

PIM 激酶及其小分子抑制剂的研究进展

李 坤¹, 徐元波², 张 伟¹, 马培志^{1*}

(1. 河南省人民医院药学部, 郑州大学人民医院, 河南大学临床医学院, 河南 郑州 450003;

2. 沈阳药科大学, 基于靶点的药物设计与研究教育部重点实验室, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 莫洛尼小鼠白血病病毒前病毒整合激酶 (PIM) 是一种结构独特的丝氨酸/苏氨酸激酶, 在多种恶性血液病以及一些实体瘤中高度表达, 且其表达量与癌症恶性程度和患者不良预后有关。PIM 激酶通过对其底物蛋白进行磷酸化调节细胞的增殖和分化, 是潜在的癌症治疗药物的作用靶标。国内外的研究机构通过文献报道了大量高活性的 PIM 激酶抑制剂, 本文按照研究机构分类对其研究进展进行综述。

关键词: PIM 激酶; 激酶抑制剂; 抗肿瘤; 构效关系

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)11-1926-14

Recent advances of PIM kinase and its small-molecule inhibitors

LI Kun¹, XU Yuan-bo², ZHANG Wei¹, MA Pei-zhi^{1*}

(1. Department of Pharmacy, Henan Provincial People's Hospital, People's Hospital of Zhengzhou University, School of Clinical Medicine, Henan University, Zhengzhou 450003, China; 2. Key Laboratory of Structure-Based Drugs Design and Discovery (Shenyang Pharmaceutical University), Ministry of Education, Shenyang 110016, China)

Abstract: Provirus Integration in Maloney murine leukemia virus (PIM) represents a novel class of unique Ser/Thr kinase, which has been identified to be over-expressed in multiple hematological malignancies and some solid tumors, and the expression quantity correlates with malignant grade and poor prognosis in patients with cancer. PIM kinase plays important roles in regulation of cell proliferation and differentiation through the phosphorylation of its protein substrates, and it has become the emerging target for cancer treatment. A large number of highly active PIM kinase inhibitors have been reported by domestic and foreign research institutions, and the research progress will be summarized according to affiliations in this review.

Key words: PIM kinase; kinase inhibitor; anticancer; structure-activity relationship

莫洛尼小鼠白血病病毒前病毒整合激酶 (provirus integration in Maloney murine leukemia virus, PIM) 是一种高度活化的丝氨酸/苏氨酸激酶, 包含 3 个具有较高同源性的亚家族成员 (PIM-1、PIM-2、PIM-3)。它们在组织分布上具有明显差异: PIM-1 在多种白血病细胞和前列腺癌细胞中高度表达; PIM-2 则常见于脑细胞和淋巴细胞中; PIM-3 主要分布在肾脏及乳腺中^[1]。本

文对 PIM 激酶的结构功能以及抑制剂的研究进展进行综述。

1 PIM 激酶的结构与功能

蛋白晶体学研究表明, PIM-1 具有典型的双叶型蛋白激酶结构: N 端是反向平行的 β 折叠, C 端是 α 螺旋, 中间通过铰链区连接。由于铰链区脯氨酸残基 Pro123 的存在, 使得 ATP 的腺嘌呤碱基只能与其形成一个氢键相互作用^[2]。PIM-1 激酶的催化域由保守的甘氨酸循环序列、磷酸结合位点 K67 和质子结合位点 D176 组成, 其中 K67 的突变会导致酶活性丧失。PIM-1 与 PIM-2 的序列同源率为 61%, 与 PIM-3 的同源

收稿日期: 2019-06-12; 修回日期: 2019-07-22.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81803357); 河南省重点研发与推广专项 (科技攻关 182102310273).

*通讯作者 Tel: 86-371-65581026, E-mail: mpei zhi@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0466

性为71%, 三者在功能上存在冗余^[3,4]。

蛋白激酶在肿瘤细胞的增殖、分化、转移等方面发挥着非常重要的作用^[5,6]。高度表达的PIM 激酶通过对其下游不同底物蛋白的磷酸化作用引起相应的生物学效应, 包括加快细胞周期进程, 促进转录和翻译以及抑制细胞凋亡等(图1)^[7]。研究表明, PIM 激酶与 c-Myc 能够协同促进前列腺癌的发生发展, 并且经 PIM 磷酸化后 c-Myc 的转录活性明显增强^[8,9]。促凋亡蛋白 Bad 能够与抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-xL 形成异源二聚体并释放出 Bax, 进而诱导肿瘤细胞发生凋亡^[10]。Bad 蛋白的 Ser112 能够被 PIM 磷酸化, 而后与 14-3-3 蛋白形成无活性的稳定结合物, 并进一步活化 Bcl-2 蛋白发挥抗凋亡作用^[11]。凋亡信号调节激酶-1 (apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK-1) 也能够被 PIM 的磷酸化作用下失活^[1]。PIM 激酶通过磷酸化细胞周期抑制因子 p21、p27 以及磷脂酶 Cdc25A/C 来调控细胞周期进程^[12,13]。p21 和 p27 具有抑制细胞周期蛋白依赖激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 的活性, 并可以阻止损伤 DNA 的复制。PIM 激酶的磷酸化作用将会使其处于失活状态, 无法有效地控制肿瘤细胞由 G1 期到 S 期的转变。真核细胞翻译起始因子 (eIF4E) 与其结合蛋白 4E-BP1 形成的复合体会阻碍蛋白的翻译起始^[14]。PIM 激酶通过对复合体中 4E-BP1 磷酸化释放活化的 eIF4E, 从而促进肿瘤相关蛋白的表达。PIM 激酶还能够通过磷酸化作用活化 P-糖蛋白 MDR1、BCRP 以及 ABCG2, 使肿瘤细胞对药物产生耐药性^[15,16]。另有研究表明, PIM 基因敲除的小鼠仍然能够正常存活^[17]。因此, 开发安全有效的 PIM 激酶抑制剂, 在癌症治疗方面具有很好的应用前景。

肿瘤细胞信号通路间的功能补偿是其产生耐药

的重要途径之一。研究表明, PIM-1 基因敲除后会致 PIM-2 的表达升高, 而 PIM-1 和 PIM-2 同时敲除时 PIM-3 则异常升高^[18]。因此, 研究 pan-PIM 激酶抑制剂同时调节 3 个亚家族成员的活性可能会废除其交叉补偿作用, 以提供更好的治疗效果。

2 PIM 激酶抑制剂的研究新进展

PIM 作为一种具有独特结构的丝氨酸/苏氨酸激酶, 引起各大药物研发机构的高度关注。不同结构类型的 PIM 激酶抑制剂, 包括吡啶唑啉类、咪唑并吡啶类、吡啶酮类等^[19,20]。根据它们在 PIM 蛋白中的结合方式可以分为两类(图2): 能够直接与铰链区 E121 残基结合的 ATP 模拟物以及与 ATP 活性口袋远离铰链区位点结合的非 ATP 模拟物^[3], 它们均属于 ATP 竞争性抑制剂。

2.1 Genentech Wang 等^[21]通过高通量筛选发现苗头化合物 **1** (PIM-1: $K_i=15 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $K_i=250 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $K_i=5.4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。共结晶结构显示该化合物能够与 ATP 结合口袋周围的多个固定水分子形成氢键相互作用; C-4 位氧原子与 Lys67 结合; 芳香片段能够与 Leu44、Phe49、Ile185 等氨基酸形成疏水性作用。化合物 **1** 在正常生理条件下以两性离子的形式存在, 可能导致其细胞膜透过能力低, 生物利用度差。将碱性哌啶基替换为 4-氰基苄基后得到化合物 **2**, 其 PIM 抑制活性有所提高 (PIM-1: $K_i=1.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $K_i=31 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $K_i=23 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 并保留了较高的配体效率。继续优化得到化合物 **3**, 配体效率进一步提高, 具有皮摩尔水平的 PIM 激酶抑制活性 (PIM-1: $K_i=0.003 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $K_i=0.032 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $K_i=0.009 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 以及纳摩尔水平的抗增殖活性 (BaF3_PIM-1: $\text{IC}_{50}=0.15 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 代表一类新型的

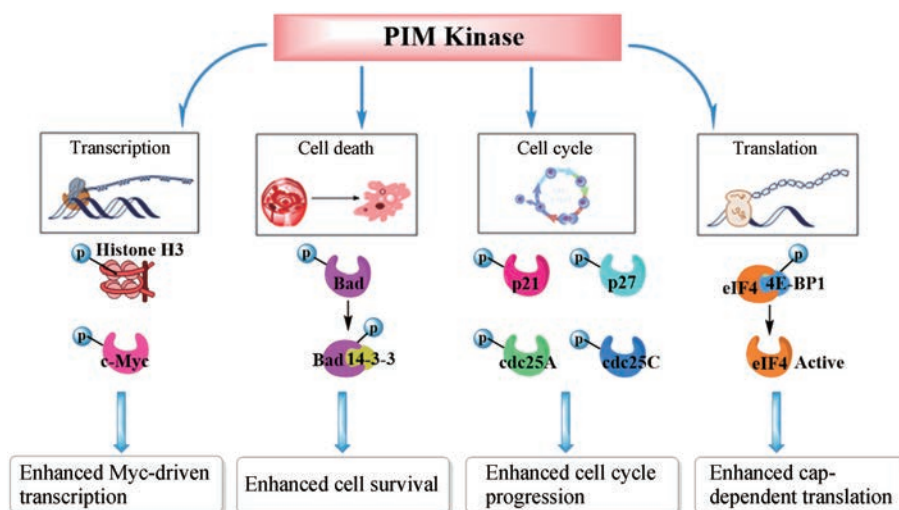


Figure 1 The role of PIM kinases in oncogenic signaling

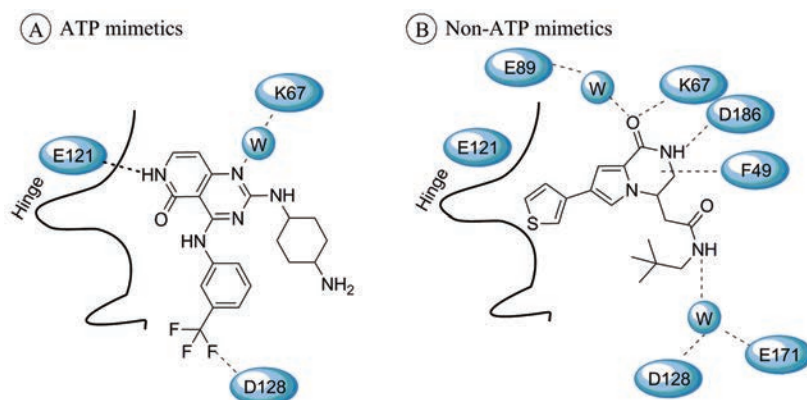


Figure 2 Interactions between inhibitors and typical residues in the ATP-binding site

