

中国科学技术大学优秀博士学位论文推荐表

作者姓名	王傲莉	学号	BA141680 81	出生年月	198702	民族	汉
院系名称	科学岛分 院	联系 电话	17705603 261	毕业去向	中科院合肥物质科学研 究院博士后		
指导教师	刘静 研究员		获博士学位日期		2017.6		
一级学科名称	生物学		二级学科名称		生物物理学		
本科毕业院校	沈阳药科大学		硕士毕业院校		沈阳药科大学		
承担主要社会工作	无						
获奖 情况	2016年博士研究生国家奖学金						
学位论文题目	针对 FLT3-ITD 阳性急性髓细胞白血病的激酶抑制剂药物学研究						
学位论文研究方向	针对 FLT3-ITD 突变的急性髓性白血病的激酶抑制剂的研究						
学位论文评阅专家	张华凤	孙宏斌	王文超	刘青松	陈立功		
学位论文答辩专家	张华凤	王文超	刘青松	陈立功	潘峥婴		
论文答辩日期	2017.5.25		论文答辩结果 (通过票数/不通过票数)			5 / 0	
学位论文中文摘要							
<p>急性骨髓性白血病 (Acute myeloid leukemia, AML) 是由于髓性细胞通过克隆、增殖、异常分化等方式快速的渗透至骨髓,血液和其他组织(包括脾、淋巴结、肝脏等组织)为特点的造血系统异常的癌症。FLT3 受体属于III型受体酪氨酸激酶家族中成员,目前研究表明 FLT3 基因的表达异常、突变与 AML 的发生、发展及预后有密切关系。据统计大约 1/3 的 AML 患者具有该基因突变,这导致 FLT3 下游信号通路持续活化和细胞的恶性增殖,因此 FLT3 成为靶向治疗 AML 的重要靶点。由于 FLT3 突变在 AML 中表现突出具有强烈的临床需求,近几年来针对 FLT3 的药物开发取得了迅速发展。尤其是 2016 年 2 月 19 日,诺华公司开发的 FLT3 激酶抑制剂 PKC412 (midostaurin)被美国食品药品监督管理局 (FDA) 授予“突破性”地位用于治疗 FLT3 突变的 AML 患者,更加确证了 FLT3 激酶作为 FLT3-ITD 的 AML 的药物开发靶点的有效性。本论文主要围绕 FLT3 激酶抑制剂的理性设计和药物作用机制及克服耐药性等方面展开研究。</p> <p>第一部分: 针对 FLT3-ITD 突变的高选择性 I 型激酶抑制剂 CHMFL-FLT3-165 的药物学研究</p> <p>我们利用老药新用的理念通过高通量筛选的方法发现已上市药物 Ibrutinib (BTK 抑制剂)能够选择性的抑制 FLT3-ITD 突变的细胞,但对 FLT3-wt 的 AML 细胞的增殖无明显影响。但由于 Ibrutinib 对 FLT3 激酶的抑制活性在 submicromolar。为了获得具有自主知识产权的、活性和选择性更好的 FLT3 激酶抑制剂,我们以 Ibrutinib 的母核为基础,设计并合成了优于 Ibrutinib 的新型 Type I 抑制剂 CHMFL-FLT3-165,实验结果显示,该化合物选择性的对 FLT3-ITD 阳性的 AML 细胞有强烈的抑制增殖的活性,并且对 FLT3-wt 的细胞的没有显著的影响。同时 CHMFL-FLT3-165 对 FLT3 激酶介导信号通路有明显的影响,并将细胞周期阻滞在 G0-G1 期。动物模型试验中,该化合物在 25mg/kg 的剂量下,就能够抑制肿瘤在小鼠体内的生长 (TGI=76%)。尽管,CHMFL-FLT3-165 的作用活性非常强,但由于口服利用度等药物代谢性质不太理想,不适宜进一步的临床前开发研究。但作为一个先导化合物可以为我们提供一个很好的药物模板,为进一步开发高活性高选择性的 FLT3 激酶抑制剂提供基础。</p>							

第二部分：针对 FLT3-ITD 突变的临床前候选激酶抑制剂 CHMFL-FLT3-122 的药物学研究

前期得到的化合物 CHMFL-FLT3-165 尽管生物活性很好，但由于其药代动力学研究结果不理想，为了得到口服利用度等药物代谢性质更好的化合物，我们通过药物化学的方法对 Ibrutinib 的结构进一步进行优化，得到一个高活性高选择性的化合物 CHMFL-FLT3-122，在细胞层次上，CHMFL-FLT3-122 对 FLT3-ITD 阳性的细胞有很强的抑制增殖的作用，能够明显的抑制 FLT3 介导的信号通路，并将细胞周期阻滞在 G0-G1 期。并且该化合物对 FLT3 和 CKIT 激酶有很好的选择性，暗示该化合物可能会避免骨髓抑制等相关的副作用。随后，我们对最为关注的药物代谢动力学进行了初步的研究，实验结果显示，CHMFL-FLT3-122 的口服利用度达到 30%，半衰期 $T_{1/2}(h)$ 为 1.4 小时，并且在 MV4-11 细胞接种的异种移植瘤小鼠模型中，该化合物呈现剂量依赖性的抑制效果，而对小鼠体重没有明显影响。上述研究结果表明，CHMFL-FLT3-122 会是治疗 FLT3-ITD 阳性的 AML 的一个潜在的临床候选药物。

