•新药发现与研究实例简析•

新药创制是复杂的智力活动, 涉及科学研究、技术创造、产品开发和医疗效果等多维科技活动。每个药物都有自身的研发轨迹, 而构建化学结构是最重要的环节, 因为它涵盖了药效、药代、安全性和生物药剂学等性质。本栏目以药物化学视角, 对有代表性的药物的成功构建, 加以剖析和解读。

本条目氘来昔替尼是酪氨酸激酶2 (TYK-2) 选择性抑制剂, 可抑制IL-12、IL-23和1型干扰素 (IFN) 通路, 这些通路与银屑病和其他免疫介导疾病的发病机制有关。分子生物学研究表明, TYK-2在结构和功能上不同于JAK-1、2和3激酶。氘来昔替尼不抑制JAK-1、-2和-3的活性, 因而避免了现有JAK-1/2/3抑制剂的不良反应。在构建本品分子结构的药物化学过程中, 结构生物学自始至终指导着设计, 优化药代性质应用了氘代的同位素动力学优势, 为提高选择性和消除脱靶作用整合了优势结构片段, 从而创制出口服治疗银屑病的首创性药物。 (编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-1323

口服治疗银屑病的首创性药物氘来昔替尼

郭宗儒

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

1 研制背景

1.1 Janus激酶家族 在非受体型酪氨酸激酶中有个Janus激酶家族, 包含有JAK-1、JAK-2、JAK-3和TYK-2等4个亚型, 它们分别结合于膜上细胞因子受体的胞内域, 导致Janus激酶催化转录蛋白的信号转换因子和激活因子发生磷酸化, 再经二聚化转移至核内。其中TYK-2与JAK-2二聚化调节白介素IL-12和IL-23信号通路, 是炎症和免疫性疾病重要蛋白靶标。抑制TYK-2激酶对某些自身免疫性疾病有治疗作用, 例如多发性骨髓瘤、溃疡性结直肠炎和牛皮癣等。该靶标重要之处还在于抑制TYK-2并不增加真菌感染的风险, 这与JAK-1和JAK-2抑制剂因免疫力下降而发生真菌感染有明显区别。

1.2 已上市的Janus激酶抑制剂药物 自2011年首创泛JAK激酶抑制剂以来, 迄今已有9个药物上市, 表1列出的**1**～**8**都是JAK-1/-2/-3单一或组合靶标的抑制剂, 对TYK-2没有或弱活性。本品氘来昔替尼 (**9**, deucravacitinib) 则是TYK-2首创的选择性抑制剂。

1～**8**的结合位点都是占据ATP结合域 (又称作JH-1), 阻断激酶的磷酸化。由于JAK亚型之间的JH-1结构的相似性, 难以达到选择性抑制目标。

1.3 变构位点抑制剂 TYK-2是一种复杂的蛋白质, 具有多个结构域参与分子间和分子内的相互作用, 其功能是介导受体的催化结构域的激活。在TYK-2中存在一个伪激酶结构域JH-2, 本身没有催化活性, 但通过自抑制作用, 在调节受体介导的邻近催化结构域JH1的激活中却发挥关键作用。此外, TYK-2还具有不依赖于激酶的支架作用, NK细胞对肿瘤的监测也需要TYK-2, 但无需TYK-2的激酶活性。

若小分子将TYK-2伪激酶结构域JH-2的构象稳定在阻止与激酶结构域JH-1之间的自抑制相互作用, 就可阻断受体介导的激活和催化结构域的活性。这种稳定化作用导致下游信号转导被阻断 (Nielsen OH, Boye TL, Chekravarti D, et al. Selective tyrosine kinase 2 inhibitors in inflammatory bowel disease. Trends Pharmacol Sci, 2022, 43: 424−436)。本项目就是研制TYK-2的变构位点JH-2抑制剂。图1是变构抑制剂抑制TYK-2激活作用的示意图。

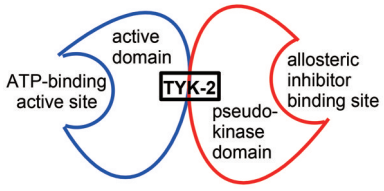
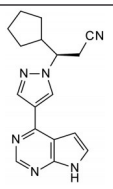
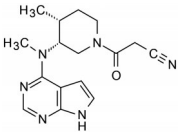
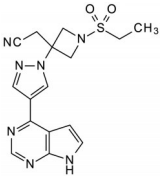
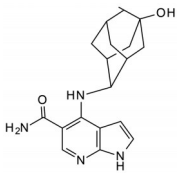
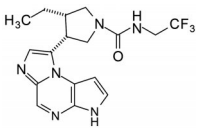
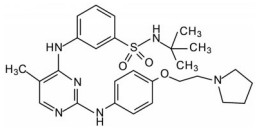
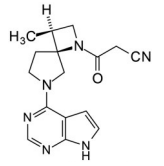
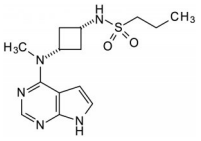
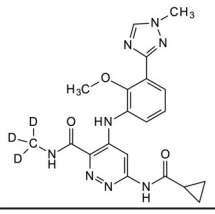


