-0834 (20)。GDC-0834 在体外抑制 BTK,  $IC_{50}$  为 6 nm, 并在基于细胞的 CD86 测定中显示  $EC_{50}$  为 60 nm, 其在大鼠 CIA 模型中显示出疗效, 以剂量依赖性方式诱导踝关节肿胀减少和形态病理学减少。在健康志愿者的单剂量 1 期试验中, 发现 GDC-0834 在将四氢苯并噻吩连接到苯胺的环外酰胺键高度不稳定进而导致临床试验暂停 [31]。随后的努力集中在减少这种酰胺的代谢裂解上, 进而发现了以哒嗪酮作为首选的较链结合基团。围绕母核苯基哒嗪酮的进一步优化开发了有效的 BTK 抑制剂 21 ( $IC_{50} = 3 \text{ nm}$ ), 其在人肝微粒体中具有中等稳定性, 且在人肝细胞中的清除率较低 (图 6)。化合物 21 在鼠 B 细胞中表现出抗 IgE 刺激的 CD63 和 CD86 表达以及抗 IgM 刺激的 B 细胞增殖的有效抑制,  $EC_{50}$  值分别为 257 nm、91 nm 和 6 nm。此外, 化合物 21 强烈抑制由人单核细胞产生的免疫复合物触发的细胞因子 ( $EC_{50} = 37 \text{ nm}$  (TNF);  $EC_{50} = 22 \text{ nm}$  (IL1))。

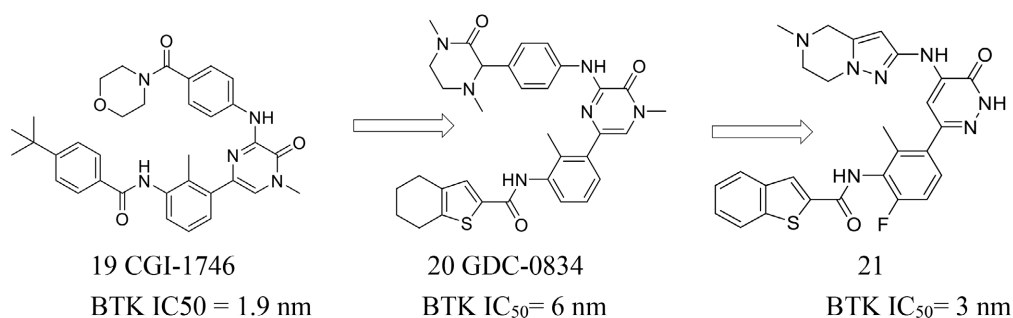


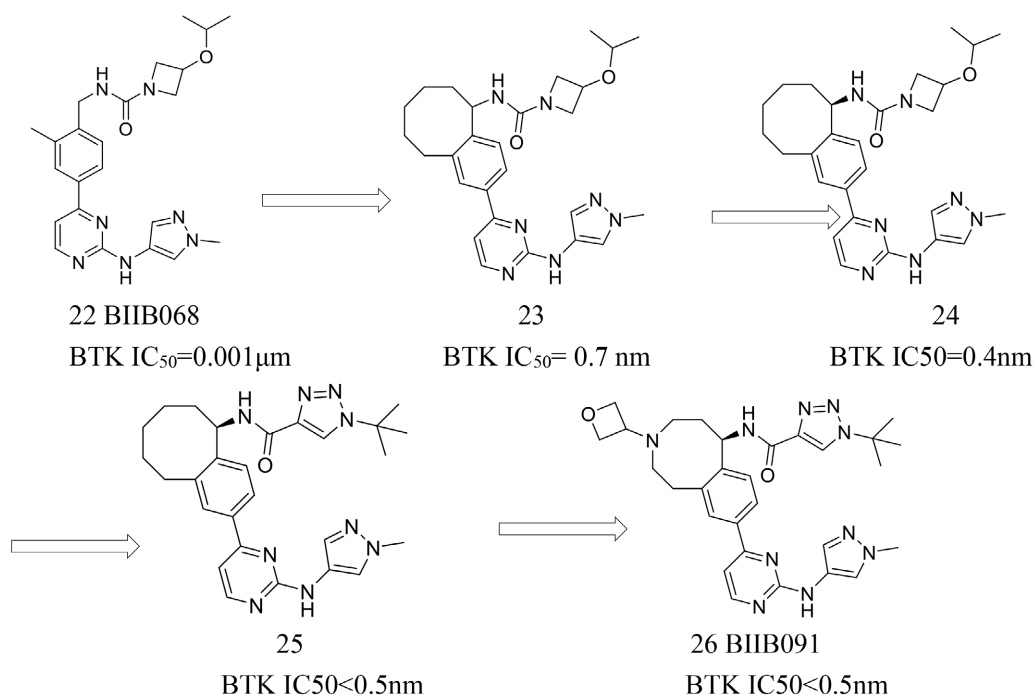
Figure 6. The representative structures of non-covalent reversible BTK inhibitors with pyridazinone scaffolds and their research and development history

