

## 有丝分裂原激活的蛋白激酶作用激酶抑制剂研究进展

曾扬杰,金鹏耀,曹志豪,李文欣,任晓东  
(贵州大学医学院,贵阳 550025)

**[摘要]** 有丝分裂原激活的蛋白激酶作用激酶(MNK)对真核细胞翻译起始因子4E(eIF4E)209位丝氨酸的磷酸化作用与肿瘤相关mRNA的翻译起始过程密切相关,在肿瘤的发生、转移等过程中具有重要作用,MNK已经逐渐成为抗肿瘤的重要靶标。近年来MNK小分子抑制剂的开发已受到了研究人员的关注,因此本文在总结MNK的结构和信号转导机制的基础上,对MNK小分子抑制剂的研究进展进行综述。

**[关键词]** 有丝分裂原激活的蛋白激酶作用激酶;真核细胞翻译起始因子4E;肿瘤;抑制剂

**[中图分类号]** R979.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)21-2155-09

## Research progress of MNK inhibitors

ZENG Yang-jie, JIN Peng-yao, CAO Zhi-hao, LI Wen-xin, REN Xiao-dong  
(Medical College, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

**[Abstract]** The phosphorylation of serine 209 of eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E) by mitogen-activated protein kinase-interacting kinase (MNK) is closely related to the process of translation initiation of tumor-related mRNA, and this process plays an important role in tumor occurrence and metastasis. Since MNK has gradually become an important antitumor target, the development of MNK small-molecule inhibitors has attracted the attention of researchers in recent years. Therefore, we reviewed the research progress of MNK small-molecule inhibitors by summarizing the structure and signal transduction mechanism of MNK.

**[Key words]** mitogen-activated protein kinase-interacting kinase; eukaryotic translation initiation factor 4E; tumor; inhibitors

靶向小分子调节剂目前成为了学术界关注的热点。不同于目前癌症治疗中常用的大分子生物药存在低生物利用度、价格昂贵、不良反应多等缺点,通过小分子药物调节机体具有独特的优势<sup>[1]</sup>。而在抗肿瘤小分子药物的研发中,抑制激酶的活性已经成为治疗肿瘤的重要手段。激酶抑制剂可以调控机体控制肿瘤的发生,并且随着对激酶相关信号通路的深入研究,小分子激酶抑制剂的开发从抑制致癌基因转向了调控相关细胞信号通路,包括转录、翻译等<sup>[2]</sup>。目前已经有大量的研究证实了有丝分裂原

激活的蛋白激酶作用激酶(mitogen-activated protein kinase-interacting kinase, MNKs)在促进肿瘤发展中起重要作用,抑制MNKs活性可引起肿瘤细胞的增殖阻滞和凋亡<sup>[3]</sup>。2016年,樊印波等<sup>[4]</sup>对MNK的抑制剂做了综述,而2016年至今对MNK抑制剂也有了大量的文献报道,因此本文将对MNKs的生物学结构、信号通路及其小分子抑制剂的研究进展进行综述。

## 1 MNK的结构

MNK是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,属于Ca<sup>2+</sup>/钙调蛋白依赖性激酶(CaMK)家族,于1997年作为ERK的结合底物或结合因子首次被报道<sup>[5]</sup>。人类细胞的MNK蛋白由MKNK1和MKNK2两组基因编码,每组MKNK基因通过选择性剪接产生2种蛋白质亚型(MNK1a, MNK1b, MNK2a和MNK2b),其中MNK1a和MNK2a为2个较长链,而MNK1b和