Figure 1 Diagram of the binding site of allosteric inhibitor to pseudokinase domain of TYK-2

2 化合物活性评价

2.1 抑制TYK-2 JH2活性 用均相时间分辨荧光分析方法 (HTRF) 间接测定抑制剂活性。受试物溶液按3倍量稀释, 与一定浓度的TYK-2 JH2和荧光素标记

Table 1 The marketed JAK-1/-2/-3 inhibitors and deucravacitinib

No.	Generic name	Structure	Year/Company	Target	Indication
1	Ruxolitinib		2011 Incyte/Novartis	JAK-1/-3	Myelofibrosis
2	Tofacitinib		2012 Pfizer	JAK-1/-2	Rheumatoid arthritis
3	Baricitinib		2017 Incyte/Lilly	JAK-1/-2	Rheumatoid arthritis, alopecia areata
4	Peficitinib		2018 Astellas	JAK-1/-2/-3, TYK-2	Ulcerative colitis
5	Upadacitinib		2019 AbbVie	JAK-1	Rheumatoid arthritis
6	Fedratinib		2019 Sanofi/Celgene	JAK-2	Myelofibrosis
7	Delgocitinib		2020 Japan Tabacco	JAK	Topical atopic dermatitis
8	Abrocitinib		2021 Pfizer	JAK-1	Atopic dermatitis
9	Deucravacitinib		2022 BMS	TYK-2	Psoriasis

激酶 (示踪酶) 于培养液中温孵, 测定荧光素接受体发射光波长 (520 nm) 的荧光强度和铽供体波长 (495 nm) 的荧光素受体的荧光强度。基于二者的比值和浓度的相关关系, 计算化合物的 IC_{50}。

2.2 抑制 IL-23/IFN*α* 细胞活性 信号传导及转录激活蛋白 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 是一种能与 DNA 结合的蛋白质独特家族, 含有 SH2 和 SH3 结构域, 可与特定的含磷酸化酪氨酸的肽段结合, 被激活的 STAT 可诱导与细胞增殖、分化、凋亡密切相关基因的异常高表达, 促进细胞增殖、恶性转化。Kit225 T 细胞与稳定整合的 STAT 依赖性荧光素酶报告基因和不同浓度的受试物分别加入重组人 IL-

23或重组的IFN-α温孵，测定荧光素酶的表达量，基于浓度–效应关系计算化合物抑制细胞生长的IC_{50}，对这两株细胞活性越强表明化合物越有效。

2.3 抑制小鼠全血（和人全血）IFNα诱导STAT磷酸化的活性 该方法也是测定化合物对血细胞活性的量度（方法从略）。

3 苗头化合物及其演化

3.1 C3酰胺的变换 BMS公司用HTRF方法对公司的化合物库作高通量筛选，发现化合物**10**对TYK-2 JH2有一定的活性和选择性，用人和小鼠肝微粒体温孵有较高的代谢稳定性（温孵一定的时间后原型药＞80%），而且有较高的配体效率（LE）和亲脂性效率（LLE）分别为0.30和5.8，因而定位苗头化合物作初步优化，首轮是对烟酰胺的氮原子作烷基取代。表2列出了化合物的结构和活性。

表2中只有5个化合物，每个化合物却提供了8个活性数据，分析构效关系归纳如下：① 单甲基化合物**11**保持了**10**的选择性活性，只是活性强度有所降低（2～8倍）。② 单乙基化**12**的活性显著降低，但对JAK各种亚型的JH1没有活性，**11**对TYK-2 JH2的选择性高于**10**。环丙基**13**抑制TYK-2 JH2活性更低，但选择性也强于**10**。③ **11**对高表达IL-2（依赖于JAK-1和JAK-3）和GM CSF（依赖于JAK-2）的细胞活性弱，在细胞表型上也证实选择性优于**10**。④ 二甲氨基**14**的活性更低，提示N-H的存在并与受体形成氢键是结合的必要元件。

化合物**11**与TYK-2 JH2复合物单晶结构显示，**11**经氢键网络固定在JH2铰链处。母核吡啶的氮原子、C6连接的胺基吡啶和C3的甲基酰胺与门户氨基酸Thr687以及Val690和Glu699的肽键骨架形成多个氢键，还同Lys642、Arg738和Arg739发生静电和氢键的结合。C3酰胺上的甲基适配于邻近Ala671形成的“丙氨酸腔”。由于多数激酶此处的氨基酸都大于丙氨酸（数百个激酶中只有9个是Ala），这就解释了为什么**10**对JAK-1/2也呈现结合，但选择性不高的原因了。图2是**11**与TYK-2 JH2晶体结构的示意图。