图 6. 代表性哒嗪酮类非共价可逆 BTK 抑制剂研发历程

### 3.2.2. 氨基嘧啶类

BIIB068 (22, 图 7) 为选择性可逆抑制剂, 作为自身免疫性抑制剂已进入一期临床。在健康志愿者中给药时, BIIB068 表现出良好的体内药代动力学特征, 并抑制了在未受刺激的全血中观察到的 BTK 的组成性磷酸化 (24 小时 > 70%)。研究表明调节中心苯基和柔性 P 环区域之间的相互作用将进一步增强结合力 [32]。因此将 BIIB068 的药物化学设计重点放在了优化亲脂性配体效率 (LLE = 5) 上。在苯环上引入七元环得到化合物 23, 增加了亲脂性, 抑制效力增加 2 倍。其优越性异构体 24 (BTK  $IC_{50} = 0.4 \text{ nm}$ , CD69  $IC_{50} = 0.4 \mu\text{m}$ ), 表现出良好的激酶组选择性, 当以  $1 \mu\text{m}$  筛选时, 其仅抑制 1/394 激酶, 抑制率大于 80%。在脲部分引入 5 元杂环得到的化合物 25, 其生化效力明显改善。为提高亲脂性和成药性, 研究者在七元环上引入 N 取代的氧杂环丁烷得到极性增加的 BIIB091 (26,  $pK_a = 2.8$ , 图 7), 同时提高了细胞效力 (WB CD69  $IC_{50} = 0.071 \text{ nm}$ )。在 T-independent type 2 (TI2) 免疫模型 (严重依赖 B 细胞反应) 中, 在分别以 30 mg/kg/dose, 10 mg/kg/dose, 1 mg/kg/dose, 0.3 mg/kg/dose, 0.1 mg/kg/dose 及 0.03 mg/kg/dose b.i.d 口服 BIIB091 十天后, 发现小鼠血清中抗-NP IgM 浓度显著降低 (88%, 77%, 59%, 59%, 44%, 34%, and 22%), 相当于  $ED_{50} =$

1.95 mg/kg/天。现化合物 BIIB091 正在作为 MS 的潜在疗法进行临床 1 期试验。



**Figure 7.** The representative structures of non-covalent reversible BTK inhibitors with aminopyrimidine scaffolds and their research and development history