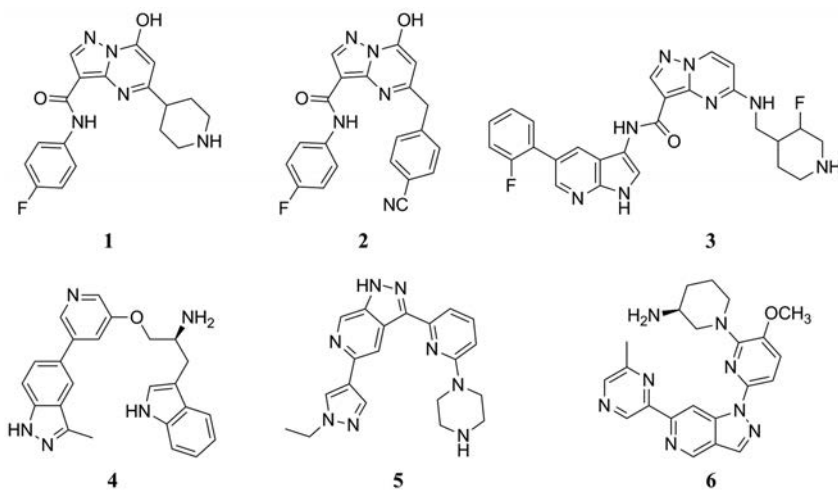
PIM 激酶泛抑制剂。

Hu 等^[22]通过高通量筛选发现 Akt 抑制剂 **4** 具有很强的 PIM 抑制活性 (PIM-1: $K_i=14 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $K_i=8.7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $K_i=17 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。共结晶结构显示吡唑环上的 NH 是活性必需基团, 能够与关键氨基酸 Glu121 形成氢键相互作用; 吡啶环上的氮原子作为氢键受体能够与活性口袋中具有催化活性的 Lys67 形成氢键; 伯胺片段能够直接或通过水分子介导与 Glu171、Asn172、Asp186 形成多个氢键。以化合物 **4** 为基础基于受体配体相互作用进行结构优化得到化合物 **5**, 具有更强的 PIM 激酶抑制活性 (PIM-1: $K_i=0.073 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $K_i=0.473 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $K_i=0.041 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 并且对 PIM 转染的 BaF3 细胞株具有很强的抑制作用 ($\text{IC}_{50}=0.077 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。药代动力学实验结果表明该化合物的生物利用度不佳 ($F=1\%$), 主要原因包括渗透性差以及易被代谢等。

Wang 等^[23]通过分析代谢物发现 6-氮杂吡唑类化合物的葡萄糖醛酸结合是肠代谢的主要原因, 其中吡唑环上的 NH 是发生葡萄糖醛酸化的主要官能团。研究人员通过调整氮杂吡唑环的酸性或者引入空间位阻

发现, 5-氮杂吡唑类化合物具有更好的体内外稳定性以及强效的酶抑制活性。化合物 **6** 几乎可以完全经口服吸收 ($F=103\%$), 并能够浓度依赖性地下调 MM.1S 细胞内 BAD 和 4E-BP1 的磷酸化水平。在 70 多种激酶选择性筛选中, 该化合物对 PIM 具有较高的特异性抑制作用。此外, 化合物 **6** 对 hERG 表现出中等程度的抑制活性 ($37\%/1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 比 SGI-1776 具有更高的安全性。

Wang 等^[24]在前期基础上通过生物电子等排体策略得到化合物 **7**, 具有显著的 PIM 抑制活性 (PIM-1: $K_i=0.01 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $K_i=0.05 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $K_i=0.02 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 并且表观渗透系数 ($P_{\text{app A-B}}: 3\times 10^{-6}$) 和抗增殖活性 (MM.1S: $\text{IC}_{50}=0.05 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 得到了提升。遗憾的是该化合物的溶解性 ($\text{Sol. } 28 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 以及生物利用度 ($F=23\%$) 却明显降低。将化合物 **7** 中的二氨基吡啶替换为二氨基吡咯, 同时对哌啶环进行扩环得到化合物 **8**, 不仅表现出很好的酶/细胞水平抑制活性, 而且溶解性和 hERG 抑制活性也得到了明显改善, 但生物利用度仍然不佳 ($F=8\%$)。进一步研究在氨基 β -位引入氟原子以降低伯胺基的碱性得到化合物 **9**, 其



透过细胞膜的能力以及生物利用度得到明显提高, 并且激酶选择性突出。体内实验结果表明化合物 **9** 具有较好的安全性以及 ADME 特性。此外, 化合物 **9** 与 PI3K 抑制剂联合应用, 明显增强了体内抗肿瘤活性。

2.2 Amgen Wu 等^[25,26]通过高通量筛选发现吡啶类 PIM 激酶抑制剂 **10** (PIM-1: $IC_{50}=17 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $IC_{50}=31 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $IC_{50}=7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 该化合物的激酶选择性较差, 能同时抑制 CDK、GSK-3 β 、FLT3 等多种激酶。考虑到 PIM 激酶铰链区特有的结构特征, 将吡啶环替换为咪唑环, 减少一个氢键受体; 并且将噻唑环替换为噻二唑环以能够与关键区域的水分子形成相互作用, 由此得到化合物 **11**。遗憾的是, 尽管该化合物具有很好的酶/细胞水平抑制活性以及激酶选择性, 但溶解性差和药代动力学性质不理想等问题阻碍了进一步开发。

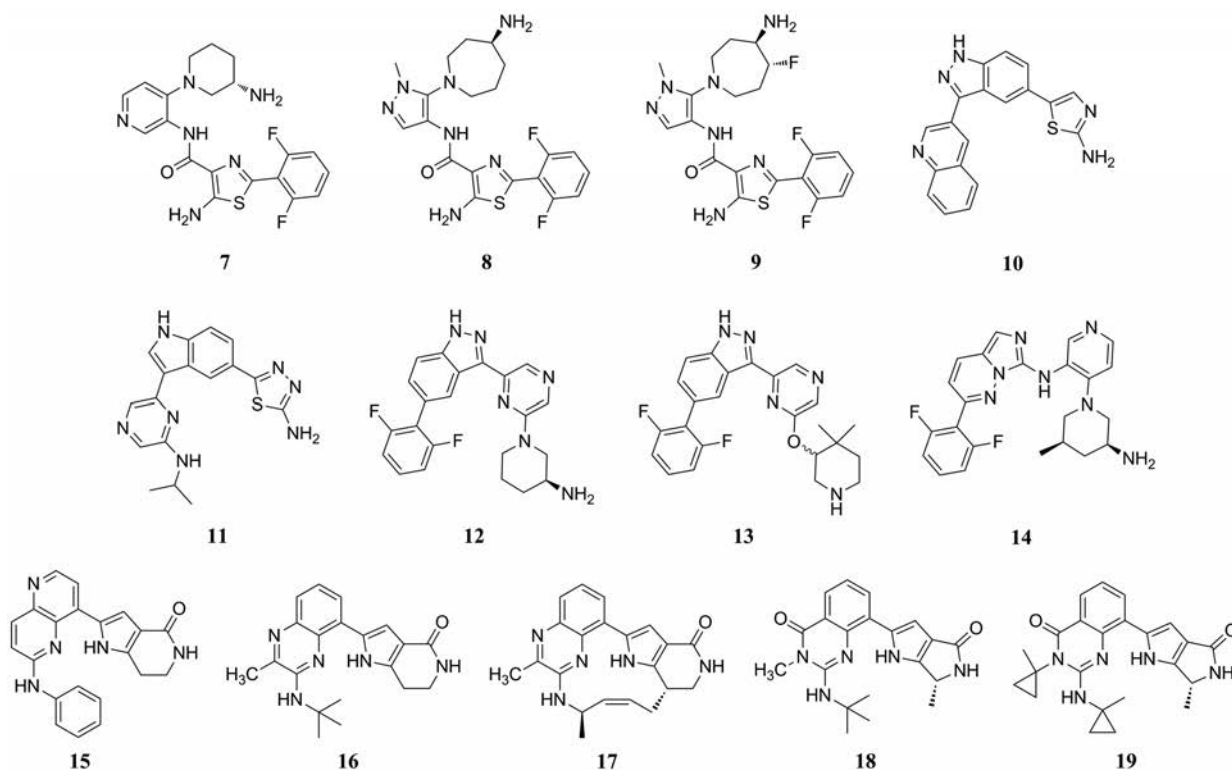
Wang 等^[27]通过高通量筛选发现吡啶类化合物 **12** 具有纳摩尔水平的泛 PIM 抑制活性。共结晶结构显示, 吡啶环上的 NH 与 Glu121 形成氢键, 吡嗪环上氮原子与关键氨基酸 Lys67 结合, 哌啶环上的氨基与酸性氨基酸 Asp186 和 Asn172 之间通过盐桥相互作用。通过对哌啶环片段优化得到活性更好的化合物 **13** (PIM-1: $IC_{50}=3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $IC_{50}=16 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $IC_{50}=3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 具有较弱的 hERG 抑制活性, 较好的肝微粒体稳定性以及口服生物利用度 ($F=89\%$)。