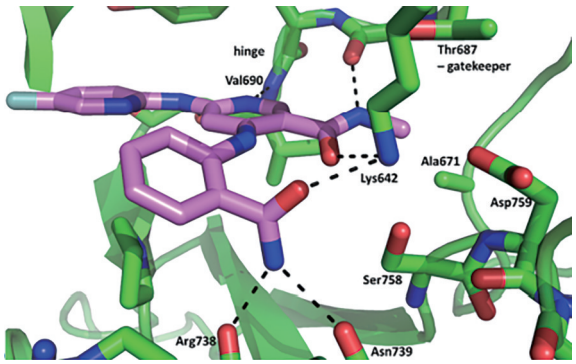
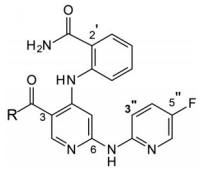


Figure 2 Sketch map of X-ray crystallography of **11** bound to TYK-2 JH2

3.2 C6取代基的变换 对母核C6连接的取代基变换，合成的化合物列于表3。5″-氟代吡啶用苯环替换，**15**的酶和细胞活性很低，推测是吡啶母核的C5-H（略带缺电子性）与氨基吡啶的N1形成分子内氢键，形成的共面构象有利于结合与活性，而苯环没有形成氢键因素。没有氟取代的吡啶**16**活性与**11**相近，而**17**（3″-氟代）和**18**（2-嘧啶基）的活性低于**11**。5″-氟原子对吡啶环起到化学与代谢的稳定作用，因而C3连接的片段固定为5″-氟代吡啶。

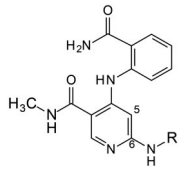
3.3 C4连接片段的变换 以化合物**11**为起始物，考察母核C4经NH连接的苯甲酰氨的变换对活性的影响，合成的化合物列于表4。去除2′-氨酰基**19**的活性降低，**11**的氨酰基用甲磺酰基取代，化合物**20**对TYK-2 JH2和细胞活性，都显著强于**11**，对人和小鼠肝微粒体的稳定高于**11**，过膜性也强于**11**，因而预示有利于口

Table 2 SAR of preliminary alteration at C3 amide. a: IL-23 is dependent upon TYK-2 as well as JAK-2; IFNα is dependent upon TYK-2 as well as JAK-1. b: Control assays (TYK-2 independent): IL-2 is dependent upon JAK-1 and JAK-3; GM-CSF is dependent upon JAK-1 and JAK-2



Compd.	R	IC_{50}/μmol·L^{-1}			
		TYK-2 JH2	(TYK-2/JAK-1/2) JH1	IL-23/IFNα^a	IL-2/GM CSF^b
10	H_2N	0.000 46	0.015/0.026/0.024	0.089/0.037	0.40/0.21
11	$H(CH_3)N$	0.001 3	>2(all)	0.66/0.32	>12.5/>12.5
12	$H(C_2H_5)N$	0.013	>2(all)	4.1/2.5	>12.5/>12.5
13	$H(c\text{-}C_3H_5)N$	0.033	>2(all)	3.3/5.6	>12.5/>12.5
14	$(CH_3)_2N$	0.087	>2(all)	11/12	>12.5/>12.5

Table 3 Structure-activity relationship of C6 substituent



Compd.	R	IC_{50}/μmol·L^{-1}		
		TYK-2 JH2	IL23	TNFα
11		0.001 3	0.66	0.32
15		0.033	6.9	7.6
16		0.001 6	0.28	0.31
17		0.005 9	1.3	1.8
18		0.060	>12.5	>12.5

服吸收和提高血药浓度。**20** 显示良好的活性, 为此研究了与 TYK-2 JH2 复合物的晶体结构, 图 3 显示 **20** 定位于变构部位, 经多个氢键结合 (图中的虚线所示) 形成网络。C3 连接出的甲胺基的甲基所处的“丙氨酸腔”是提高活性和选择性的重要结构, 变换成乙基或环丙基, 因空间不容而活性锐减 (数据省略)。另一要点是磺酰基的氧原子经水分子 (结构水) 的氢键介导与 Gln597 和 Arg738 形成氢键 (Moslin R, Zhang YL, Wrobleski ST, et al. Identification of *N*-methyl nicotinamide and *N*-methyl pyridazine-3-carboxamide pseudokinase domain ligands as highly selective allosteric inhibitors of tyrosine kinase 2 (TYK2). J Med Chem, 2019, 62: 8953−8972)。