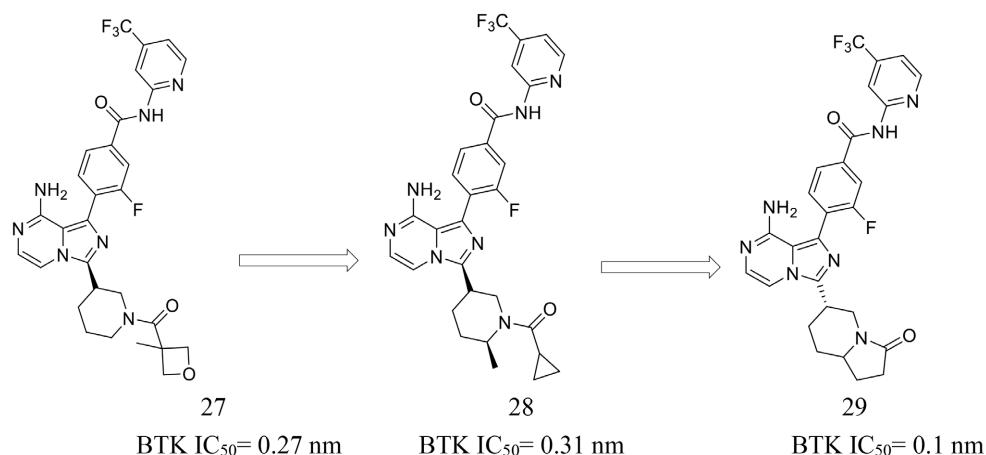
**图 7.** 代表性氨基嘧啶类非共价可逆 BTK 抑制剂研发历程

### 3.2.3. 咪唑并吡嗪类

默克开发了一系列具 8-氨基-咪唑并[1,5-a]吡嗪母核的非共价、可逆选择性 BTK 抑制剂。化合物 27 和 28 显示出有效的抑制活性,  $IC_{50}$  值分别为 0.27 nm 和 0.31 nm (图 8)。在人 PBMC 功能测定和全血测定中, 化合物 28 与 27 相比表现出更好的活性。默克的科学家成功地将酰胺的  $\alpha$ -C 与哌啶的 2-C 环化, 在 3 位提供双环取代基得到化合物 29 (图 8)。与 28 相比, 化合物 29 在酶促、细胞和全血测定中显示出更高的效力( $IC_{50}$ : 分别为 0.1 nm、2.5 nm 和 24 nm)。此外, 与 28 相比, 内酰胺约束的化合物 29 具有低清除率、长半衰期和更高的口服生物利用度。在 CIA 的预防性大鼠模型中, 28 和 29 在减少爪厚度方面均表现出剂量依赖性功效[33]。

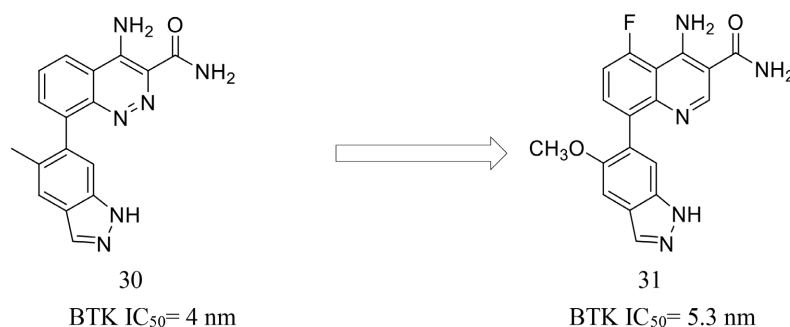
### 3.2.4. 氨基喹啉类

武田制药的科学家开发出了含有邻二氮萘甲酰胺骨架的口服小分子 BTK 抑制剂 30 (BTK  $IC_{50} = 4.0$  nm) (图 9)。其对 Tec 和 Src 激酶家族的选择性比分别介于 18 和 160 倍之间。然而, 该化合物对 ALK2、LIMK1 和 TNK2 的选择性小于 10 倍。尽管化合物 30 在大鼠 CIA 模型中以剂量依赖性方式减少爪肿胀, 但较差的水溶性(在 pH 7.4 时  $<0.05$  g/mL)限制了其体内研究[34]。Rao 课题组针对化合物 30 的稳定性和抑制活性进行了优化, 发现了 4-氨基喹啉-3-甲酰胺衍生物 31, 其类药性显著改善, 水溶性提高了约 150 倍 (pH 7.4 时为 7.3 g/mL)。喹啉衍生物 31 显示出对 BTK-WT ( $IC_{50} = 5.3$  nm) 和 BTK-C481S ( $IC_{50} = 39$  nm) 以及 BTK Tyr223 自磷酸化剂量依赖性的有效抑制。此外, 化合物 31 对 BTK 的选择性高于 Tec 和 SRC 激酶家族的其他成员。除了 BLK (28 倍) 之外, 选择性比率均大于 30 倍。在小鼠 CIA 模型中, 化合物 33 有效地减少了爪肿胀而不减轻体重, 表明该抑制剂有效且耐受性良好[35]。



