

## 新一代非共价酪氨酸激酶抑制剂——LOXO-305

陈永收<sup>1</sup>, 周加英<sup>2\*</sup>, 周玉琴<sup>2</sup>, 谢欣蓉<sup>1</sup>, 曹爽<sup>1</sup>

1. 武汉工程大学 化工与制药学院, 武汉 430072; 2. 扬子江药业集团有限公司, 江苏 泰州 225321

**【摘要】**酪氨酸激酶(BTK)参与B淋巴细胞中各种细胞内外信号的传导和放大,与自身免疫疾病和B细胞恶性肿瘤的发生发展密切相关。现有的BTK抑制剂采用共价结合的方式对BTK产生抑制作用,长期使用后可能出现获得性耐药。LOXO-305是唯一一种处于临床研究阶段的口服非共价BTK抑制剂,现在正处于Ⅱ期临床研究阶段。已公布的临床数据显示其对慢性淋巴细胞白血病和套细胞淋巴瘤均表现出较明显的抑制活性。本文就LOXO-305基本信息、作用机制、临床前研究、药物代谢动力学及临床试验等信息作一综述。

**【关键词】**LOXO-305;慢性淋巴细胞白血病;酪氨酸激酶抑制剂;非共价抑制剂

**【中图分类号】**R973

**【文献标识码】**B

**【文章编号】**1672-3384(2020)11-0001-04

**Doi:**10.3969/j.issn.1672-3384.2020.11.001

### A new generation of non-covalent bruton's tyrosine kinase inhibitors—LOXO-305

CHEN Yong-shou<sup>1</sup>, ZHOU Jia-ying<sup>2\*</sup>, ZHOU Yu-qin<sup>2</sup>, XIE Xin-rong<sup>1</sup>, CAO Shuang<sup>1</sup>

1. School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430072, China; 2. Yangtze River Pharmaceutical (Group) Co., Ltd., Jiangsu Taizhou 225321, China

B细胞恶性肿瘤[包括慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)、瓦尔登氏巨球蛋白血症、套细胞淋巴瘤(mantle cell lymphoma, MCL)和边缘区淋巴瘤等]是一种严重的淋巴系统疾病,典型临床症状包括进行性、无痛性的淋巴结肿大及各组织器官淋巴瘤浸润。根据美国国家肿瘤研究所统计的数据<sup>[1]</sup>,B细胞恶性肿瘤的5年存活率约为72.7%,2020年全年美国预计新增宫颈癌病例77240例,占新增癌症病例的4.3%,并预计新增死亡病例19940例,占全部癌症死亡人数的3.3%。

B细胞恶性肿瘤的生长与增殖主要依赖于B细胞抗原受体(B-cell antigen receptor, BCR)信号,而酪氨酸激酶(bruton's tyrosine kinase, BTK)是BCR信号传导通路中的关键激酶,主要参与B淋巴细胞中各种细胞内外信号的传导和放大。正常表达的BTK对B细胞的成熟、存活、分化、凋亡及迁移等生物学行为至关重要,异常活化的BTK则通常会引起B细胞恶性肿瘤或自身免疫性疾病。因此,BTK是自身免疫疾病和

B细胞恶性肿瘤研究中一个非常具有研究价值的靶点<sup>[2-3]</sup>。

现有的BTK抑制剂(例如依鲁替尼和阿卡替尼)<sup>[2]</sup>在治疗BTK依赖性B细胞恶性肿瘤方面有较好的疗效<sup>[4]</sup>。但是,长期使用这些共价型BTK抑制剂后BTK会产生C481突变,并对这些药物产生获得性耐药,进而出现疗效减弱。

LOXO-305是一种新型高效选择性BTK抑制剂,是唯一一种已进入临床研究的通过非共价键结合BTK的抑制剂。其对BTK具有很好的选择性,而且对野生型和半胱氨酸-481(C481)突变的BTK均有较好的抑制作用<sup>[5]</sup>。本文就LOXO-305的基本信息、作用机制、临床前研究、药物代谢动力学及临床试验等信息进行概述。