Wurz 等^[28]对化合物 **12** 进行结构修饰得到咪唑并吡

啶类化合物 **14**, 具有亚纳摩尔水平的 PIM 抑制活性 (PIM-1: $IC_{50}=0.024 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $IC_{50}=0.094 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 且能够有效抑制多种骨髓瘤细胞的生长。化合物 **14** 能够明显下调 KMS-12-BM 细胞内 BAD 蛋白的磷酸化水平 ($IC_{50}=28 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。药代动力学结果表明, 化合物 **14** 具有适宜的清除率 ($CL=1.4 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), 但口服生物利用度较低 ($F=17\%$), 不易透过细胞膜, 且外排率较高。

Cee 等^[29]发现萘啶类化合物 **15** (PIM-1: $IC_{50}=0.4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $IC_{50}=1.2 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 具有强效的 PIM-1/2 激酶抑制活性以及细胞水平活性, 但激酶选择性较差, 可能是由于 5-位氮原子易于同激酶铰链区的氨基酸形成氢键相互作用。将萘啶环替换为甲基噻啶啉得到化合物 **16**, 不仅保留了 PIM-1/2 酶抑制活性, 而且使激酶选择性明显提高。将化合物 **16** 进行“U”型构象限定得到大环化合物 **17**, 具有较好的药代动力学特性: 适宜的肝微粒体稳定性, 较高的血浆蛋白结合率, 以及较好的细胞膜透过能力。口服给予 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 **17** 能够有效抑制 KMS-12-BM 小鼠模型体内肿瘤的生长, 并具有较好的耐受性。

Pettus 等^[30]将化合物 **16** 甲基噻啶啉替换为噻啶啉酮得到化合物 **18**, 其代谢稳定性得到明显提高。Wang 等^[31]在化合物 **18** 的 2-位和 3-位同时引入 1-甲基环丙基得到化合物 **19**, 其溶解性得到明显改善, 同时保留了酶/细胞水平抑制活性以及代谢稳定性。药代动力学研究表明, 化合物 **19** 具有较低的清除率以及较高的



口服生物利用度。激酶选择性以及细胞水平抗增殖活性 ($0.049 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ vs $0.26 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 也明显优于化合物 **18**。

2.3 Novartis Nishiguchi等^[32]通过高通量筛选发现1*H*-吡唑并[3,4-*b*]吡啶类化合物**20** (PIM-1: $\text{IC}_{50}=9 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $\text{IC}_{50}=39 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $\text{IC}_{50}=12 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 具有泛PIM抑制活性,但同时也能明显抑制c-Kit ($\text{IC}_{50}=7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、PDGFR ($\text{IC}_{50}=6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、Kdr ($\text{IC}_{50}=18 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 等激酶。将7-氮杂吡唑母核用吡啶进行替换得到化合物**21** (PIM-1: $\text{IC}_{50}=4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $\text{IC}_{50}=42 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $\text{IC}_{50}=22 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 不仅保留PIMs激酶抑制活性,而且提高了对c-Kit ($\text{IC}_{50}>25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、PDGFR ($\text{IC}_{50}>25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、Kdr ($\text{IC}_{50}>25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的选择性。

Burger等^[33-35]通过高通量筛选发现苗头化合物**22**, 为提高活性分别对哌啶环、苯环、乙酰氨基取代的噻唑环进行修饰得到化合物**23** (PIM-1: $K_i=0.002 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $K_i=0.004 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $K_i=0.006 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $c\text{Log}P=3.7$) 和**24** (PIM-1: $K_i=0.001 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $K_i=0.002 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $K_i=0.001 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $c\text{Log}P=3.1$)。共结晶结构显示,该类化合物哌啶环上的氨基与酸性氨基酸 Asp128 和 Glu171 形成氢键相互作用;二氨基吡啶环上的氮原子与 Lys67 形成氢键。化合物**24**表现出强效的KMS-11细胞增殖抑制活性以及体内抗肿瘤活性。为进一步提高代谢稳定性,对氨基吡啶的4-位继续进行优化得到**25**和**26**,其中化合物**25**的半衰期相对于**24**明显延长 (106 min vs 23 min),而清除率 ($9 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ vs $16 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和肝提取率 (0.42 vs 0.77) 有所下降。

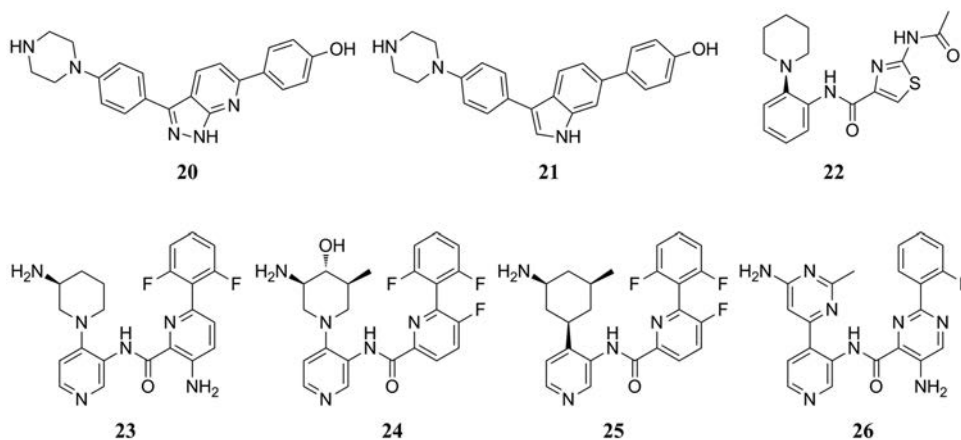
2.4 Sanofi Xiang等^[36]采用基于片段的筛选策略寻找苗头化合物,其中苯并咪唑-2-羧酸类化合物**27** ($\text{IC}_{50}=5.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 具有中等强度的PIM-1抑制活性,配体效率LE为0.48。将C5-位溴原子或者C7-位甲氧基替换为

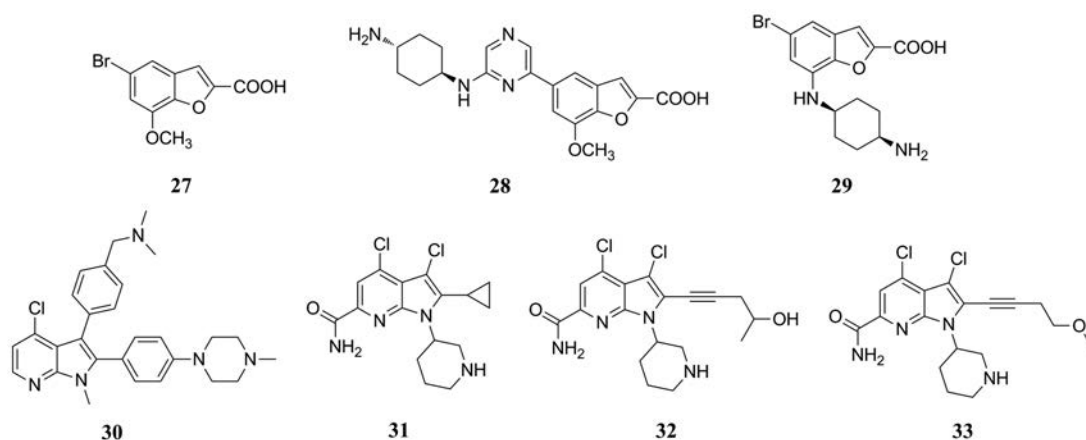
含碱性氨基的片段得到化合物**28** ($\text{IC}_{50}=0.12 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和化合物**29** ($\text{IC}_{50}=0.001 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 二者的活性得到明显提升。

Barberis等^[37,38]以共结晶结构为导向对7-氮杂吡啶的不同位点进行优化得到PIM-1抑制剂**30** ($\text{IC}_{50}=28 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。研究人员通过增加化合物与核糖结合口袋 Asp128 和 Glu171 的相互作用来提高其PIM-2抑制活性。其中,化合物**31** (PIM-1: $\text{IC}_{50}=1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $\text{IC}_{50}=13 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 在KG-1细胞株中的抗增殖活性为 $0.31 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 抑制BAD磷酸化的 IC_{50} 值为 $0.115 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。该化合物具有较好的溶解性以及肝微粒体稳定性。体内药代动力学数据表明,化合物**31**具有适宜的血浆清除率和表观分布容积,且口服生物利用度较高。(S)-构型**31**的ADME性质要明显优于(R)-构型**31**。构效关系:7-氮杂吡啶的6-位氨基和4-位氯原子为活性必需基团;1-位氮原子上需要引入碱性杂环片段;2-位烷基取代对活性有利;3-位能够容忍体积较小的疏水性基团。

Barberis等^[39]基于前期构效关系对7-氮杂吡啶2-位取代基进行优化发现,增加取代基的极性能够降低hERG抑制活性,并且可以增加化合物的溶解性。化合物**32**透过细胞膜的能力和生物利用度较低,导致其血浆暴露不佳。将羟基成醚得到化合物**33**,其透膜性得到了明显改善,且表现出很好的激酶选择性,KG1肿瘤模型体内实验数据证实该化合物具有较好的安全性以及肿瘤生长抑制活性。

2.5 Astex Pharmaceuticals Xu等^[40]通过虚拟筛选得到吡唑并[1,5-*a*]嘧啶类PIM-1抑制剂**34** ($\text{IC}_{50}=52 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),其母核与SGI-1776相似。将化合物**34**的3-位和5-位替换为SGI-1776相同的片段得到化合物**35**,其PIM-1抑制活性明显提高 ($\text{IC}_{50}=45 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$),但该化合物同样具有很强的hERG抑制活性 ($\text{IC}_{50}=1.94 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。继续对3-位和5-位进行优化得到化合