**[基金项目]** 贵州省科技计划资助项目(黔科合基础-ZK[2021]一般556);贵州大学引进人才科研项目(贵大人基合字(2020)76号)

**[作者简介]** 曾扬杰,男,硕士研究生,研究方向:抗肿瘤小分子药物研究。E-mail: cengyangjie@163.com。

**[通讯作者]** 任晓东,男,博士,研究方向:针对重大疾病的小分子药物研究。E-mail: rxdepu@126.com。

MNK2b 为较短链(见图 1)<sup>[6]</sup>。从蛋白序列上分析,4 种亚型的相似性约为 80%,其核心催化域的序列也高度一致。此外,它们具有相似的 N 端区域,都包含 N 末端核定位信号序列(NLS),同时还有一个与 eIF4G 结合的序列,该序列使得 MNKs 可以进入细胞核内发挥作用。但是 4 种亚型在其 C 末端区域有所不同,较长的 a 型(MNK1a, MNK2a)独特地含有与 MAPK 激酶相互作用的区域,可以被 ERK 和 p38 MAPK 磷酸化激活。MNK1b 和 MNK2b 缺乏 C 端 MAPK 结合域,仅表现出中等的基础活性<sup>[7]</sup>。此外, MNK1a 的 C 端含有一个细胞核转出信号序列(NES),使得该亚型可以更广泛地分布在细胞质中,而其他 3 种亚型多数都存在于细胞核中<sup>[8]</sup>。MNKs 的 N 端由 5 条反向平行的 β 链(β1 ~ β5)和调节性 αC 螺旋组成, C 端由 6 个 α 螺旋组成,包括催化片段和含有 Mg<sup>2+</sup> 结合环、激活环以及 P + 1 环的活化片段。在所有激酶中, MNK1/2 独特的特征是一个 DFD 序列和存在 3 个特定的插入结构,分别位于 DFD 片段的 C 端(I1), αEF 和 αF 螺旋之间(I2)以及 αC 螺旋的 N 端(I3)<sup>[9]</sup>, 见图 2。

## 2 MNKs-eIF4E 轴信号转导机制

MNKs 位于 Ras/Raf/ERK 和 p38 MAPK 信号通路的下游交汇处,在受到生长因子和细胞外因子的刺激后, ERK 和 p38 MAPK 可将 MNKs 磷酸化激活。磷酸化后的 MNKs 负责多个下游底物的磷酸化,包括真核翻译起始因子 4E(eIF4E)、异质核蛋白 A1(hnRNP A1)、软脂酰化磷蛋白 Sprouty2、PTB 相关剪接因子(PSF)和细胞质磷脂酶 A2(cPLA2)。eIF4E 是 MNKs 特征最明显、研究最广泛的底物, MNKs 可在保守的 Ser209 处特异性磷酸化 eIF4E,被 MNKs 磷酸化后的 eIF4E 可以识别并结合含有 7-甲基鸟苷部分的 mRNA 5' 末端帽子结构。eIF4E 是真核翻译起始因子复合物 4F(eIF4F)的重要组成部分,是 mRNA 翻译的关键限速因子。eIF4F 复合物由支架蛋白 eIF4G、ATP 依赖的 RNA 解旋酶 eIF4A 和 eIF4E 组成, eIF4G 通过与 eIF4E 结合而接近 mRNA, eIF4A 与 eIF4G 结合以解开 mRNA 5' 末端非翻译区的二级结构,并促进核糖体结合和 5'-UTR 的扫描。eIF4E 结合蛋白 1(4E-BP1)是 eIF4E 依赖 mRNA 翻译的负调控因子,可与 eIF4G 竞争结合 eIF4E。4E-BP1 在 PI3K/AKT/mTORC1 信号通路的下游,可被 mTORC1 磷酸化。磷酸化的 4E-BP1 不再与 eIF4E 结合,从而促进 eIF4F 复合物的形成和 mRNA 的翻译,见图 3。

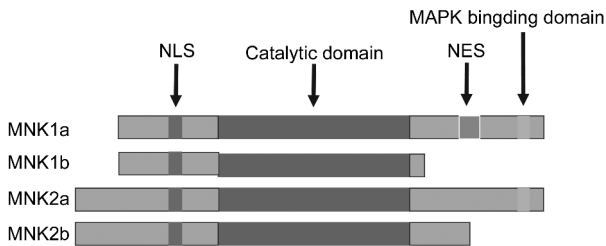


图 1 MNK1 和 MNK2 的序列结构

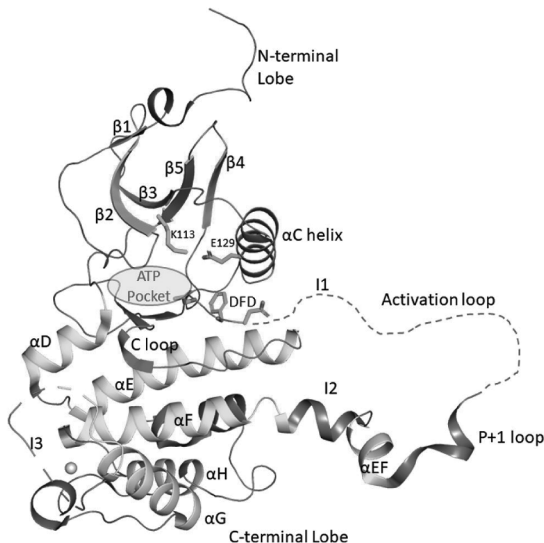


图 2 MNK2 的三维结构(PDB ID:2HW7)