第三部分：针对 FLT3 激酶多种突变的 II 型激酶抑制剂 CHMFL-FLT3-213 的药物学研究

尽管目前 PKC412 已被 FDA 批准用于治疗 FLT3 突变导致的 AML，但在前期的临床实验中，随着用药时间的延长，耐药现象也不断出现，其中一个原因就是由于 FLT3 激酶区发生了多种耐药突变，导致激酶抑制剂对 FLT3 的抑制作用减弱。为了进一步获能够克服 FLT3 激酶区多种耐药性突变，诸如 FLT3 gatekeeper F691L 的耐药突变，我们又在 Ibrutinib 与 FLT3 的结合模式深入分析的基础上，设计合成了 II 型抑制剂 CHMFL-FLT3-213。实验结果表明 CHMFL-FLT3-213 不仅对原发性的 FLT3-ITD、FLT3-D835Y/V/H 等突变有强烈的抑制作用，并且对耐药突变如 FLT3-ITD-F691L/D835Y 等突变也有很强的抑制作用。并且，该化合物依然能够对 MOLM-13, MOLM-14 和 MV4-11 有很强的抑制增殖作用，将细胞周期阻滞在 G1-G1 期，诱导细胞凋亡。体内实验也显示了良好的口服生物利用度 $F=18.8\%$ 。在 MV4-11 接种的动物模型中，3.5mg/kg 的剂量下就能够明显的抑制小鼠体内肿瘤生长。上述研究表明，CHMFL-FLT3-213 为临床上治疗 FLT3 突变呈阳性的 AML，尤其是针对耐药突变的 AML 提供了一个新工具和研究思路。

第四部分：能够克服 FLT3 配体引起的 FLT3 激酶抑制剂耐药的已知化合物 A674563 的发现及其作用机制研究

对于 FLT3 抑制剂在临床研究中出现的耐药问题，除了激酶区发生的获得性耐药突变外，由 FLT3 配体引起的微环境耐药也是目前 FLT3 激酶抑制剂的所面临的问题之一。这是由于病人用药后体内的 FLT3 配体(FLT3-ligand, FL)水平的上升，从而重新激活 wt-FLT3 信号通路，包括 AKT 等。基于此，我们采用老药新用的理念，对现有的 AKT 抑制剂进行测试，发现“老药”A674563 能选择性的抑制 FLT3-ITD 突变的阳性细胞系。并在 FL 存在的条件下，该化合物仍然显示出很强的抑制活性。提示 A674563 能够通过同时抑制 AKT 和 FLT3 激酶来克服此类耐药性。在动物模型中也表现出很好的抑制肿瘤增殖的活性。该项研究工作表明 A674563 无论是在细胞水平还是在动物模型上均表现出较强的抗肿瘤活性，为研究 FLT3 激酶提供了新工具，为 AML 的治疗提供了新的候选药物。

攻读博士期间与博士学位论文相关的代表性成果（限列 10 项）						
发表学术论文数	19	本人第一论文数 (含导师第一本人第二)	12	专利及其它成果数	1	
序号	成果名称	作者排名	期刊名称	发表时间	收录情况	
1	Discovery of (R)-1-(3-(4-Amino-3-(3-chloro-4-(pyridin-2-ylmethoxy)phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)piperidin-1-yl)prop-2-en-1-one (CHMFL-EGFR-202) as a Novel Irreversible EGFR Mutants Kinase Inhibitor with a Distinct Binding Mode	共同一作, 排第 1	<u>Journal of Medicinal Chemistry</u>	2017	SCI 二区 IF 5.589	
2	Dual Inhibition of AKT/FLT3-ITD by A674563 Overcomes FLT3 Ligand-Induced Drug Resistance in FLT3-ITD positive AML	共同一作, 排第 1	Oncotarget	2016	SCI 一区 IF 5.008	
3	Ibrutinib targets mutant-EGFR kinase with a distinct binding conformation	共同一作, 排第 1	Oncotarget	2016	SCI 一区 IF 5.008	
4	Discovery of (R)-1-(3-(4-amino-3-(4-phenoxyphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)piperidin-1-yl)-2-(dimethylamino)ethanone (CHMFL-FLT3-122) as a Potent and Orally Available FLT3 Kinase Inhibitor for FLT3-ITD Positive Acute Myeloid Leukemia.	共同一作, 排第 2	<u>Journal of Medicinal Chemistry</u>	2015	SCI 二区 IF 5.589	
5	Discovery of a highly potent FLT3 kinase inhibitor for FLT3-ITD-positive AML	共同一作, 排第 2	Leukemia	2016	SCI 一区 IF 12.104	
6	Discovery of CHMFL-KIT-8140 as a Highly Potent Type II Inhibitor Capable of Inhibiting the T670I "Gatekeeper" Mutant of c-KIT Kinase	共同一作, 排第 2	<u>Journal of Medicinal Chemistry</u>	2016	SCI 二区 IF 5.589	
7	Simultaneous inhibition of Vps34 kinase would enhance PI3K δ inhibitor cytotoxicity in the B-cell malignancies	共同一作, 排第 2	Oncotarget	2016	SCI 一区 IF 5.008	
8	Discovery of a BTK/MNK Dual Inhibitor for Lymphoma and Leukemia.	共同一作, 排第 3	Leukemia	2016	SCI 一区 IF 12.104	
9	Ibrutinib selectively targets FLT3-ITD in mutant FLT3-positive AML	共同一作, 排第 3	Leukemia	2016	SCI 一区 IF 12.104	
10	依鲁替尼对 FLT3-ITD 突变的急性白血病的应用	排第 5	专利, 专利号: ZL 2014 1 0598948.1	2017		