物 **36**, 不仅 PIM-1 抑制活性略有提升, 而且 hERG 抑制活性显著下降 ($IC_{50} > 30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2.6 Cyline Pharmaceuticals Pierre 等^[41,42]以 CK2 抑制剂 **37** ($IC_{50}=46 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 为先导化合物进行结构修饰, 获得一系列苯并[c][2,6]吡啶类 PIM 激酶抑制剂。构效关系表明, 在 C-7 位引入三唑或者仲胺能够降低 CK2 抑制活性而保留 PIM 抑制活性。大多数化合物对 MV-4-11、K-562、PC-3 等细胞株表现出明显的抗增殖活性, 并下调细胞内 BAD 的磷酸化水平。

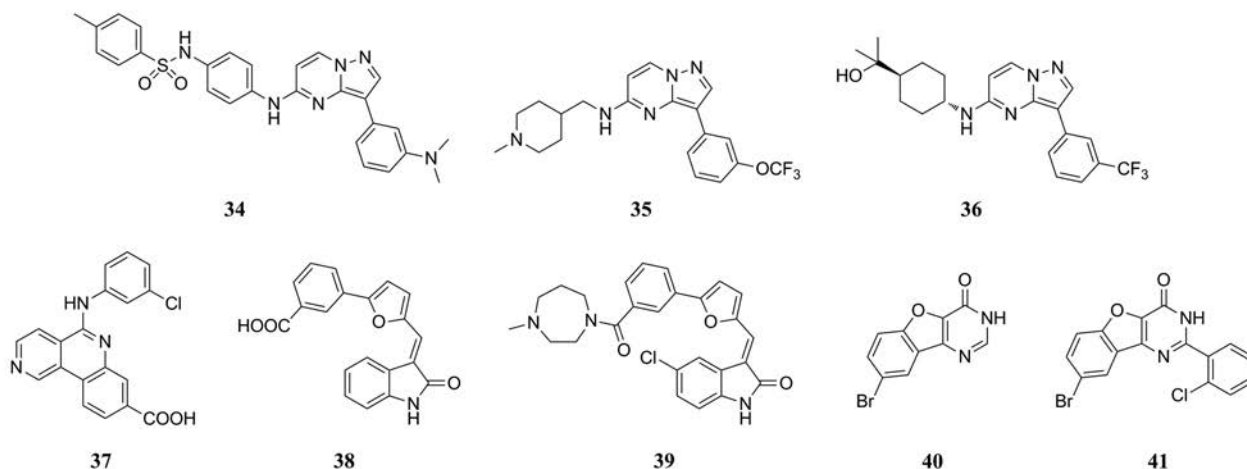
Haddach 等^[43]通过高通量筛选发现羟基吡啶类化合物 **38** 具有一定的 PIM-1 激酶抑制活性, 将 1-位氮原子进行甲基化后导致活性丧失, 而在结构中通过酰胺键引入不同结构类型的碱性片段能够使活性提高。化合物 **39** 对 PIM-1 ($IC_{50}=0.005 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 PIM-2 ($IC_{50}=0.025 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 均表现出很强的抑制活性, 且能够有效抑制多种肿瘤细胞的生长。该化合物具有理想的药代动力学性质, 在 MV-4-11 肿瘤模型中口服给予 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的剂量对瘤体生长的抑制率达 75%。

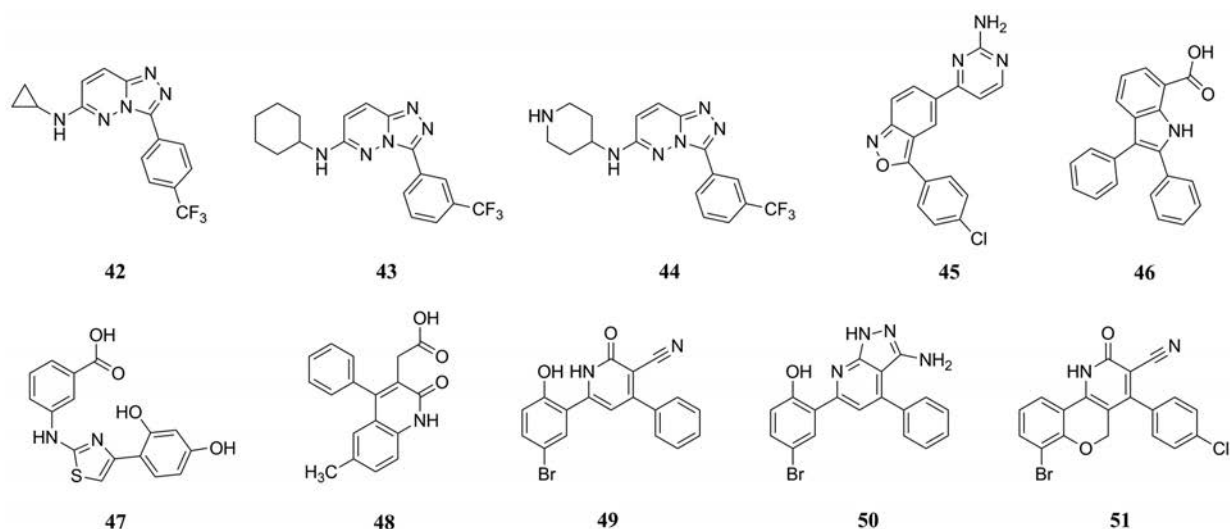
2.7 Exelixis Tshako 等^[44]通过高通量筛选发现苯并咪唑并嘧啶酮类化合物 **40** 具有中等强度的 PIM 激酶抑制活性 (PIM-1: $IC_{50}=526 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $IC_{50}=$

$2963 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $IC_{50}=346 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。在其 2-位引入 2-氯苯基得到化合物 **41**, PIM 抑制活性明显提升 (PIM-1: $IC_{50}=17 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $IC_{50}=781 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $IC_{50}=18 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。构效关系表明: 8-位为溴/氯原子对活性有利, 替换为体积较大的氰基或苯基后活性降低; 2-位苯环上引入含氮杂环能提高酶抑制活性, 但不利于透过细胞膜; 将 2-位苯环替换为含氮杂环不仅能保留酶抑制活性, 还能够改善透膜性。

2.8 Vertex Pharmaceuticals Grey 等^[45]通过高通量筛选发现三唑并[4,3-b]吡啶类化合物 **42** ($K_i=320 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 是一个 ATP 竞争性 PIM-1 抑制剂, 对其进行简单的结构修饰后得到活性明显提高的化合物 **43** ($K_i=11 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 但溶解性极差。将化合物 **43** 结构中的环己基替换为大极性的哌啶环得到化合物 **44**, 在保留 PIM 抑制活性的基础上明显提高了溶解性。

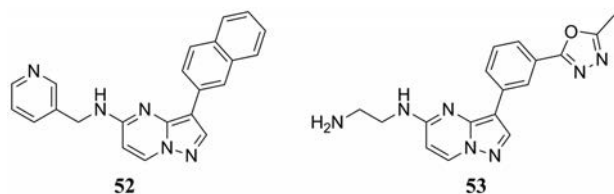
Pierce 等^[46]通过对商业小分子库进行虚拟筛选得到 96 个苗头化合物, 并经活性筛选发现四类不同骨架的化合物 **45** ($K_i=0.091 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、**46** ($K_i=0.55 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、**47** ($K_i=3.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、**48** ($K_i=4.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 它们均表现出一定的 PIM 抑制活性, 运用分子生物学技术获得化合物 **45**、**46** 与 PIM-1 激酶的共结晶结构。





2.9 Valeant Pharmaceuticals Cheney等^[47]通过筛选化合物库发现吡啶酮类化合物 **49** ($IC_{50}=50 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 具有强效的PIM-1抑制活性,随后对该化合物进行结构修饰,代表性化合物包括通过吡啶酮闭环得到的化合物 **50** ($IC_{50}=1.77 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 以及构建三环平面构象得到的化合物 **51** ($IC_{50}=0.92 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),遗憾的是活性并未得到提升。

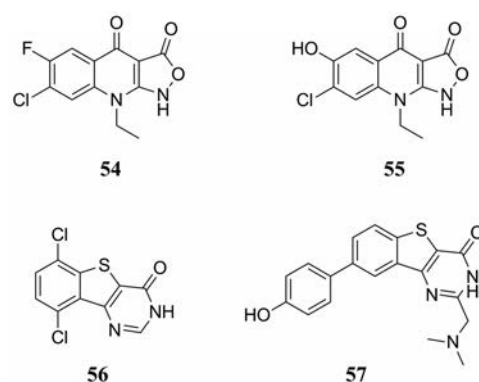
2.10 Merck Dwyer等^[48]通过高通量筛选发现吡咯并[1,5-a]嘧啶类化合物 **52** 具有较好的PIM-1激酶抑制活性。通过对C-3位和C-5位进行系统优化得到活性更强的泛PIM抑制剂 **53** (PIM-1= $1.3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-2= $7.3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-3= $1.8 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$),对CHK1 ($IC_{50}=7\ 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、CDK2 ($IC_{50}=580 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、PI3K ($IC_{50}>3\ 000 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、mTor ($IC_{50}>3\ 000 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、CK2 ($IC_{50}=950 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 均表现出较高的选择性。构效关系显示:C-5位引入极性基团(尤其是伯氨基)有利于活性提高;C-3位可以为不同结构类型的芳香片段。



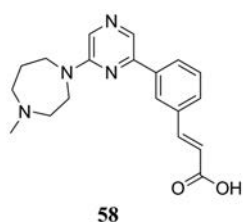
2.11 Abbott Tong等^[49]通过高通量筛选获得异噁唑并[3,4-b]喹啉-3,4(1*H*,9*H*)-二酮类化合物 **54**,该化合物具有强效的PIM-1 ($K_i=21.8 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、PIM-2 ($K_i=174 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 抑制活性。构效关系表明,在1-位引入取代基导致活性明显降低;改变9-位氮原子上的取代基对活性影响不大;将6-位氟原子替换为羟基得到化合物 **55**,其PIM-1 ($K_i=2.5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、PIM-2 ($K_i=$