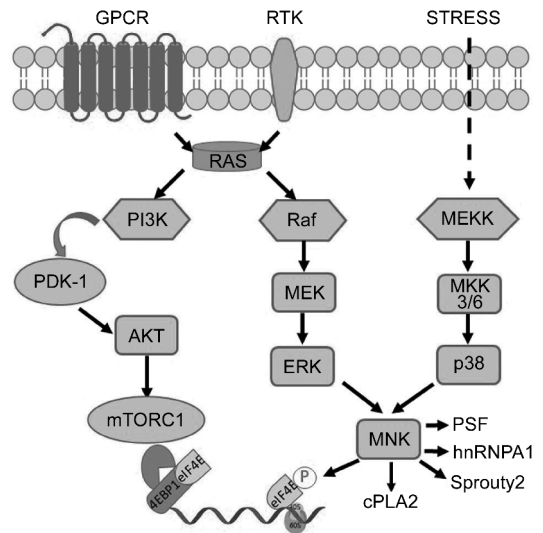


图 3 MNKs-eIF4E 轴信号转导途径

因此 MNK 可以通过介导 eIF4E 调控肿瘤相关蛋白的翻译过程,这些蛋白在肿瘤细胞促增殖、抗凋亡、促转移过程中发挥着重要作用。在前列腺癌<sup>[10]</sup>、乳

腺癌<sup>[11]</sup>、胰腺癌<sup>[12]</sup>、肺癌<sup>[13]</sup>、胶质瘤<sup>[14]</sup>、白血病<sup>[15]</sup>等多种肿瘤细胞中都能够检测到 MNK 过度激活。MNK 促增殖作用主要通过促进相关 mRNA 的翻译,进而促进肿瘤血管生成和细胞增殖,抑制凋亡。肿瘤转移也是癌症致死的主要原因之一,而有研究证实了 MNK 抑制剂不仅可以有效阻断 B16 鼠黑色素瘤细胞的肺转移,并且能够阻断上皮-间质转化(EMT)。鉴于 MNK 在多种肿瘤发展中的作用,近年来 MNK 抑制剂引起了研究人员的极大兴趣。

### 3 MNK 抑制剂

迄今为止,关于 MNK 抑制剂研究的文献也有了较多的报道。本文将 MNK 抑制剂分为进入临床研究的抑制剂和临床前研究的抑制剂,并将临床前研究的 MNK 抑制剂分为共价抑制剂和非共价抑制剂。共价抑制剂和非共价抑制剂是靶向生物大分子的 2 种抑制剂类型。目前大多数 MNK 抑制剂属于

非共价抑制剂,这些化合物可以与 MNK 可逆结合,它们与 MNK 之间的亲和力往往决定药物的治疗效果,因此大多数 MNK 抑制剂的研发目标是发现能够与 MNK 以高亲和力结合的化合物。而 MNK 共价抑制剂在与 MNK 结合之后,化合物上的基团能够与 MNK 产生化学反应生成共价键。这让共价抑制剂与 MNK 形成一个稳定的复合体,从而不可逆地抑制 MNK 的活性。虽然 MNK 作为抗肿瘤药物的靶标研究得比较晚,但目前已有 3 个候选化合物进入临床研究(BAY1143269, eFT508, AUM001)。因此本文综述了目前 MNK 抑制剂的研究进展,以促进 MNK 的功能及其在人类疾病中的作用研究,为进一步开发可用于抗肿瘤的 MNK 抑制剂打下基础。