### 1 基本信息

LOXO-305起初由英国一家名为Redx Pharma的公司开发,原名RXC005,后来该项目被美国Loxo

\*通信作者:周加英, E-mail: zhoujiaying@yangzijiang.com

Oncology 公司收购,更名为 LOXO-305,并于 2018 年被推入临床应用阶段。2019 年礼来公司收购了 LOXO-305 项目。迄今为止,LOXO-305 的准确结构尚未被公布,但是专利 WO2017103611 披露了其结构通式,见图 1。根据其结构通式判断,LOXO-305 与阿斯利康公司的药物阿卡替尼具有类似的药效团结构。

## 2 作用机制

BTK 是 BCR 信号通路中的关键激酶<sup>[6]</sup>。当 BCR 信号通路被激活后,信号经免疫球蛋白  $\lambda$  (immunoglobulin, Ig $\lambda$ ) 传导,诱导 Src 激酶家族成员的磷酸化,催化 BTK 中 Tyr551 和 Tyr223 位点发生双磷酸化而激活 BTK。活化的 BTK 促进下游磷脂酶 C $\gamma$  (phospholipase C gamma, PLC $\gamma$ ) 的磷酸化,磷酸化的 PLC $\gamma$  水解 4,5-二磷酸磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2) 生成三磷酸肌醇 (inositol triphosphate, IP3) 和二酰基甘油 (diacyl glycerol, DAG)。IP3 促进细胞内钙释放,DAG 协同钙离子激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC),进而使得丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 等信号通路活化,从而调控基因和细胞因子的表达。

另一方面,BTK 可以激活 I $\kappa$ B 激酶 (I $\kappa$ B kinase, IKK),进而促使 I $\kappa$ B 发生磷酸化并诱导其与核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 分离。与 I $\kappa$ B 分离的 NF- $\kappa$ B 因暴露其核定位序列而转位入核,并与 DNA 上的 NF- $\kappa$ B 位点特异性结合,发挥调节细胞功能的作用<sup>[6]</sup>。

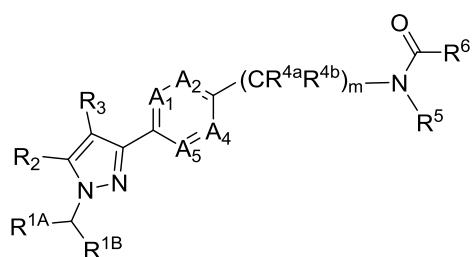
现有的 BTK 抑制剂 (例如依鲁替尼和阿卡替尼) 均为共价抑制剂,都通过共价结合的方式与 BTK 蛋白激酶域中的 C481 不可逆结合,进而达到抑制 BTK 酶活性的目的。当长期使用这些药物后,BTK 上的氨基酸残基 C481 可能发生突变 (通常是突变为丝氨酸-481)<sup>[7]</sup>,使得原抑制剂无法再与 BTK 形成共价键结合,对 BTK 的抑制活性大大减弱,进而导致人体对共价 BTK 抑制剂产生耐药性。而 LOXO-305 是一种非共价 BTK 抑制剂,不与 C481 产生共价结合,因此 C481 突变不会导致 LOXO-305 的活性降低,可克服人体对共价 BTK 抑制剂的耐药性<sup>[2, 8-9]</sup>。

## 3 临床前研究

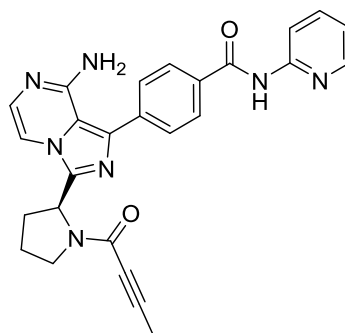
在激酶抑制活性测试中,使用 LOXO-305 对 371 种野生型激酶进行测试发现,其对 BTK 和 C481 突变 BTK 的抑制活性 (IC<sub>50</sub> 值) 分别为 1.42 和 3.15 nmol/L (高于其他激酶约 300 倍)<sup>[10]</sup>。这说明 LOXO-305 对 BTK 的抑制活性和选择性都较好。