$43.5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 抑制活性有所提高,可能是因为6-位羟基能够与Glu121形成氢键相互作用。

Tao等^[50]通过高通量筛选发现一类高选择性的苯并噻吩并嘧啶酮PIM-1/2/3激酶抑制剂 **56** (PIM-1: $K_i=63 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $K_i=160 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$),但该化合物在细胞水平无抗增殖活性。随后以其为先导化合物进行优化得到化合物 **57**,对K562 ($IC_{50}=1.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和MV4-11 ($IC_{50}=2.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 表现出较好的生长抑制活性,并且PIM抑制活性也得到明显提升 (PIM-1: $K_i=2 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-2: $K_i=3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; PIM-3: $K_i=0.5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。药代动力学数据显示,化合物 **57** 具有理想的成药性,口服生物利用度为76%,半衰期为2.1 h,蛋白结合率适宜,并且对CYP酶系影响较小。



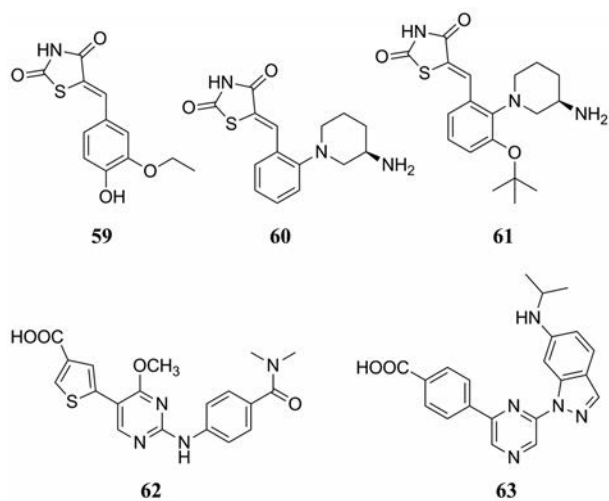
2.12 Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Qian等^[51]通过高通量筛选发现肉桂酸衍生物 **58** 对PIM-1 ($IC_{50}=57 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和PIM-2 ($IC_{50}=40 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 具有较好的抑制活性。该化合物的溶解性为 $2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,表现渗透系数 $P_{\text{app A-B}}$ 为 2.73×10^{-6} ,在肝微粒体中的半衰期为159 min,对CYP酶系影响较小。构效关系研究发现:肉桂酸片段是活性必需部分,将羧基酯化/酰胺



化以及双键还原均导致活性显著下降;增加含氮杂环部分的碱性能够提高化合物的活性。

2.13 AstraZeneca Dakin 等^[52]通过高通量筛选发现噻唑烷二酮类 PIM-2 抑制剂 **59** ($IC_{50}=0.16 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $LE=0.38$), 对苯环进行取代基的变换得到活性明显提高的化合物 **60** (PIM-1: $IC_{50}=9 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-2: $IC_{50}=14 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-3: $IC_{50}=9 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和化合物 **61** (PIM-1: $IC_{50}<3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-2: $IC_{50}<3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-3: $IC_{50}<3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。共结晶结构显示, 化合物结构中的噻唑烷二酮片段与 Lys67 形成氢键作用, 且苯环上引入的碱性氨基片段能够与酸性氨基酸 Asp128 和 Glu171 结合。

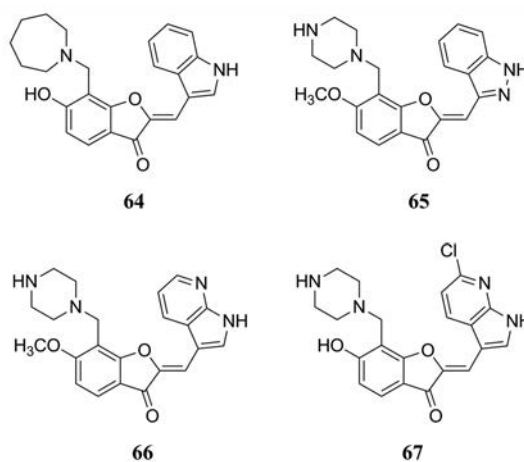
Gingipalli 等^[53]以 **62** 为苗头化合物通过基于结构的合理优化得到 2,6-二取代吡嗪类 PIM/CK2 双效抑制剂 **63**, 同时具有酶水平 (CK2: $IC_{50}=0.005 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-1: $IC_{50}=0.12 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-2: $IC_{50}=1.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-3: $IC_{50}=0.003 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和细胞水平活性 (HCT116: $IC_{50}=1.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。但激酶选择性结果表明, 该化合物对 Hipk2/PI3K/Dyrk3/GSK-3 β /CDK2 也具有较强的抑制活性。小鼠体内药代动力学结果显示, 化合物 **63** 体内清除率较低 ($CL=19 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$), 半衰期为 7.1 h, 但是口服生物利用度不佳 ($F=24\%$), 不利于其体内抗肿瘤活性。共结晶结果显示, 化合物结构中的苯甲酸片段与侧链残基 Lys67 之间形成相互作用, 尽管吡嗪环 4-位氮原子靠近铰链区, 但由于 123 位脯氨酸残基



的存在, 它们之间并未形成氢键。

2.14 The University of Tokyo Nakano 等^[54]通过高通量筛选发现化合物 **64**, 抑制 PIM-1 激酶的 IC_{50} 值约为 $410 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。共结晶结构显示, 苯并咪唑 3-位羰基和咪唑 1-位 NH 分别与 Lys67、Glu121 形成氢键相互作用, 两个芳香环与周围氨基酸形成疏水性相互作用。进一步优化得到化合物 **65**, 在 50 多种激酶中能够选择性地抑制 PIM-1 ($IC_{50}=6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 FLT-3 ($IC_{50}=47 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。该化合物能够有效抑制白血病细胞 MV4-11 的生长 ($GI_{50}=43 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 而对正常人体细胞并无影响。作用机制研究表明, 化合物 **65** 能够诱导 MV4-11 细胞发生凋亡和 G1 期周期阻滞。此外, 该化合物具有较好的 ADMET 性质: 在人和小鼠肝微粒体中均表现出较好的稳定性; 对 5 种主要的 CYP450 (1A2、2C9、2C19、2D6、3A4) 未产生明显抑制作用; 中等的 hERG 抑制活性。

Nakano 等^[55]发现 7-氮杂咪唑类化合物 **66** 具有很强的 PIM-1 抑制活性, 但其激酶选择性不如化合物 **65**。可能是由于咪唑环上 7-位氮原子能够与其他激酶铰链区的氨基酸相互作用。鉴于化合物 **66** 具有更高的水溶性、透膜性以及较低的 hERG 抑制活性, 研究人员期望通过结构改造, 在保留 ADMET 性质的基础上提升化合物的激酶选择性。在 7-氮杂咪唑环的 6-位引入氯原子并将甲氧基去甲基得到的化合物 **67** 具有较好的选择性, 其 hERG 抑制活性较低, 细胞膜透过性较好, 同时表现出更好的肿瘤细胞生长抑制活性。



2.15 Oxford University Bataille 等^[56]通过高通量筛选和分子模拟对接发现一系列具有硫代噻唑烷二酮结构的 PIM 激酶抑制剂。化合物 **68** ($IC_{50}=36 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 具有较好的 PIM-1 激酶抑制活性, 但溶解性和稳定性较差。在苯环上引入极性取代基得到化合物 **69**, 溶解性有所提高。由于化合物 **68** 和 **69** 结构中存在 5-芳亚

甲基罗丹宁结构,在碱性或正常生理条件下容易发生降解。通过构象限定得到化合物**70**,其代谢稳定性得到明显提高。活性结果显示虽然化合物**70**的酶活性相比于**69**略有下降,但其细胞水平的活性却得到了提高。

2.16 Keimyung University Lee等^[57]基于AZD1208设计并合成一系列噻唑烷二酮类PIM激酶抑制剂。其中,化合物**71**对PIM-1/2/3均表现出强效的抑制活性,IC₅₀值分别为0.5、5.7、0.6 nmol·L⁻¹,并且对Jurkat (IC₅₀=19 μmol·L⁻¹)、K562 (IC₅₀=13 μmol·L⁻¹)、MV4-11 (IC₅₀=0.8 μmol·L⁻¹)细胞株表现出中等强度的抗增殖活性。构效关系表明在苯环2-位引入羟基或者5-位引入不同取代的吡嗪片段均有利于PIM抑制活性提升。

More等^[58,59]对Meridianin C的5-位进行修饰得到一系列PIM激酶抑制剂。其中化合物**72**的活性最佳(PIM-1: IC₅₀=3.4 nmol·L⁻¹; PIM-2: IC₅₀=110 nmol·L⁻¹; PIM-3: IC₅₀=6.5 nmol·L⁻¹),且对多种激酶具有较好的选择性。但是该化合物对白血病细胞系MV4-11、K562、Jurkat均未表现出明显的抑制活性,可能是由于其透过细胞膜的能力较差。将2-氨基嘧啶环替换为苯环,并在苯环上引入不同的取代基以改善化合物的理化性质。化合物**73**对MV4-11的生长抑制活性IC₅₀值为0.8 μmol·L⁻¹,对PIM-1/2/3的抑制活性IC₅₀值分别为0.005、0.259、0.010 μmol·L⁻¹,并且对CK2, Flt3, JAK等14种激酶具有高度的选择性。分子对接结果显示,吡啶环上NH以及嘧啶环上氮原子分别能够与Glu121和Lys67形成氢键相互作用。