#### 3.1 进入临床研究的 MNK 抑制剂

MNK 抑制剂目前尚未有成功上市的药物,进入临床研究阶段的化合物见表 1。

表 1 进入临床研究的 MNK 抑制剂

药物	临床阶段	适应症	状态	研究机构	试验编号
BAY1143269	I 期临床研究	晚期实体瘤	已终止	Bayer	NCT02439346
eFT508	I/II 期临床研究	晚期实体瘤	已终止	Effector Therapeutics	NCT02605083
	I/II 期临床研究	淋巴瘤	已终止	Effector Therapeutics	NCT02937675
	II 期临床研究	结直肠癌	完成	Effector Therapeutics	NCT03258398
	II 期临床研究	三阴性乳腺癌、肝细胞癌	已终止	Effector Therapeutics	NCT03318562
	II 期临床研究	实体瘤	状态不明	Effector Therapeutics	NCT03616834
	II 期临床研究	去势抵抗性前列腺癌	完成	Effector Therapeutics	NCT03690141
	I 期临床研究	乳腺癌	完成	Translational Research in Oncology	NCT04261218
	II 期临床研究	非小细胞肺癌	招募中	Effector Therapeutics	NCT04622007
AUM001	II 期临床研究	局部晚期或转移性结直肠癌	尚未招募	AUM Biosciences Pte. Ltd.	NCT05462236

数据来源于美国临床试验数据库(<https://clinicaltrials.gov>)

#### 3.1.1 BAY1143269

BAY1143269(化合物 1)<sup>[16]</sup>对 MNK1 的  $IC_{50} = 40 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , MNK2 的  $IC_{50} = 904 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 是 Bayer 公司研发的首个进入临床的 MNKs 抑制剂。它强烈抑制非小细胞肺癌(NSCLC)细胞系中的 eIF4E 磷酸化。BAY1143269 治疗在 NSCLC 和 AML 细胞系中均触发 G0/G1 阻滞,并且下调细胞周期蛋白 B1、细胞周期蛋白 A2、细胞周期蛋白 D3 和细胞周期蛋白 H,还上调了细胞周期抑制剂 p21 和 p27。此外, BAY1143269( $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )联合多西他赛可以抑制患者来源的 NSCLC 异种移植模型中的肿瘤生长。

#### 3.1.2 eFT508

eFT508(化合物 2)是一种具有吡啶酮缩醛胺

结构的新型抑制剂,其显示出对 MNK1 和 MNK2 的有效活性, $IC_{50}$  值分别为 2.4 和  $1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[17]</sup>。eFT508 在 TMD8, HBL-1 和 MB231 异种移植模型中具有良好的 ADME 参数,并且在  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  可以达到体内抗肿瘤活性,在乳腺癌细胞 MDA-MD-231 细胞的异种移植模型中也具有相似的抑制效果。并且 eFT508 能够降低 PD-L1 蛋白的水平,其在临床试验中已与 PD-1/PD-L1 抑制剂联合用于实体瘤和淋巴瘤的治疗。I 期临床试验结果显示, eFT508 具有良好的生物利用度,体内吸收速度快,  $t_{\max}$  和  $t_{1/2}$  分别为 3 和 9.7 h,且药物相关不良反应较轻。给药 15 d 后,病人外周血单核细胞中 eIF4E 的磷酸化水平降低 85%。

### 3.1.3 AUM001

AUM001(化合物**3**,也称为ETC-206)能够抑制 MNK1 和 MNK2 的活性,  $IC_{50}$  值分别为 64 和 86  $nmol \cdot L^{-1}$ 。AUM001 在  $1 \mu mol \cdot L^{-1}$  时对 104 种激酶的激酶选择性谱显示,该化合物具有良好的选择性,只有 MNK1, MNK2 和 MEK 被抑制  $>65\%$ 。当与达沙替尼联合使用时,它抑制 BC-CML 细胞中的集落

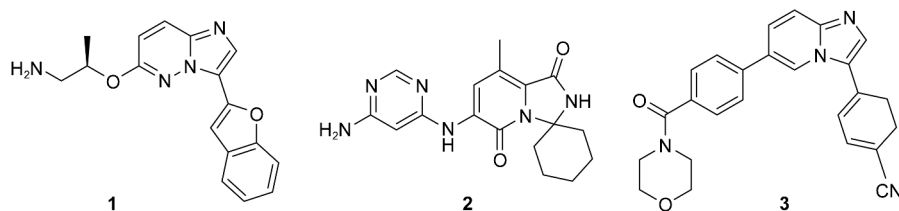


图4 化合物1~3的分子结构式

## 3.2 临床前研究的 MNK 抑制剂

### 3.2.1 共价抑制剂

寄端霉素(hypothemycin, 化合物**4**)和 L-783277(化合物**5**)被鉴定为蛋白激酶的共价抑制剂,包括 MEK, ERK, MNK 和 JNK<sup>[20]</sup>。两者都是间苯二甲酸内酯(RALs),由于天然 RALs 选择性低且毒性较大而受到限制。Xu 等<sup>[21]</sup>通过癌细胞系分析已确定烯酰胺 RAL 具有与天然产物 L-783277 相似的抑制癌细胞生长的活性,并且通过调整烯酰胺 Michael 受