**Figure 8.** The representative structures of non-covalent reversible BTK inhibitors with imidazopyrazine scaffolds and their research and development history

**图 8.** 代表性咪唑并吡嗪类非共价可逆 BTK 抑制剂研发历程



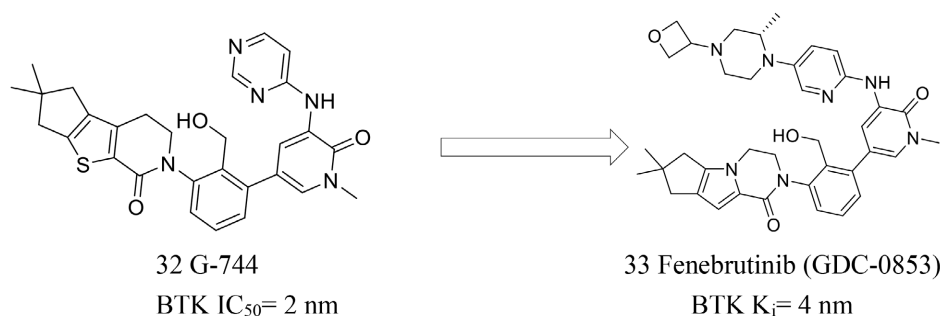
**Figure 9.** The representative structures of non-covalent reversible BTK inhibitors with aminoquinoline scaffolds and their research and development history

**图 9.** 代表性氨基喹啉类非共价可逆 BTK 抑制剂研发历程

### 3.2.5. 氨基吡啶酮类

为了克服 GDC-0834 (化合物 20, 图 6) 的酰胺键在人体中快速水解的缺点, 基因泰克在溶剂区使用了氨基吡啶酮骨架和三环酰胺, 产生了比未环化前体更有效的抑制剂。在中心苯环上的甲基处引入羟基提高了 BTK 结合效力。所得化合物 G-744 (32) 具有偕二甲基取代的 6-5-5 三环系统。G-744 显示出出色的 BTK 生化和细胞效力 (BTK  $IC_{50}$  = 2 nm; CD86  $IC_{50}$  = 64 nm)。在大鼠 CIA 模型中, 口服给药剂量为 6.25 mg/kg、12.5 mg/kg 和 25 mg/kg b.i.d 时, 可抑制全血中 BTK Y223 磷酸化并剂量依赖性抑制踝部厚度[36]。在保持 G-744 核心骨架的同时, 基因泰克开发了另一种三环的有效非共价 BTK 抑制剂——Fenebrutinib (33) (GDC-0853, 图 10)。Fenebrutinib 有效抑制抗 IgM 诱导的 BTK Tyr223 磷酸化 ( $IC_{50}$  = 3.1 nm) 和 B 细胞增殖 ( $IC_{50}$  = 1.2 nm), 以及人单核细胞中 FcR 依赖性 TNF 的产生 ( $IC_{50}$  = 1.3 nm)。在激酶筛选试验中与其他六种临床阶段 BTK 抑制剂相比, 发现 Fenebrutinib 是对 BTK 最具选择性的化合物, 仅抑制 286 种脱靶激酶中的 3 种 (BMX、Fgr 和 SRC)。在 CIA 模型的开发过程中, Fenebrutinib 在 q.d 和 b.i.d 给药方案后剂量依赖性降低了踝关节厚度。在健康志愿者自身免疫性疾病的 1 期研究中, Fenebrutinib 的耐受性非常好, 没有严重的不良事件, 没有安全信号, 也没有剂量限制性毒性[37]。基因泰克进行了两项 2 期试验以评估 Fenebrutinib 在 RA 患者中的安全性和有效性。对于甲氨蝶呤 (MTX) 反应不足的 RA 患者, 与安慰剂相比, Fenebrutinib (150 mg q.d 或 200 mg b.i.d) 获得了更高的疗效。此外, Fenebrutinib 在 MTX 耐受的