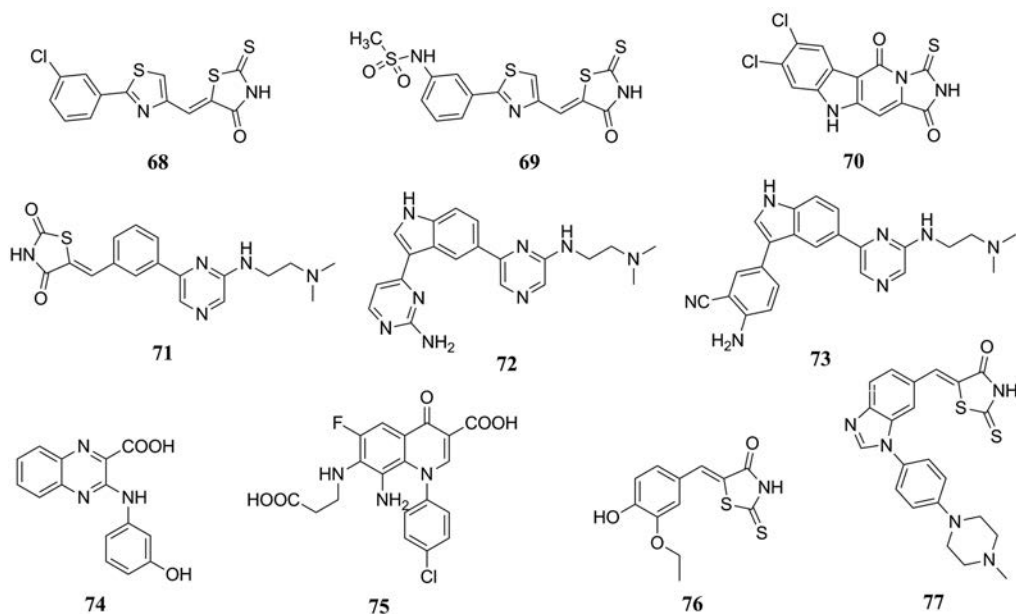
2.17 其他研发机构 Oyallon等^[60]通过筛选化合物库发现噻啉-2-羧酸类化合物具有PIM-1激酶抑制活

性。化合物**74**对PIM-1的抑制活性在纳摩尔水平(IC₅₀=74 nmol·L⁻¹),并且对多种蛋白激酶具有较好的选择性。细胞生长抑制活性实验中,该化合物对人慢性粒细胞白血病KU812的半数有效抑制浓度在微摩尔水平(IC₅₀=38.9 μmol·L⁻¹)。构效关系显示2-位裸露的羧基以及3-位苯环上的间羟基是活性必需基团,缺失后活性急剧下降。

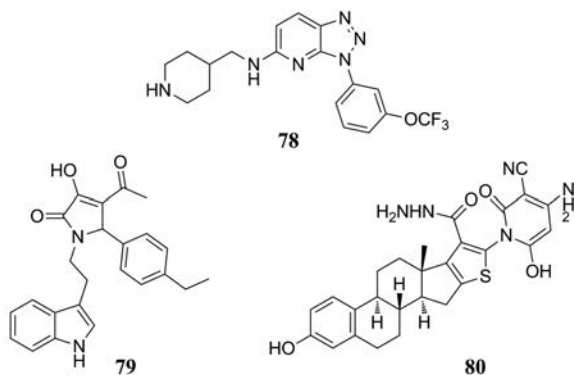
Swellmeen等^[61]运用DS软件对104个共结晶结构计算分析,得到111个定量模型,经过验证7个可以作为理想的药效团模型。在药效团的指引下合成一些噻啉酮类化合物**75**,具有一定的PIM-1激酶抑制活性。Sawaguchi等^[62]通过对小分子库进行筛选得到罗丹明-苯并咪唑类泛PIM抑制剂**76**,然后结合分子对接结果对化合物进行优化。其中,化合物**77**抑制PIM-1/2/3的IC₅₀值分别为16、13、6.4 nmol·L⁻¹,并且能够调控PIM蛋白下游底物的表达水平,引起细胞周期阻滞及诱导凋亡。

Pastor等^[63]通过骨架跃迁策略以及虚拟筛选获得1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶类PIM激酶抑制剂,并将前期研究中咪唑并吡啶和三唑并吡啶的活性片段引入该系列化合物中。化合物**78**抑制PIM-1/2/3的IC₅₀值分别为0.006、0.23、0.007 μmol·L⁻¹。共结晶显示该化合物1-位氮原子与Lys67形成氢键;苯环上氢原子与Glu121形成氢键;嘧啶环上氮原子与Asp128形成氢键;芳香环与Phe49、Val52、Leu174形成疏水性作用。

Olla等^[64]通过药效团和分子对接策略进行虚拟筛选获得具有新颖结构类型的PIM-1激酶抑制剂**79**(IC₅₀=2.1 μmol·L⁻¹)。该化合物对PC3 (IC₅₀=10.1 μmol·L⁻¹)和LNCaP (IC₅₀=10.6 μmol·L⁻¹)具有中等强度的抗增殖



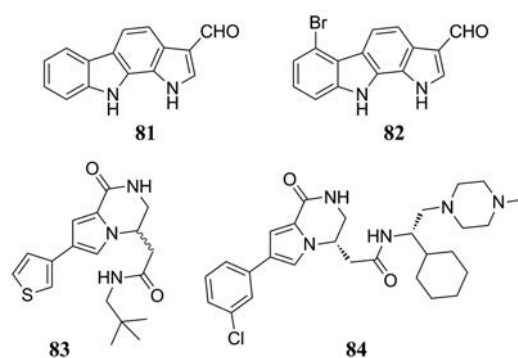
活性,并能引起肿瘤细胞发生G2/M期阻滞。Mohareb等^[65]通过对雌酮D环的修饰得到衍生物**80**,对PIM-1的抑制活性为 $0.49 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。该化合物对多种肿瘤细胞的生长有抑制活性, IC_{50} 值分别为 $0.08 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (A549)、 $0.11 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (H460)、 $0.40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (HT29)、 $0.29 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (MNK-45)、 $0.06 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (U87MG)、 $0.29 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (SMMC-7721)。



Akue-Gedu等^[66-71]发现吡咯并[2,3-a]咪唑是一类新型骨架的PIM抑制剂。化合物**81**的活性在纳摩尔水平,并能够有效抑制肿瘤细胞株PA1 ($\text{IC}_{50}=4.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、PC3 ($\text{IC}_{50}=9.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、DU145 ($\text{IC}_{50}=26 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的生长。在化合物**81**的6-位引入溴原子得到活性更好的化合物**82**,对PIM-1、PIM-2、PIM-3的半数有效抑制浓度分别为6.8、131、12.4 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,细胞水平抑制PA1、PC3、DU145细胞株生长的半数有效抑制浓度分别为0.8、2.2、1.4 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

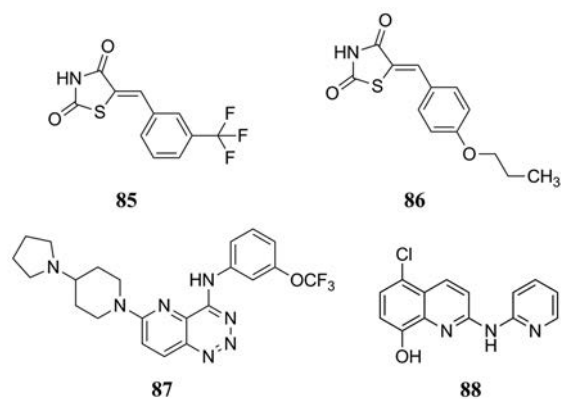
Casuscelli等^[72]通过筛选得到吡咯并[1,2-a]吡嗪酮类PIM抑制剂**83**,但该化合物的成药性不佳(脂溶性高,代谢稳定性差)。共结晶结构显示,噻吩环上的芳香氢与铰链区Glu121结合;内酰胺的羰基和氨基分别与Lys67/Asp186形成氢键;侧链酰胺的氮原子通过水分子与Asp128/Glu171形成两个氢键。化合物**84**(PIM-1: $\text{IC}_{50}=0.003 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-2: $\text{IC}_{50}=0.073 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, PIM-3: $\text{IC}_{50}=0.125 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)具有更好的激酶选择性,对MV4-11 ($\text{IC}_{50}=1.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、LP-1 ($\text{IC}_{50}=1.9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、LNCaP ($\text{IC}_{50}=3.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、CAPAN-1 ($\text{IC}_{50}=3.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)等多种细胞株均表现出较好的抗增殖活性,并能够浓度依赖性地下调BAD、4EBP1的磷酸化水平。

Xia等^[73]通过筛选得到高选择性PIM激酶抑制剂**85**,能够剂量依赖性地下调4E-BP1的磷酸化水平。分子对接结果显示,化合物**85**噻唑烷二酮上的NH能够与Glu121形成氢键;三氟甲基苯基与活性口袋疏水性区域通过范德华力结合。体内实验数据显示,化合物**86**在连续给药5天后能使肿瘤生长速度降低50%,而



未引起体重减轻。

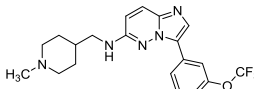
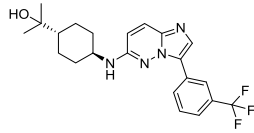
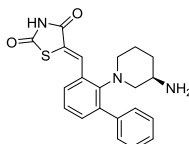
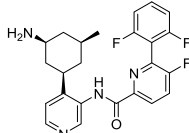
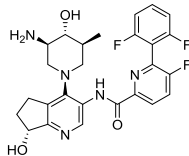
Fan等^[74]通过骨架跃迁和扩环原理发现吡啶并[3,2-d]-1,2,3-三嗪类PIM抑制剂。化合物**87**具有较好的PIM-1抑制活性($\text{IC}_{50}=1.05 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),且能够抑制PC3 ($\text{IC}_{50}=8.16 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和LNCaP ($\text{IC}_{50}=10.70 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)细胞的生长。该化合物能够显著下调BAD和4E-BP1的磷酸化水平,同时下调c-Myc蛋白,阻断其与PIM-1在前列腺癌细胞增殖中的协同作用。Li等^[75]发现2-[N-(吡啶-2-基)氨基]噻啉类PIM-1激酶抑制剂**88** ($\text{IC}_{50}=0.75 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),该化合物能够抑制PC3细胞的生长($\text{IC}_{50}=1.29 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),引起细胞发生G0/G1期周期阻滞以及诱导细胞发生凋亡。化合物**88**可以浓度依赖性地下调c-Myc以及磷酸化的BAD和4E-BP1水平,同时能够上调细胞周期相关蛋白p21和p27的表达水平。