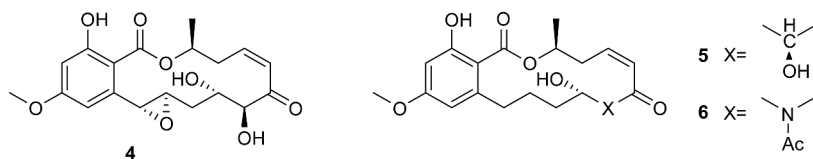


图5 化合物4~6的结构式

### 3.2.2 非共价抑制剂

3.2.2.1 噻吩并[2,3-d]嘧啶及其类似物 Yu 等<sup>[22]</sup>报道了一系列 4-(二氢吡啶-3-基)氨基-5-甲基噻吩[2,3-d]嘧啶衍生物作为有效的 MNK 抑制剂。大多数化合物对 MNK1 和 MNK2 具有良好的活性,以化合物**7**为例,  $K_i$  值在  $0.3 \sim 5 \mu mol \cdot L^{-1}$  范围内。Teo 等<sup>[23]</sup>得到了一种有效的抑制剂(化合物**8**),其抑制 MNK2 的  $K_i$  值为  $0.32 mmol \cdot L^{-1}$ ,并且抑制 MV4-11 细胞的增殖<sup>[24]</sup>。Jin 等<sup>[25]</sup>也报告了一系列具有相同骨架的化合物,其中化合物**9**对 MNK2 比 MNK1 更有效。设计并合成的 4-苯胺取代的噻吩并[2,3-d]嘧啶衍生物也可以作为 MNK1 抑制剂<sup>[26]</sup>,

形成,并抑制过表达 eIF4E 的 K562 小鼠异种移植瘤模型的生长且表现出良好的生物利用度、安全性和耐受性<sup>[18]</sup>。在细菌反向突变实验中,它没有在细菌或大鼠中产生突变或导致染色体畸变<sup>[19]</sup>。23 例年龄在 23 ~ 54 岁之间的男性患者接受了单次给药治疗,没有发生相关的不良反应,并且 eIF4E 的磷酸化水平在给药后 24 和 30 h 分别降低了 28% 和 44%。

体的反应性,合理设计一系列 RALs 类似物作为共价 MNK1/2 激酶抑制剂。其中化合物**6**对 MNK1 和 MNK2 的  $IC_{50}$  值分别为 8.9 和 1.3  $\mu mol \cdot L^{-1}$ ,其活性弱于化合物**5**(对 MNK1 和 MNK2 抑制的  $IC_{50}$  值分别为 0.325 和 0.06  $\mu mol \cdot L^{-1}$ )。总的来说,顺式双键和反式双键 N-乙酰基烯酰胺都能生成共价加合物,而顺式抑制剂对 MNK 更有效且 C2 位置的羧基脱保护有望提高其活性。

所得化合物对 MNK1 仅表现出适度的抑制活性。虽然现在已经公开了更多具有噻吩[2,3-d]嘧啶骨架的 MNK 抑制剂,但其中很多化合物能够抑制多种激酶,缺乏选择性。