难治性疾病患者中也显示出有效性[38]。



**Figure 10.** The representative structures of non-covalent reversible BTK inhibitors with aminopyridone scaffolds and their research and development history

**图 10.** 代表性氨基吡啶酮类非共价可逆 BTK 抑制剂研发历程

#### 4. 结论与展望

BTK 因在 B 细胞发育中的关键作用，现已成为炎症性和自身免疫性疾病的重要靶点。许多 BTK 抑制剂已被开发用于治疗炎症和自身免疫性疾病，包括 RA、SS、MS、SLE、荨麻疹、天疱疮、ITP、RD 等。不同于血液系统恶性肿瘤的是，这些疾病通常是无生命危险的长期疾病，需要意外脱靶毒性低的安全治疗，[39]故提高化合物的选择性以提高安全性也是药物化学的设计重点。目前，可逆和不可逆 BTK 共价抑制剂在临床试验中展现出了良好的效果，其最新进展表明 BTK 靶向治疗在炎症或自身免疫适应症中的应用即将到来。

#### 参考文献

- [1] Smith, C.I.E., Backesjo, C.M., Berglof, A., *et al.* (1998) X-Linked Agammaglobulinemia: Lack of Mature B Lineage Cells Caused by Mutations in the Btk Kinase. *Springer Seminars in Immunopathology*, **19**, 369-381. <https://doi.org/10.1007/BF00792597>
- [2] Mohamed, A.J., Yu, L., Backesjo, C.M., *et al.* (2009) Bruton's Tyrosine Kinase (Btk): Function, Regulation, and Transformation with Special Emphasis on the PH Domain. *Immunological Reviews*, **228**, 58-73. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00741.x>
- [3] Fasano, S. and Isenberg, D.A. (2019) Present and Novel Biologic Drugs in Primary Sjögren's Syndrome. *Clinical and Experimental Rheumatology*, **37**, S167-S174.
- [4] Kinnunen, T., Chamberlain, N., Morbach, H., *et al.* (2013) Specific Peripheral B Cell Tolerance Defects in Patients with Multiple Sclerosis. *Journal of Clinical Investigation*, **123**, 2737-2741.
- [5] Di Paolo, J.A., Huang, T., Balazs, M., *et al.* (2011) Specific Btk Inhibition Suppresses B Cell- and Myeloid Cell-Mediated Arthritis. *Nature Chemical Biology*, **7**, 41-50. <https://doi.org/10.1038/nchembio.481>
- [6] Roschewski, M., Lionakis, M.S., Sharman, J.P., *et al.* (2020) Inhibition of Bruton Tyrosine Kinase in Patients with Severe COVID-19. *Science Immunology*, **5**, eabd0110. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abd0110>
- [7] Akinleye, A., Chen, Y., Mukhi, N., *et al.* (2013) Ibrutinib and Novel BTK Inhibitors in Clinical Development. *Journal of Hematology & Oncology*, **6**, Article No. 59. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-6-59>
- [8] Burger, J.A. and Wiestner, A. (2018) Targeting B Cell Receptor Signalling in Cancer: Preclinical and Clinical Advances. *Nature Reviews Cancer*, **18**, 148-167. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.121>
- [9] Nimmerjahn, F. and Ravetch, J.V. (2008) Fcγ Receptors as Regulators of Immune Responses. *Nature Reviews Immunology*, **8**, 34-47.
- [10] Hata, D., Kawakami, Y., Inagaki, N., *et al.* (1998) Involvement of Bruton's Tyrosine Kinase in FcεRI-Dependent Mast Cell Degranulation and Cytokine Production. *Journal of Experimental Medicine*, **187**, 1235-1247. <https://doi.org/10.1084/jem.187.8.1235>
- [11] Smiljkovic, D., Blatt, K., Stefanzl, G., *et al.* (2017) BTK Inhibition Is a Potent Approach to Block IgE-Mediated His-