3 临床研究的PIM激酶抑制剂

通过对相关数据库进行检索发现,目前已有6个PIM激酶抑制剂被批准进行临床试验(表1)。咪唑并噻啉类化合物SGI-1776是首个进入临床研究的PIM激酶抑制剂,用于治疗前列腺癌、非霍奇金淋巴瘤、难治/复发性白血病,但由于心脏毒性已经终止试验。TP-3654与SGI-1776具有相同的母核,仍然在进行晚期实体瘤的I期临床试验。噻唑烷二酮类化合物AZD1208是一个pan-PIM激酶抑制剂,在300多种激

Table 1 The Clinical PIM kinase inhibitors. *From <https://clinicaltrials.gov/>

Drug	Structure	Enzyme activity* /nmol·L ⁻¹	Highest phase*	Condition*
SGI-1776		PIM-1=7 PIM-2=363 PIM-3=69	I Discontinued	Prostate; non-Hodgkin's lymphoma; relapsed/refractory leukemias
TP-3654		PIM-1=5 PIM-2=239 PIM-3=42	I	Advanced solid tumors
AZD1208		PIM-1=2.6 PIM-2=164 PIM-3=17	I Discontinued	Acute myeloid leukemia; malignant lymphoma; advanced solid tumors
LGH447		PIM-1=0.006 PIM-2=0.018 PIM-3=0.009	II	Myelofibrosis; multiple myeloma; acute myeloid leukemia
INCB-053914		PIM-1=0.24 PIM-2=30 PIM-3=0.12	II	Relapsed diffuse large B-cell lymphoma, solid tumors
SEL24-B849	Not disclosed	PIM-1=2 PIM-2=2 PIM-3=3	II	Acute myeloid leukemia

酶中对 PIM 具有非常好的选择性, 其临床试验由于安全及有效性问题已经终止。吡啶酰胺类化合物 LGH447 和 INCB-053914 也是 pan-PIM 抑制剂, 对 PIM 激酶的抑制活性在皮摩尔水平, 具有较好的体内药代动力学性质, 目前正在进行 II 期临床试验。SEL24-B849 的结构还未公示, 该化合物正在进行急性髓性白血病的 II 期临床试验。

4 小结与展望

PIM 激酶是肿瘤细胞信号转导的关键节点, 它通过调控细胞周期进程、加速转录和翻译以及抑制细胞凋亡等途径促进肿瘤的发生发展。高效低毒的 PIM 激酶抑制剂有望成为肿瘤治疗的新策略。Asati 等^[76]以化合物的结构类型作为分类标准对各种抑制剂的生物活性以及构效关系进行分析总结, 本文则从不同角度出发按照研究机构分类对 PIM 激酶抑制剂的最新研究进展进行了综述。

总体而言, 国外许多药物研发部门已经在积极开发 PIM 激酶抑制剂, 不同结构类型的候选药物不断涌现。虽然到目前为止, 还未有高选择性的 PIM 激酶抑制剂被批准上市, 但已经有多个品种进入了临床试验。

相信随着研究的不断推进, 该类药物将会为肿瘤患者点燃新的希望。相比之下, 国内药物研发机构针对 PIM 激酶的研究相对滞后, 尚缺乏具有自主知识产权的专利化合物, 我们需要加快步伐以跻身该领域先进水平。

References

- [1] Gu JJ, Wang Z, Reeves R, et al. PIM1 phosphorylates and negatively regulates ASK1-mediated apoptosis [J]. *Oncogene*, 2009, 28: 4261-4271.
- [2] Qian KC, Wang L, Hickey ER, et al. Structural basis of constitutive activity and a unique nucleotide binding mode of human PIM-1 kinase [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 6130-6137.
- [3] Le BT, Kumarasiri M, Adams JR, et al. Targeting PIM kinases for cancer treatment: opportunities and challenges [J]. *Future Med Chem*, 2015, 7: 35-53.
- [4] Bachmann M, Moroy T. The serine/threonine kinase PIM-1 [J]. *Int J Biochem Cell B*, 2005, 37: 726-730.
- [5] Nawijn MC, Alendar A, Berns A. For better or for worse: the role of PIM oncogenes in tumorigenesis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11: 23-34.
- [6] Qi XM, Wang F, Mortensen M, et al. Targeting an oncogenic

- kinase/phosphatase signaling network for cancer therapy [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8: 511-517.
- [7] Chen LS, Balakrishnan K, Gandhi V. Inflammation and survival pathways: chronic lymphocytic leukemia as a model system [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80: 1936-1945.
- [8] Zhang Y, Wang Z, Li X, et al. PIM kinase-dependent inhibition of c-Myc degradation [J]. *Oncogene*, 2008, 27: 4809-4819.
- [9] Zippo A, De Robertis A, Serafini R, et al. PIM1-dependent phosphorylation of histone H3 at serine 10 is required for MYC-dependent transcriptional activation and oncogenic transformation [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9: 932-944.
- [10] Zha J, Harada H, Yang E, et al. Serine phosphorylation of death agonist BAD in response to survival factor results in binding to 14-3-3 not BCL-X_L [J]. *Cell*, 1996, 87: 619-628.
- [11] Aho TL, Sandholm J, Peltola KJ, et al. PIM-1 kinase promotes inactivation of the pro-apoptotic Bad protein by phosphorylating it on the Ser112 gatekeeper site [J]. *FEBS Lett*, 2004, 571: 43-49.
- [12] Zhang Y, Wang Z, Magnuson NS. PIM-1 kinase-dependent phosphorylation of p21^{Cip1/WAF1} regulates its stability and cellular localization in H1299 cells [J]. *Mol Cancer Res*, 2007, 5: 909-922.
- [13] Morishita D, Katayama R, Sekimizu K, et al. PIM kinases promote cell cycle progression by phosphorylating and down-regulating p27^{Kip1} at the transcriptional and posttranscriptional levels [J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 5076-5085.
- [14] Li S, Sonenberg N, Gingras AC, et al. Translational control of cell fate: availability of phosphorylation sites on translational repressor 4E-BP1 governs its proapoptotic potency [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22: 2853-2861.
- [15] Natarajan K, Bhullar J, Shukla S, et al. The PIM kinase inhibitor SGI-1776 decreases cell surface expression of P-glycoprotein (ABCB1) and breast cancer resistance protein (ABCG2) and drug transport by PIM-1-dependent and -independent mechanisms [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85: 514-524.
- [16] Xie Y, Xu K, Linn DE, et al. The 44-kDa PIM-1 kinase phosphorylates BCRP/ABCG2 and thereby promotes its multimerization and drug-resistant activity in human prostate cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 3349-3356.
- [17] Laird PW, Clarke A, Domen J, et al. *In vivo* analysis of PIM-1 deficiency [J]. *Nucleic Acids Res*, 1993, 21: 4750-4755.
- [18] Drygin D, Haddach M, Pierre F, et al. Potential use of selective and nonselective PIM kinase inhibitors for cancer therapy [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 8199-8208.
- [19] Arunesh GM, Shanthi E, Krishna MH, et al. Small molecule inhibitors of PIM1 kinase: July 2009 to February 2013 patent update [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2014, 24: 5-17.
- [20] Zheng XZ, Jin XL, Zhao LX. Advances in studies of small molecule PIM kinase inhibitors [J]. *Chin J Med Chem*, 2013, 23: 499-505.
- [21] Wang X, Magnuson S, Pastor R, et al. Discovery of novel pyrazolo[1, 5-a]pyrimidines as potent pan-PIM inhibitors by structure- and property-based drug design [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 3149-3153.
- [22] Hu H, Wang X, Chan GK, et al. Discovery of 3,5-substituted 6-azaindazoles as potent pan-PIM inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25: 5258-5264.
- [23] Wang X, Kolesnikov A, Tay S, et al. Discovery of 5-azaindazole (GNE-955) as a potent pan-PIM inhibitor with optimized bioavailability [J]. *J Med Chem*, 2017, 60: 4458-4473.
- [24] Wang X, Blackaby W, Allen V, et al. Optimization of pan-PIM kinase activity and oral bioavailability leading to diaminopyrazole (GDC-0339) for the treatment of multiple myeloma [J]. *J Med Chem*, 2019, 62: 2140-2153.
- [25] Wu B, Wang HL, Cee VJ, et al. Discovery of 5-(1*H*-indol-5-yl)-1,3,4-thiadiazol-2-amines as potent PIM inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25: 775-880.
- [26] Wurz RP, Pettus LH, Jackson C, et al. The discovery and optimization of aminooxadiazoles as potent PIM kinase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25: 847-855.
- [27] Wang HL, Cee VJ, Chavez F Jr, et al. The discovery of novel 3-(pyrazin-2-yl)-1*H*-indazoles as potent pan-PIM kinase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25: 834-840.
- [28] Wurz RP, Sastri C, D'Amico DC, et al. Discovery of imidazopyridazines as potent PIM-1/2 kinase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 5580-5590.
- [29] Cee VJ, Chavez F Jr, Herberich B, et al. Discovery and optimization of macrocyclic quinoxaline-pyrrolo-dihdropiperidinones as potent PIM-1/2 kinase inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2016, 7: 408-412.
- [30] Pettus LH, Andrews KL, Booker SK, et al. Discovery and optimization of quinazolinone-pyrrolopyrrolones as potent and orally bioavailable pan-PIM kinase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2016, 59: 6407-6430.
- [31] Wang HL, Andrews KL, Booker SK, et al. Discovery of (*R*)-8-(6-methyl-4-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyrrolo[3,4-*b*]pyrrol-2-yl)-3-(1-methylcyclopropyl)-2-((1-methylcyclopropyl)amino)quinazolin-4(3*H*)-one, a potent and selective PIM-1/2 kinase inhibitor for hematological malignancies [J]. *J Med Chem*, 2019, 62: 1523-1540.
- [32] Nishiguchi GA, Atallah G, Bellamacina C, et al. Discovery of novel 3,5-disubstituted indole derivatives as potent inhibitors of PIM-1, PIM-2, and PIM-3 protein kinases [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 6366-6369.
- [33] Burger MT, Han W, Lan J, et al. Structure guided optimization, *in vitro* activity, and *in vivo* activity of pan-PIM kinase inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, 4: 1193-1197.
- [34] Burger MT, Nishiguchi G, Han W, et al. Identification of *N*-(4-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-amino-5-methylcyclohexyl)pyridin-3-yl)-6-(2,6-difluorophenyl)-5-fluoropicolinamide (PIM447), a potent and selective proviral insertion site of moloney murine leukemia