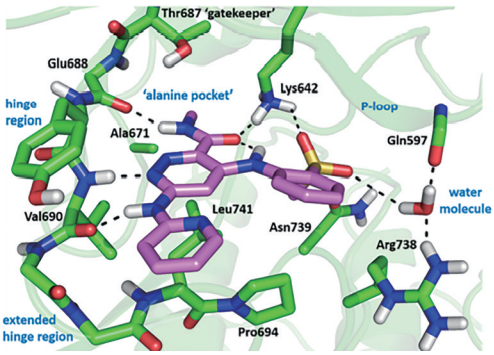
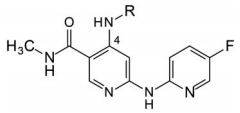
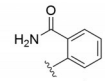
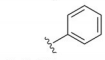
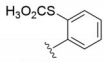
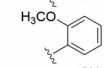
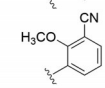
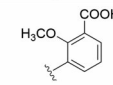
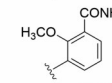
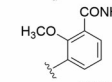
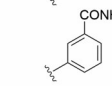
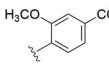
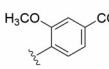


Figure 3 X-ray crystal structure representation of **20** co-complexed with TYK-2 JH2

3.4 结构水分子的模拟 在母核 C4 引出胺苯基的环上作不同位置的原子或基团取代, 以优化活性。用甲氧基置换甲磺酰基, **21** 的活性虽然降低大约 5 倍, 但分子的极性表面积 (PSA) 由 113 Å^2 下降到 88 Å^2, 这有利于吸收, 也是增添基团和优化活性和药代的有利因素。设想在 C3′或 C4′引入氢键接受体以代替结构水中的氧原子, 也将三元复合物变为二元体系, 这在热力学上是有利的。为此, 合成的化合物列于表 4。

Table 4 C4-Aminophenyl SAR exploring C2′−C4′ modifications



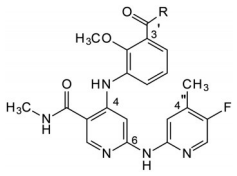
Compd.	R	IC_{50}/nmol·L^{-1}		
		TYK-2 JH2	IL-23/IFNα	*h*WB TNFα
11		1.3	660	530
19		11	5 600	>10 000
20		0.9	63	180
21		5.2	510	270
22		0.9	34	570
23		0.9	>10 000	>10 000
24		0.8	63	120
25		0.6	78	230
26		44	7 500	>10 000
27		0.9	930	390
28		0.8	490	520

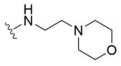
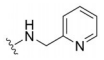
含有 2′-OCH_3-3′-CN 的化合物 **22** 活性强于没有氰基的 **21**, 与甲磺酰基 **20** 抑制酶与细胞的活性相近。换成 3′-羧基 (**23**, 是合成的中间体)、酰胺 **24** 和酰甲胺 **25**, 除 **23** 因极性强难以过膜而无细胞活性外, 与 **20** 的酶活性相同, 细胞活性相近。**26** 没有 2′-OCH_3 活性锐减, 说明两个位置的取代基的协同作用, 缺一不可。**27** 和 **28** 的低细胞活性是由于过膜性差的缘故 (Caco 数据省略)。

3.5 C3′-酰胺烷基的延长 下一步的优化有两个要点, 一是母核 C6 连接的胺基吡啶的 4″位连接甲基, 因为已有的数据表明 4″-甲基的存在可消除抑制 c-Kit 作用; 另一是酰胺的氢原子与 Arg738 形成氢键, 并有可容纳氮上取代烷基的空间。因而合成了化合物 **29**～**36** 列于表 5。

分析表 5 构效关系如下: ① 酰胺 **29** 和酰甲胺 **30** 抑酶活性很高, IC_{50} = 0.5 nmol·L^{-1}, 两种细胞活性也很

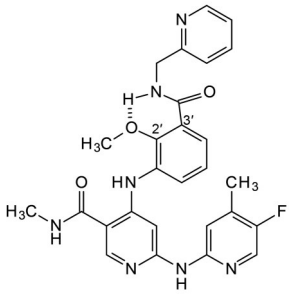
Table 5 SAR of extended groups at C3′-amide



Compd.	R	IC_{50}/nmol·L^{-1}		
		TYK-2	IFNα	*h*WB
29	NH_2	0.5	30	62
30	$NHCH_3$	0.5	47	140
31	NHC_2H_5	0.4	28	280
32	$N(CH_3)_2$	1.7	130	750
33	$NHCH_2$-*c*-Pr	1.1	64	870
34	$NH(CH_2)_2OH$	0.8	220	270
35		0.7	51	160
36		0.3	22	180

强。② 乙基、二甲基或环丙甲基取代的化合物**31**～**33**细胞活性显著降低。③ 烷基上连接极性基团**34**～**36**不能改善细胞活性。烷基取代的酰胺化合物与小鼠肝微粒体温孵, 在10 min内被氧化脱烷基超过50%, 这是细胞活性低的原因。因而如何提高过膜性和降低代谢以维持细胞活性仍是待解决的问题。