- tamine Release in Human Basophils. *Allergy*, **72**, 1666-1676. <https://doi.org/10.1111/all.13166>
- [12] Takeuchi, O. and Akira, S. (2010) Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell*, **140**, 805-820. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022>
- [13] Rawlings, D.J., Schwartz, M.A., Jackson, S.W., *et al.* (2012) Integration of B Cell Responses through Toll-Like Receptors and Antigen Receptors. *Nature Reviews Immunology*, **12**, 282-294. <https://doi.org/10.1038/nri3190>
- [14] Katewa, A., Wang, Y.G., Hackney, J.A., *et al.* (2017) Btk-Specific Inhibition Blocks Pathogenic Plasma Cell Signatures and Myeloid Cell-Associated Damage in IFN $\alpha$ -Driven Lupus Nephritis. *JCI Insight*, **2**, e90111.
- [15] Licican, A., Serafini, L., Xing, W., *et al.* (2020) Biochemical Characterization of Tirabrutinib and Other Irreversible Inhibitors of Bruton's Tyrosine Kinase Reveals Differences in On- and Off-Target Inhibition. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—General Subjects*, **1864**, Article ID: 129531. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2020.129531>
- [16] Owens, T. (2018) Discovery of PRN1008: A Reversible Covalent BTK Inhibitor for Treatment of Autoimmune Diseases. *Proceedings of the 255th American Chemical Society National Meeting & Exposition*, New Orleans, 18-22 March 2018.
- [17] Smith, P.F., Krishnarajah, J., Nunn, P.A., *et al.* (2017) A Phase I Trial of PRN1008, a Novel Reversible Covalent Inhibitor of Bruton's Tyrosine Kinase, in Healthy Volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **83**, 2367-2376. <https://doi.org/10.1111/bcp.13351>
- [18] Barf, T., Covey, T., Izumi, R., *et al.* (2017) Acabrutinib (ACP-196): A Covalent Bruton Tyrosine Kinase Inhibitor with a Differentiated Selectivity and *in Vivo* Potency Profile. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **363**, 240-252. <https://doi.org/10.1124/jpet.117.242909>
- [19] Treon, S.P., Tripsas, C.K., Meid, K., *et al.* (2015) Ibrutinib in Previously Treated Waldenström's Macroglobulinemia. *New England Journal of Medicine*, **372**, 1430-1440. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1501548>
- [20] Yoshizawa, T., Ariza, Y., Ueda, Y., *et al.* (2012) Development of a Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) Inhibitor, ONO-4059: Efficacy in a Collagen Induced Arthritis (CIA) Model Indicates Potential Treatment for Rheumatoid Arthritis (RA). *Arthritis and Rheumatism*, **64**, S709-S.
- [21] Burger, J.A. (2014) Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) Inhibitors in Clinical Trials. *Current Hematologic Malignancy Reports*, **9**, 44-49. <https://doi.org/10.1007/s11899-013-0188-8>
- [22] Dhillon, S. (2020) Tirabrutinib: First Approval. *Drugs*, **80**, 835-840. <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01318-8>
- [23] Zhang, B., Zhao, R.B., Liang, R.X., *et al.* (2020) Abstract CT132: Orelabrutinib, a Potent and Selective Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitor with Superior Safety Profile and Excellent PK/PD Properties. *Proceedings of the AACR Annual Meeting 2020*, Philadelphia, PA, 27-28 April 2020 and 22-24 June 2020. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2020-CT132>
- [24] Dahl, K., Turner, T. and Vasdev, N. (2020) Radiosynthesis of a Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitor, [ $^{11}\text{C}$ ]Tolabrutinib, via Palladium-NiXantphos-Mediated Carbonylation. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, **63**, 482-487. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3872>
- [25] Zhao, D., Huang, S.S., Qu, M.H., *et al.* (2017) Structural Optimization of Diphenylpyrimidine Derivatives (DPPYs) as Potent Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) Inhibitors with Improved Activity toward B Leukemia Cell Lines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **126**, 444-455. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.11.047>
- [26] Evans, E.K., Tester, R., Aslanian, S., *et al.* (2013) Inhibition of Btk with CC-292 Provides Early Pharmacodynamic Assessment of Activity in Mice and Humans. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **346**, 219-228. <https://doi.org/10.1124/jpet.113.203489>
- [27] Caldwell, R.D., Qiu, H., Askew, B.C., *et al.* (2019) Discovery of Evobrutinib: An Oral, Potent, and Highly Selective, Covalent Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) Inhibitor for the Treatment of Immunological Diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, **62**, 7643-7655. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00794>
- [28] Angst, D., Gessier, F., Janser, P., *et al.* (2020) Discovery of LOU064 (Remibrutinib), a Potent and Highly Selective Covalent Inhibitor of Bruton's Tyrosine Kinase. *Journal of Medicinal Chemistry*, **63**, 5102-5118. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01916>
- [29] Liu, Q., Batt, D.G., Chaudhry, C., *et al.* (2018) Conversion of Carbazole Carboxamide Based Reversible Inhibitors of Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) into Potent, Selective Irreversible Inhibitors in the Carbazole, Tetrahydrocarbazole, and a New 2,3-Dimethylindole Series. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **28**, 3080-3084. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.07.041>
- [30] Watterson, S.H., Liu, Q., Bertrand, M.B., *et al.* (2019) Discovery of Branebrutinib (BMS-986195): A Strategy for Identifying a Highly Potent and Selective Covalent Inhibitor Providing Rapid *in Vivo* Inactivation of Bruton's Tyrosine Kinase (BTK). *Journal of Medicinal Chemistry*, **62**, 3228-3250. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00167>
- [31] Young, W.B., Barbosa, J., Blomgren, P., *et al.* (2015) Potent and Selective Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitors: Discovery of GDC-0834. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **25**, 1333-1337. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.01.032>