- (PIM) 1, 2, and 3 kinase inhibitor in clinical trials for hematological malignancies [J]. *J Med Chem*, 2015, 58: 8373-8386.
- [35] Nishiguchi GA, Burger MT, Han W, et al. Design, synthesis and structure activity relationship of potent pan-PIM kinase inhibitors derived from the pyridyl carboxamide scaffold [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 2328-2332.
- [36] Xiang Y, Hirth B, Asmussen G, et al. The discovery of novel benzofuran-2-carboxylic acids as potent PIM-1 inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 3050-3056.
- [37] Barberis C, Moorcroft N, Arendt C, et al. Discovery of *N*-substituted 7-azaindoles as PIM1 kinase inhibitors - Part I [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27: 4730-4734.
- [38] Barberis C, Moorcroft N, Pribish J, et al. Discovery of *N*-substituted 7-azaindoles as Pan-PIM kinase inhibitors - Lead series identification - Part II [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27: 4735-4740.
- [39] Barberis C, Pribish J, Tserlin E, et al. Discovery of *N*-substituted 7-azaindoles as Pan-PIM kinases inhibitors - Lead optimization - Part III [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29: 491-495.
- [40] Xu Y, Brenning BG, Kultgen SG, et al. Synthesis and biological evaluation of pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine compounds as potent and selective PIM-1 inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2015, 6: 63-67.
- [41] Pierre F, Stefan E, Nedellec AS, et al. 7-(4*H*-1,2,4-Triazol-3-yl)benzo[*c*][2,6]naphthyridines: a novel class of PIM kinase inhibitors with potent cell antiproliferative activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 6687-6692.
- [42] Pierre F, Regan CF, Chevrel MC, et al. Novel potent dual inhibitors of CK2 and PIM kinases with antiproliferative activity against cancer cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 3327-3331.
- [43] Haddach M, Michaux J, Schwaebe MK, et al. Discovery of CX-6258. A potent, selective, and orally efficacious pan-PIM kinases inhibitor [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2012, 3: 135-139.
- [44] Tshako AL, Brown DS, Koltun ES, et al. The design, synthesis, and biological evaluation of PIM kinase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 3732-3738.
- [45] Pierce AC, Jacobs M, Stuver-Moody C. Docking study yields four novel inhibitors of the protooncogen PIM-1 kinase [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 1972-1975.
- [46] Grey R, Pierce AC, Bemis GW, et al. Structure-based design of 3-aryl-6-amino-triazolo[4,3-*b*]pyridazine inhibitors of PIM-1 kinase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 3019-3022.
- [47] Cheney IW, Yan S, Appleby T, et al. Identification and structure-activity relationships of substituted pyridones as inhibitors of PIM-1 kinase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17: 1679-1683.
- [48] Dwyer MP, Keertikar K, Paruch K, et al. Discovery of pyrazolo [1,5-*a*]pyrimidine-based PIM inhibitors: a template-based approach [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 6178-6182.
- [49] Tong Y, Stewart KD, Thomas S, et al. Isoxazolo[3,4-*b*]quinoline-3,4(1*H*,9*H*)-diones as unique, potent and selective inhibitors for PIM-1 and PIM-2 kinases: chemistry, biological activities, and molecular modeling [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 5206-5208.
- [50] Tao ZF, Hasvold LA, Levenson JD, et al. Discovery of 3*H*-benzo [4,5]thieno[3,2-*d*]pyrimidin-4-ones as potent, highly selective, and orally bioavailable inhibitors of the human protooncogene proviral insertion site in moloney murine leukemia virus (PIM) kinases [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 6621-6636.
- [51] Qian K, Wang L, Cywin CL, et al. Hit to lead account of the discovery of a new class of inhibitors of PIM kinases and crystallographic studies revealing an unusual kinase binding mode [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 1814-1827.
- [52] Dakin LA, Block MH, Chen H, et al. Discovery of novel benzylidene-1,3-thiazolidine-2,4-diones as potent and selective inhibitors of the PIM-1, PIM-2, and PIM-3 protein kinases [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 4599-4604.
- [53] Gingipalli L, Block MH, Bao L, et al. Discovery of 2,6-disubstituted pyrazine derivatives as inhibitors of CK2 and PIM kinases [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28: 1336-1341.
- [54] Nakano H, Saito N, Parker L, et al. Rational evolution of a novel type of potent and selective proviral integration site in Moloney murine leukemia virus kinase 1 (PIM1) inhibitor from a screening-hit compound [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 5151-5164.
- [55] Nakano H, Hasegawa T, Kojima H, et al. Design and synthesis of potent and selective PIM kinase inhibitors by targeting unique structure of ATP-binding pocket [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2017, 8: 504-509.
- [56] Bataille CJ, Brennan MB, Byrne S, et al. Thiazolidine derivatives as potent and selective inhibitors of the PIM kinase family [J]. *Bioorg Med Chem*, 2017, 25: 2657-2665.
- [57] Lee J, Park J, Hong VS. Synthesis and evaluation of 5-(3-(pyrazin-2-yl)benzylidene)thiazolidine-2,4-dione derivatives as pan-PIM kinases inhibitors [J]. *Chem Pharm Bull*, 2014, 62: 906-914.
- [58] More KN, Jang HW, Hong VS, et al. PIM kinase inhibitory and antiproliferative activity of a novel series of meridianin C derivatives [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24: 2424-2428.
- [59] More KN, Hong VS, Lee A, et al. Discovery and evaluation of 3,5-disubstituted indole derivatives as PIM kinase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28: 2513-2517.
- [60] Oyallon B, Brachet-Botineau M, Loge C, et al. Structure-based design of novel quinoxaline-2-carboxylic acids and analogues as PIM-1 inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 154: 101-109.
- [61] Swellmeen L, Shahin R, Al-Hiari Y, et al. Structure based drug design of PIM-1 kinase followed by pharmacophore guided synthesis of quinolone-based inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2017, 25: 4855-4875.
- [62] Sawaguchi Y, Yamazaki R, Nishiyama Y, et al. Rational Design of a potent pan-PIM kinases inhibitor with a rhodanine-benzo-

- imidazole structure [J]. *Anticancer Res*, 2017, 37: 4051-4057.
- [63] Pastor J, Oyarzabal J, Saluste G, et al. Hit to lead evaluation of 1, 2, 3-triazolo[4, 5-b]pyridines as PIM kinase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 1591-1597.
- [64] Olla S, Manetti F, Crespan E, et al. Indolyl-pyrrolone as a new scaffold for PIM1 inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 1512-1516.
- [65] Mohareb RM, Samir EM, Halim PA. Synthesis, and anti-proliferative, PIM-1 kinase inhibitors and molecular docking of thiophenes derived from estrone [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 83: 402-413.
- [66] Suchaud V, Gavara L, Saugues E, et al. Identification of 1,6-dihydropyrazolo[4, 3-c]carbazoles and 3, 6-dihydropyrazolo[3, 4-c]carbazoles as new PIM kinase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21: 4102-4111.
- [67] Suchaud V, Gavara L, Giraud F, et al. Synthesis of pyrazolo[4,3-a]phenanthridines, a new scaffold for PIM kinase inhibition [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22: 4704-4710.
- [68] Letribot B, Akue-Gedu R, Santio NM, et al. Use of copper (I) catalyzed azide alkyne cycloaddition (CuAAC) for the preparation of conjugated pyrrolo[2,3-a]carbazole PIM kinase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2012, 50: 304-310.
- [69] Giraud F, Akue-Gedu R, Nauton L, et al. Synthesis and biological activities of 4-substituted pyrrolo[2, 3-a]carbazole PIM kinase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2012, 56: 225-236.
- [70] Akue-Gedu R, Nauton L, Thery V, et al. Synthesis, PIM kinase inhibitory potencies and *in vitro* antiproliferative activities of diversely substituted pyrrolo[2, 3-a]carbazoles [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18: 6865-6873.
- [71] Akue-Gedu R, Rossignol E, Azzaro S, et al. Synthesis, kinase inhibitory potencies, and *in vitro* antiproliferative evaluation of new PIM kinase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 6369-6381.
- [72] Casuscelli F, Ardini E, Avanzi N, et al. Discovery and optimization of pyrrolo[1,2-a]pyrazinones leads to novel and selective inhibitors of PIM kinases [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21: 7364-7380.
- [73] Xia Z, Knaak C, Ma J, et al. Synthesis and evaluation of novel inhibitors of PIM-1 and PIM-2 protein kinases [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 74-86.
- [74] Fan YB, Li K, Huang M, et al. Design and synthesis of substituted pyrido[3,2-d]-1,2,3-triazines as potential PIM-1 inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 1224-1228.
- [75] Li K, Li Y, Zhou D, et al. Synthesis and biological evaluation of quinoline derivatives as potential anti-prostate cancer agents and PIM-1 kinase inhibitors [J]. *Biorg Med Chem*, 2016, 24: 1889-1897.
- [76] Asati V, Mahapatra DK, Bharti SK, et al. PIM kinase inhibitors: structural and pharmacological perspectives [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 172: 95-108.