在体外细胞模型中,依鲁替尼和 LOXO-305 对 HEK293 细胞中 BTK 的抑制活性 (IC<sub>50</sub> 值) 分别达到 5.7 和 8.6 nmol/L。而在 C481 突变的 HEK293 细胞中,依鲁替尼对 HEK293 的抑制活性下降到了 1  $\mu$ mol/L 以上,LOXO-305 对 BTK 的抑制活性仍达到 8.8 nmol/L。这说明 LOXO-305 对 BTK 的抑制能力基本不受 C481 突变的影响。另外,LOXO-305 对 TMD8 细胞 (人弥漫性大 B 细胞淋巴瘤细胞) 的抑制活性 (IC<sub>50</sub> 值) 达到 2.3 nmol/L<sup>[10]</sup>。

在人类淋巴瘤异种移植小鼠模型中,LOXO-305 对肿瘤表现出剂量依赖性的抑制效果。当以 10 mg/kg



1a. LOXO-305



1b. 阿卡替尼

图1 LOXO-305 和阿卡替尼的结构通式

的剂量给予小鼠 LOXO-305 时,对肿瘤的抑制活性明显优于同等剂量的依鲁替尼<sup>[10]</sup>。

#### 4 药物代谢动力学

在禁食/未禁食交叉研究中<sup>[11]</sup>,对 8 只比格犬在第 1 天和第 8 天给予 30 mg/kg 的 LOXO-305,给药后 48 h 采集血样。结果显示:禁食组最大血药浓度( $C_{\max}$ )为 18 100 ng/mL,血药浓度-时间曲线下面积( $AUC_{0-t}$ )为 162 000 ng·h/mL;未禁食组  $C_{\max}$  为 10 000 ng/mL, $AUC_{0-t}$  为 105 000 ng·h·mL<sup>-1</sup>。

另一项实验中<sup>[11]</sup>,对 4 只未禁食的 Sprague Dawley 大鼠单次给予 35 mg/kg 的 LOXO-305,给药后 24 h 内采集血样。结果显示: $C_{\max}$  为 7930 ng/mL, $AUC_{0-t}$  为 82 200 ng·h·mL<sup>-1</sup>。

基于人体细胞模型的体外药物代谢动力学试验数据见表 1 和表 2,根据体外试验数据判断 LOXO-305 具有较低的人体清除率(表 1)和较高的渗透性(表 2)<sup>[10]</sup>。此外,临床试验 NCT03740529 公布的部分人体药物代谢动力学数据显示,患者血液中 LOXO-305 的暴露量随给药剂量增加呈线性增加。

#### 5 临床试验

现已开展的关于 LOXO-305 的临床试验较少,

已在美国临床试验数据库(ClinicalTrials.gov)公布的仅有原研公司于 2019 年 3 月开展的代号为 BRUIN 的 I/II 期临床试验(NCT03740529)<sup>[10]</sup>。该试验指定口服 LOXO-305 28 d 为 1 个周期,主要终点是确定最大耐受剂量(maximum-tolerated dose,MTD),并确定推荐剂量;次要终点包括确定安全性、总体缓解率和缓解时间。