- [32] Hopkins, B.T., Bame, E., Bajrami, B., *et al.* (2021) Discovery and Preclinical Characterization of BIIB091, a Reversible, Selective BTK Inhibitor for the Treatment of Multiple Sclerosis. *Journal of Medicinal Chemistry*, **65**, 1206-1224.
- [33] Liu, J., Guideen, D., Krikorian, A., *et al.* (2020) Potent, Non-Covalent Reversible BTK Inhibitors with 8-Amino-Imidazo[1,5-a] Pyrazine Core Featuring 3-Position Bicyclic Ring Substitutes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **30**, Article ID: 127390. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127390>
- [34] Smith, C.R., Dougan, D.R., Komandla, M., *et al.* (2015) Fragment-Based Discovery of a Small Molecule Inhibitor of Bruton's Tyrosine Kinase. *Journal of Medicinal Chemistry*, **58**, 5437-5444. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00734>
- [35] Yao, X., Sun, X.Y., Jin, S.Y., *et al.* (2019) Discovery of 4-Aminoquinoline-3-Carboxamide Derivatives as Potent Reversible Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitors for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Journal of Medicinal Chemistry*, **62**, 6561-6574. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00329>
- [36] Wang, X.J., Barbosa, J., Blomgren, P., *et al.* (2017) Discovery of Potent and Selective Tricyclic Inhibitors of Bruton's Tyrosine Kinase with Improved Druglike Properties. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, **8**, 608-613. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.7b00103>
- [37] Crawford, J.J.Y., Johnson, A.R., Misner, D.L., *et al.* (2018) Discovery of GDC-0853: A Potent, Selective, and Noncovalent Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitor in Early Clinical Development. *Journal of Medicinal Chemistry*, **61**, 2227-2245. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01712>
- [38] Cohen, S., Tuckwell, K., Katsumoto, T.R., *et al.* (2020) Fenebrutinib versus Placebo or Adalimumab in Rheumatoid Arthritis: A Randomized, Double-Blind, Phase II Trial. *Arthritis & Rheumatology*, **72**, 1435-1446. <https://doi.org/10.1002/art.41275>
- [39] Zhang, D.T., Gong, H. and Meng, F.C. (2021) Recent Advances in BTK Inhibitors for the Treatment of Inflammatory and Autoimmune Diseases. *Molecules*, **26**, Article No. 4907. <https://doi.org/10.3390/molecules26164907>