化合物**36**与TYK-2 JH2复合物单晶衍射分析表明 (图4), 3′的酰基氧原子与Arg738侧链的H-N形成氢键 (3.1 Å), 代替了前述**20**结合的结构水分子。酰胺的N-H与2′-OCH_3的氧原子形成分子内氢键, 赋予*N*-吡啶甲基处于开阔的腔穴中。



36

3.6 芳杂环置换C3′酰胺片段 在药物化学中为了克服酰胺的代谢或化学的不稳定性或构象的易变性, 常常用五元芳杂环作等排置换 (或称局部骨架迁越), 并确保N或O或NH作为氢键的接受体或给体。表6列出的化合物就是合成的C3′-芳杂环化合物。噁二唑**37**和**38**以及*N*-甲基吡唑**39**和**40**对细胞IFNα的IC_{50}值分别为15、12、9、70 nmol·L^{-1}, 但对全血细胞的活性较差, 而且对小鼠肝微粒体有一定代谢作用。然而1,2,4-

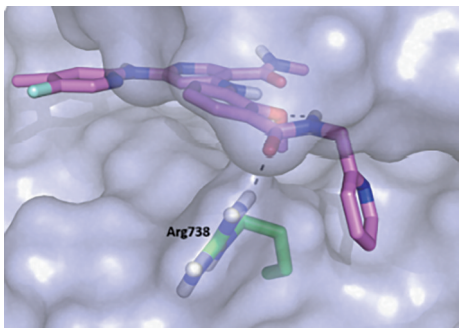
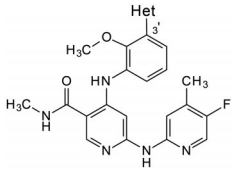
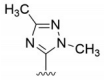


Figure 4 X-ray cocrystal structure of analogue **36** in TYK-2 JH2 with surface representation of protein

Table 6 C3′ Heterocycles as amide replacements. a: Mouse liver microsomal stability as percent remaining after 10 min incubation



Compd.	Het	IC_{50}/nmol·L^{-1}			MLM[a]
		TYK-2 JH2	IFNα	*h*WB/*m*WB	/%rem.
37		0.3	15	170/522	46
38		0.6	12	100/570	70
39		0.13	9	79/430	66
40		0.4	70	300/Not test	15
41		0.3	8	23/310	51
42		0.5	7	40/320	63
43		0.6	16	150/Not test	29
44		0.7	15	87/380	9
45		0.4	4	12/130	80

三唑化合物**41**～**45**提高了对人全血细胞活性, 尤其是1-甲基-1,2,4-三唑化合物**45**不仅对IFNα细胞活性高 (IC_{50} = 4 nmol·L^{-1}), 而且对全血活性*m*WB和*h*WB的IC_{50}值分别为130、12 nmol·L^{-1}。此外对小鼠肝微粒体的代谢稳定性 (MLM) 也很高, 温孵10 min后仍有80%原型药。实验表明选择性作用也很强, **45**对260种激酶的抑制活性很低, 低于对TYK-2 JH2活性的1 000倍, 其中包括JAK-1/-2/-3酶的JH-1结构域的活性。然而**45**对

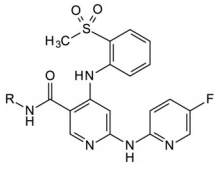
*h*ERG钾通道有一定的抑制作用, IC_{50} = 31 μmol·L^{-1}, 仍需继续优化。

4 进一步优化: 提高C3的代谢稳定性和消除对*h*ERG钾通道的抑制活性

将本项目返回到过去。化合物**20**作为重要节点, 曾经对C3的酰胺和C6的胺基吡啶进行了优化, 优化出的结构因素, 对化合物**45**的进一步修饰提供了借鉴。

4.1 化合物20的优化 **20**曾作为高活性分子, 进行了深入研究, 发现其不足之处是人、大鼠和小鼠肝微粒体对其有较强的代谢作用, 推测是母核3-甲胺酰基被氧化代谢失去甲基成为**46**, 预示该代谢产物因选择性降低而脱靶。为证明这个推断, 合成了化合物**46**, 以及**20**的*N*-氘代甲基化合物**47**。同位素效应显示, C-D的键能比C-H键能大, 原因是D的质量是H的2倍, 将C-D键完全破坏所需的能量大于对C-H键的氧化, 因而预示氘代物**47**的代谢稳定性强于**20**。表7和表8分别列出这3个化合物的活性、选择性和代谢性质。结果提示, **20**和**47**活性与选择性没有显著性差异, 说明同位素动力学效应在体外性质上没有差异。而在体内有区分, **20**和**47**的选择性显著高于无*N*-甲基取代**46**, 在氨磺酰基系列中也证实*N*-单甲基 (或氘代甲基) 是提高选择性的主要因素。