美国血液学会提供的数据<sup>[10]</sup>(截至 2019 年 9 月 27 日)表明,28 例患者被分为 5 个剂量递增组,每日 1 次 25 mg(5 例)、每日 1 次 50 mg(6 例)、每日 1 次 100 mg(9 例)、每日 1 次 150 mg(5 例)和每日 1 次 200 mg(3 例)。其中,CLL 患者 16 例,MCL 患者 8 例,瓦尔登氏巨球蛋白血症 2 例,弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 1 例,边缘区淋巴瘤 1 例。其中,CLL 患者平均接受过 4 种全身治疗方案(75% 的患者至少使用过 1 种 BTK 抑制剂),MCL 患者平均接受过 3 种全身治疗方案(88% 的患者至少使用过 1 种 BTK 抑制剂)。

上述试验的 16 例 CLL 患者中,13 例接受了反应性评估,其中有 10 例表现出应答(8 例部分应答,2 例部分应答伴随持续性淋巴细胞增多症),治疗应答率为 77%。LOXO-305 对先前靶向 BTK 治疗产生耐药的患者、靶向 BTK 治疗不耐受的患者以及靶向 B 淋巴瘤-2 基因(B-Cell lymphoma-2, BCL2)治疗产生耐药的患者均表现出治疗应答。受试的 8 例 MCL

表 1 LOXO-305 体外清除实验数据

分析体系	60 min 保留率 (%)	半衰期 (min)	内在清除率	
			蛋白质( $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	细胞数( $\mu\text{L}\cdot\text{min}\cdot 10^{-6}$ )
人肝微粒体+NADPH	85.1	251	5.51	—
人肝微粒体+UDPGA	100.0	稳定	稳定	—
人肝细胞	89.9	479	—	2.89

注:NADPH 表示还原型辅酶 II 体系;UDPGA 表示尿苷二磷酸葡萄糖醛酸体系;—表示无

表 2 LOXO-305 的体外渗透实验数据

分析体系	运行数	平均表观渗透系数 A-B ( $10^{-6}$ cm/s)	平均表观渗透系数 B-A ( $10^{-6}$ cm/s)	外排率
人克隆结肠腺癌细胞(Caco-2)	1	17.6	46.3	2.6
	2	9.2	61.6	6.7
	3	7.3	57.9	8.0
犬肾细胞(MDCK)	1	9.7	44.4	4.6
	2	7.3	60.2	8.3
	3	9.1	53.1	5.9

患者中,6例患者符合反应评估条件,其中3例表现出应答,治疗应答率50%。

除了上述已公布的临床试验结果外,纪念斯隆凯特琳癌症中心公布了数例服用LOXO-305患者的典型案例<sup>[12]</sup>。

案例1为1例60岁的女性CLL患者,该患者曾经接受了氟达拉滨+环磷酰胺+利妥昔单抗(FCR方案)、来那度胺、利妥昔单抗、苯丁酸氮芥和依鲁替尼的治疗。在出现BTKC481S突变(半胱氨酸-481突变为丝氨酸-481)后,该患者接受LOXO-305治疗,首先服用50 mg每日1次。在服用1个周期(28 d)后,血小板减少、淋巴结疼痛、脾肿大和肝肿大的问题明显得到临床解决。连续服用2个周期后,肿瘤缩小了59%;服用5个周期后,肿瘤缩小了69%<sup>[12]</sup>。

案例2为1例78岁的女性CLL患者,该患者前期接受过苯丁酸氮芥、FCR方案、利妥昔单抗和依鲁替尼的治疗。在出现C481S突变后,接受每日2次100 mg LOXO-305的治疗。治疗8 d后观察到CLL细胞中的pBTK和pERK被持续抑制,淋巴细胞增多。治疗到第5周期时,肿瘤缩小了56%<sup>[12]</sup>。

案例3为1例52岁的女性CLL患者。该患者曾经接受了利妥昔单抗、依鲁替尼、umbralisib/ublituximab和维奈托克的治疗;由于嗜中性粒细胞减少,未能接受依鲁替尼治疗。在维奈托克治疗后,出现获得性BCL2 G101V突变。因此换为每天使用25 mg LOXO-305的治疗,第2个周期增加到50 mg/d,第3个周期增加到100 mg/d。治疗结果显示,服用1周后淋巴细胞数快速增加;在第2周期结束时,肿瘤减少80%,达到部分缓解<sup>[12]</sup>。

## 6 安全性

临床试验NCT03740529公布的结果显示,大多数LOXO-305治疗引起的不良事件的严重程度为1级。最常见的不良事件为疲劳(总发生率为25%,1级为21%,2级为4%)和腹泻(总发生率为18%,1级为14%,2级为4%)。有2例≥3级的不良事件(3级白细胞增多症和3级短暂性中性粒细胞减少症)。尚无剂量依赖性毒性报告,单次最大耐受剂量>200 mg。

综上,这些已公布的临床数据表明,LOXO-305

对BTK依赖性B细胞恶性肿瘤(包括CLL、MCL和边缘区淋巴瘤等)均有较明确的治疗效果,在多个剂量水平均可有效抑制淋巴瘤的生长,没有出现脱靶效应,未观察到剂量依赖性毒性。该药物不仅继承了阿卡替尼的选择性优势,避免了阿卡替尼和依鲁替尼容易导致耐药的缺点,并且对于已发生耐药的患者仍然保持疗效。其安全性和耐受性均符合选择性靶向BTK抑制剂的标准。LOXO-305的相关临床研究尚未结束,该药有望成为新一代的靶向BTK治疗药物。

## 【参考文献】

- [1] National Cancer Institute. Cancer Statistics [EB/OL]. (2020-08-10) [2020-09-01]. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/corp.html>.
- [2] Bond D A, Woyach J A. Targeting BTK in CLL: beyond ibrutinib [J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2019, 14(3): 197-205.
- [3] Iovino L, Shadman M. Novel therapies in chronic lymphocytic leukemia: a rapidly changing landscape [J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2020, 21(4): 24.
- [4] Mato A R, Nabhan C, Thompson M C, et al. Toxicities and outcomes of 616 ibrutinib-treated patients in the United States: a real-world analysis [J]. *Haematologica*, 2018, 103(5): 874-879.
- [5] Mato A R, Flinn I W, Pagel J M. Results from a first-in-human, proof-of-concept phase 1 trial in pretreated B-cell malignancies for LOXO-305, a next-generation, highly selective, non-covalent BTK inhibitor [J]. *Blood*, 2019, 134(1): 501.
- [6] Corneth O B J, Klein Wolterink R G J, Hendriks R W. BTK signaling in B cell differentiation and autoimmunity [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2016, 393(1): 67-105.
- [7] Woyach J A, Ruppert A S, Guinn D, et al. BTK(C481S)-mediated resistance to ibrutinib in chronic lymphocytic leukemia [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(13): 1437-1443.
- [8] Paydas S. Management of adverse effects/toxicity of ibrutinib [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2019, 136(4): 56-63.
- [9] Rogers A, Woyach J A. BTK inhibitors and anti-CD<sub>20</sub> monoclonal antibodies for treatment-naïve elderly patients with CLL [J]. *Ther Adv Hematol*, 2020, 11(3): 1-10.
- [10] Barbara B, Elia G, Steven S, et al. LOXO-305, a next generation reversible BTK inhibitor, for overcoming acquired resistance to irreversible BTK inhibitors [J]. *Cl Lymph Myelom Leuk*, 2018, 18(Suppl): S216.
- [11] Gomez E B, Isabel L, Rosendahl M S, et al. LOXO-305, a highly selective and non-covalent next generation BTK inhibitor, inhibits diverse BTK C481 substitution mutations [J]. *Blood*, 2019, 134(Suppl): S4644.
- [12] OncologyLoxo. The status of LOXO-305 [EB/OL]. (2020-04-09) [2020-09-10]. <https://www.loxooncology.com/pipeline/loxo-305-btk-inhibitor>.

收稿日期:2020-09-27

本文编辑:郭美晨