Table 7 Comparison of the activity for compounds **20**, **46** and **47**



Compd	R	IC_{50}/μmol·L^{-1}		
		TYK-2 JH2	IL-23/TNFα	(TYK-2/JAK-1/2) JH1
20	CH_3	0.000 92	0.063/0.063	>50/>50/>50
46	H	0.000 32	0.046/0.045	0.042/0.043/0.018
47	CD_3	0.000 49	0.11/0.053	>50/>20/>50

Table 8 Comparison of the selectivity and metabolism for compounds **22**, **25** and **26**. a: IL-2 is dependent upon JAK-1 and JAK-3; GM-CSF is dependent upon JAK-1 and JAK-2. b: LM %rem refers to liver microsomal stability as measured by % remaining

Compd.	IC_{50}/μmol·L^{-1}		LM %rem[b]	%kinases with
	IL-2/GM CSF[a]	*h*WB TNFα	/*h*/*r*/*m*	IC_{50} ≦ μmol·L^{-1}
20	>12.5/>12.5	0.18	90/85/87	1
46	0.96/0.26	0.033	77/3/80	20
47	>12.5/>12.5	0.16	85/91/81	1

用雄性小鼠分别灌胃**20**和**47** (均为10 mg·kg^{-1}) 或静脉注射3 mg·kg^{-1}, 测定在不同时间点的血药浓度和氧化代谢产物**46**的含量, 表9中**47**的同位素动力学效应表明所有时间点的去氘代甲基化合物**46**的生成量都低于下限检出量 (LLQ)。从表8的体外微粒体数据和表9的小鼠体内数据说明, **20**和**47**血药浓度随时间变化没有显著性差异, 但静脉注射或灌胃后氧化代谢成**46**的水平是不一样的, 给以**47**的动物血液中检测不到**46**的存在, 说明*N*-甲基的氘代改变了化合物的代谢模式。

Table 9 Exposures (nmol·L^{-1}) of parent (**20**/**47**) and metabolite (**46**) in mouse PK studies. a: LLQ (lower limit of quantification) = 9.8 nmol·L^{-1}

Time	3 mg·kg^{-1}, iv/ nmol·L^{-1}				10 mg·kg^{-1}, *po*/nmol·L^{-1}			
/h	**20**	**46**	**47**	**46**	**20**	**46**	**47**	**46**
0.05	3 500	51[1%]	2 800	<LLQ[a]	780	<LLQ	750	<LLQ
0.5	2 100	110[5%]	2 400	<LLQ	1 400	14[1%]	1 400	<LLQ
1	2 100	84[4%]	1 500	<LLQ	1 600	21[1%]	1 400	<LLQ
3	530	33[6%]	470	<LLQ	1 500	28[2%]	1 300	<LLQ
5	440	41[9%]	270	<LLQ	1 400	47[3%]	1 300	<LLQ
7	190	54[29%]	47	<LLQ	450	24[5%]	260	<LLQ

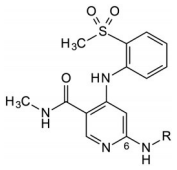
4.2 变换C6连接2-胺基吡啶为环丙酰胺 化合物**47** (或**20**) 对钾通道*h*ERG有一定的抑制作用, 荧光偏振测定的 IC_{50} = 25 μmol·L^{-1}, 膜片钳方法测定抑制*h*ERG的 IC_{50} = 2.5 μmol·L^{-1}。麻醉家兔静脉注射**47**测定QT波延迟38 ms的血中**47**的总浓度为20.2 μmol·L^{-1}, 游离态**47**占13%, 换算为 IC_{50} = 2.6 μmol·L^{-1}, 这与体外膜片钳测定的浓度相近。提示**47**有潜在的心脏毒性。此外, 抑制cKit的 IC_{50} = 0.1 μmol·L^{-1}, 会影响正常细胞分化和造血系统的功能, 这种脱靶作用也必须消除。然而由于缺乏结构改造的依据, 设定了改变C6连接的氟代吡啶的片段上。表10列出了代表性化合物的结构和活性。结果提示, 只在6位连接的2-吡啶基上做取代基的变换, 并不能消除对*h*ERG的抑制, 推测是吡啶环与*h*ERG的芳环发生π-π堆积作用, 因而单纯的取代基变换 (如化合物**48**～**52**) 不能消除这种作用。

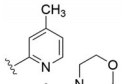
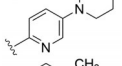
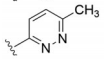
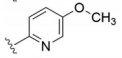
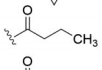
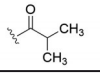
然而吡啶换成烷酰基特别是环丙酰基 (**53**) 不仅保持了一定的细胞活性, 更消除了对*h*ERG钾通道的抑制作用, 荧光偏振测定的 IC_{50} > 80 μmol·L^{-1}, 膜片钳模型 IC_{50} > 30 μmol·L^{-1}。**53**也消除了**20**抑制cKit激酶作用, IC_{50} > 2 μmol·L^{-1}。

53与TYK-2 JH2复合物晶体结构提示与**20**的结合模式相同 (图5)。酰基氧原子与C4-H形成分子内氢键, 使母核C6的胺基上的氢原子取向于蛋白的铰链, 环丙基的α-氢与羰基氧和C6-H成共面性, 相当于**20**的2-氨基吡啶C3″-H原子, 因而保持了活性。

4.3 改善过膜性: 哒嗪置换吡啶母核 化合物**53**灌胃小鼠的药动学研究表明, 血中暴露量显著低于**20**, C_{max} (0.19 μmol·L^{-1}) 和AUC (0.56 μmol·L^{-1}·h) 都很低。为了改善过膜性, 将吡啶母核换为哒嗪, 增加了氢键结合作用

Table 10 Effects of different C6 substituents on potency, permeability, and hERG activity



Compd.	R	IC_{50} /μmol·L^{-1}			
		IL23/IFNα	*h*WB	cKit	*h*ERG/flux
20		0.063/0.063	0.18	0.10	25
48		0.027/0.021	0.19	>2	16
49		0.071/0.059	0.058	>2	40
50		0.49/0.32	0.63	>2	43
51		0.071/0.057	0.25	0.53	36
52		0.075/0.087	0.52	0.83	17
53		0.43/0.39	0.31	>2	>80
54		2.0/2.7	2.5	>2	Not test
55		1.1/4.4	5.1	>2	Not test

以有助于溶解和过膜性 (Wermuth CG. Are pyridazines privileged structures? MedChemComm, 2011, 2: 935－941), 从而合成了 **20**、**51** 和 **53** 的哒嗪等排物 **56**、**57** 和 **58**。表 11 列出了这些化合物的结构和活性比较。

表 11 的数据显示, 哒嗪置换吡啶环对 TYK-2 JH2 蛋白和细胞的抑制作用基本相同, 却提高了小鼠灌胃的吸收性, 因而 **56**、**57** 和 **58** 的 C_{max} 和 AUC 都比相应的吡啶化合物高, 这与在体外透入 Caco-2 细胞的能力相一致。

4.4 C3 为芳杂环和母核为哒嗪系列的优化 再回到 3.6 节对 C3-芳杂环化合物 **45** 的优化。上一节优化 **20** 得到的构效关系指导 **45** 的结构变换, 合成的化合物结构与活性列于表 12。吡啶环上连接亲电性基团, **59** 和 **60** 没有降低抑制 *h*ERG 的作用。将吡啶换成极性强的嘧啶环 **61**, 虽然消除了对 *h*ERG 的抑制, 但也因此降低了过膜性, 所以 C6 连接的芳杂环对脱靶和药代性质是不利的。用环丙酰基置换吡啶环得到 **62**, 或将 C3 的甲胺基氘代化, 得到的 **63** 也不因降低了代谢速度而提高体内活性, 因为化合物本身的过膜 (吸收) 性低。然而将母核吡啶换成哒嗪的化合物 **9**, 过膜性显著增强, 酶和细胞活性仍非常强, 代谢稳定性高, 半衰期可达 120 min, 对 *h*ERG 钾通道没有抑制作用, 所以是个有前途的化合物。

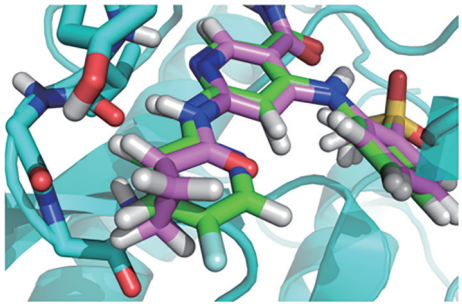
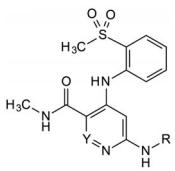


Figure 5 Cyclopropylamide of the compound **53** as an isostere for 2-aminopyridine of **20**. Superposition of TYK2 JH2 structures bound with **20** (green) and **53,** only protein from complex with **53** is shown

5 候选物的确定和氘来昔替尼的批准上市

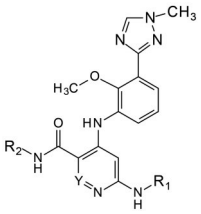
化合物 **9** 整合了研制过程优化出的药效–选择性–药代–物化性质的有利结构因素, 整合中没有出现负面的奇异性, 因而深入地评价了 **9** 的各种性质。对 TYK-2 JH2 酶和细胞的强活性和选择性 (数据从略), 对 249 个激酶未呈现抑制作用。高浓度下 (最高达 45 μmol·L^{-1}) 对多数与药物代谢相关的细胞色素 P450 没有抑制或诱导作用。列于表 13 的动物药代参数显示灵长类良好的性质。体内药效学用依赖于 IFNα、IL-12

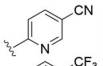
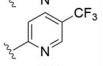
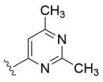
Table 11 Activity and PK exposures for several nicotinamides and corresponding pyridazine amides



Compd.	R	Y	IC_{50}/μmol·L^{-1}		Mouse *po* 10 mg·kg^{-1}		HLM	Caco-2/nm·s^{-1}
			TYK-2 JH2	*h*WB	C_{max}/μmol·L^{-1}	AUC/μmol·L^{-1}·h	$t_{1/2}$/min	
20		CH	0.000 49	0.16	1.44	7.83	69	58
56		N	0.000 58	0.20	3.89	11.6	71	143
51		CH	0.000 95	0.25	1.86	4.29	53	102
57		N	0.000 53	0.13	10.5	24.3	48	280
53		CH	0.001 6	0.31	0.19	0.56	>120	17
58		N	0.001 3	0.23	3.42	6.61	110	69

Table 12 Select analogues from C3′ *N*-methyl triazole series. a: Mouse liver microsomal stability as percent remaining after 10 min incubation. The values in parenthesis refer to the time for $t_{1/2}$ of compounds



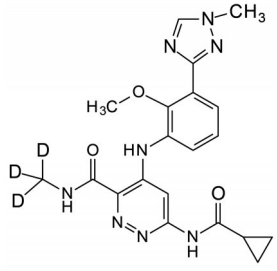
Compd.	R_1	R_2/Y	IC_{50}/μmol·L^{-1}			MLM% rem. ($t_{1/2}$/min)[a]	Caco-2/nm·s^{-1}	*h*ERG/flux IC_{50}/μmol·L^{-1}
			TYK-2 JH2	IFN*α*	*h*WB/*m*WB			
59		CH_3/CH	0.3	6	15/260	85	18	6.7
60		CH_3/CH	0.4	12	69/700	78	16	16
61		CH_3/CH	1.3	12	19/730	73	<15	>80
62		CH_3/CH	0.7	14	16/330	93	23	>80
63		CD_3/CH	0.3	8	13/100	89(>120)	<15	>80
9		CD_3/N	0.2	5	13/100	89(>120)	70	>80

和IL-23小鼠皮肤增生和棘皮层肥厚病理模型, 灌胃给化合物**9**, 表明具有剂量相关的有效性。

BMS公司研制化合物**9**定名为氘来昔替尼 (deucravacitinib), 经III期临床研究证明口服治疗中/重型斑块状银屑病有效, 于2022年9月经美国FDA批准上市, 成为首创的作用于TYK-2的口服治疗银屑病的新药 (Wrobleski ST, Moslin R, Lin S, et al. Highly selective inhibition of tyrosine kinase 2 (TYK2) for the treatment of autoimmune diseases: discovery of the allosteric inhibitor BMS-986165. J Med Chem, 2019, 62: 8973−8995)。

6 化合物9与靶标的结合模式

图6是化合物**9**与TYK-2 JH2蛋白复合物晶体结构, 表明哒嗪环连接的C6胺基和C3酰甲胺基与酶的JH2域铰链区形成三重氢键结合, 环丙基在铰链区的延伸处, 氘代甲基结合于TYK-2 JH2特有的丙氨酸腔穴中 (Ala671), 三唑与Arg736直接氢键结合, 无需像化合物**20**经结构水介导的氢键结合 (图3)。C2′的甲氧基与Lys642氢键结合, 并处于蛋白C端的表浅的疏水槽内。



9 Deucravacitinib

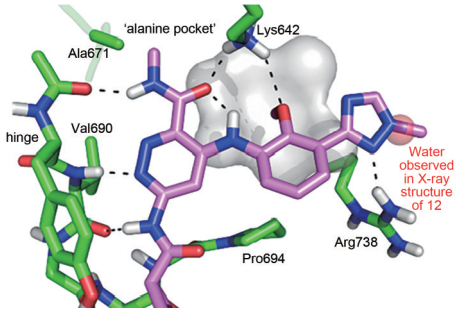


Figure 6 X-ray co-crystal structure of deucravacitinib in TYK-2 JH2

Table 13 *In vivo* PK summary for compound **9**. a: IV administration at 1 mg·kg^{-1} in 80% PEG 400/20% water unless otherwise noted; b: *po* administration at 10 mg·kg^{-1} as a solution in ethanol/TPGS/PEG 300 (5∶5∶90); c: iv administration at 2 mg·kg^{-1}

Species	iv PK parameters[a]				*po* PK parameters[b]			
	CL/mL·min^{-1}·kg^{-1}	V_{ss}/L·kg^{-1}	$t_{1/2}$/h	MRT/h	Dose/mg·kg^{-1}	C_{max}/μmol·L^{-1}	AUC/μmol·L^{-1}·h	*F*/%
Mouse	13.2	2.9	4.2	3.6	10	7.5	36.4	122
Dog[c]	6.8	2.3	4.6	5.5	10	6.9	73.6	128
Monkey[c]	4.8	2.0	5.3	7.0	10	5.9	75.7	87