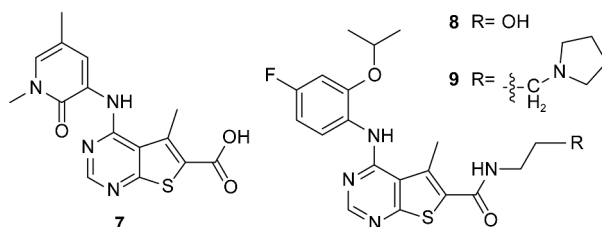


图6 化合物7~9的结构式

### 3.2.2.2 吡唑并[3,4-d]嘧啶及其类似物

CGP57380(化合物 **10**)是第一个合成的作为 MNK1 抑制剂的小分子<sup>[27]</sup>。CGP57380 抑制 MNK1 和 MNK2 的  $IC_{50}$  值分别为 0.87 和  $1.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 可以阻断 eIF4E 的 Ser209 位点的磷酸化, 通过诱导细胞周期停滞在 G1 期从而抑制细胞增殖, 抑制白血病、多形性胶质母细胞瘤、乳腺癌和结直肠癌细胞系中的集落形成<sup>[28]</sup>。虽然 CGP57380 对其他激酶的选择性较差, 但其在多种细胞系中均能抑制 eIF4E 的磷酸化, 因此是目前广泛用于探索细胞中 MNKs 生物学的化合物。很多药物与 GP57380 联合使用具有不错的效果, 如 CGP57380 和 mTORC1 抑制剂 RAD001 的联合作用可通过激活线粒体促凋亡途径诱导 NSCLC 细胞凋亡<sup>[29]</sup>。伊马替尼和 CGP57380 通过阻止细胞周期、诱导凋亡和使伊马替尼可有效对抗耐药的 CML 细胞, 协同抑制 Ba/F3-Bcr-Abl 和 K562 细胞的生长<sup>[30]</sup>。

Wang 等<sup>[31]</sup>通过对 GP57380 结构的分析发现了化合物 **11** 能够有效抑制 MNK 的活性以及 eIF4E 水平, 抑制 MNK1 和 MNK2 的  $IC_{50}$  值分别为 0.15 和  $0.04 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在其他癌细胞测试中, 它对 MV4-11 细胞的毒性最强,  $GI_{50}$  值为  $0.64 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。化合物 **11** 在 G0/G1 转变时阻断细胞周期, 降低 MCL-1 蛋白的表达, 并诱导 MV4-11 细胞凋亡<sup>[31]</sup>。

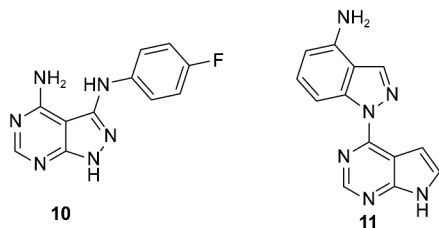


图7 化合物 **10** ~ **11** 的结构式

### 3.2.2.3 天然产物 黄酮类化合物木犀草素(化合物 **12**)

是 MNK2 的有效抑制剂,  $IC_{50}$  值为  $579 \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[32]</sup>。Aigialomycin D(化合物 **13**)是从红树真菌中分离得到的一种具有雷锁酸内酯结构的天然产物, 是一种 14 元大环内酯, 它对 MNK2 和 CDK1 具有良好的活性,  $IC_{50}$  值分别为 0.45 和  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[33]</sup>。

尾孢酰胺(cercosporamide, 化合物 **14**)是从木薯尾孢菌中分离得到一种天然植物毒素, 是一种抗真菌剂。通过高通量的筛选, 发现尾孢酰胺是一种有效的 MNK1/2 抑制剂, 对 MNK1 和 MNK2 的  $IC_{50}$  值

分别为 116 和  $11 \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[34]</sup>。在 B 细胞淋巴瘤、皮肤 T 细胞淋巴瘤、非小细胞肺癌、B16 小鼠黑色素瘤和人结直肠癌细胞系 HCT-116 等多个细胞系中, 它在治疗 1 h 后以剂量依赖性方式抑制 eIF4E 的 Ser209 位点的磷酸化。对 HCT-116 肿瘤裸鼠单次口服  $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  后, 30 min 内肿瘤和肝组织中磷酸化的 eIF4E (p-eIF4E) 水平降低<sup>[35]</sup>。每日  $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  尾孢酰胺, 连续 30 d 显著抑制 HCT-116 小鼠异种移植瘤的生长且不影响体重。在 B16 黑色素瘤小鼠移植瘤模型中, 尾孢酰胺口服  $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  每日 1 次或  $10 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  每日 2 次, 持续 12 d, 可防止肺转移的扩散。尾孢酰胺还可诱导肝癌细胞(HCC)半胱氨酸蛋白酶依赖性凋亡<sup>[36]</sup>, 抑制肝癌细胞的迁移以及损害血管的生成, 联合顺铂可提高其在体内外抑制 HCC 细胞增殖和存活的能力。

十字孢碱(staurosporine, 化合物 **15**)是可以抑制蛋白激酶 C 的生物碱。十字孢碱通过内酰胺键与激酶铰链区形成氢键作用, 其大体积的吡啶并咪唑结构可以很好地占据大多数激酶的 ATP 口袋, 具有很高的结合效能, 能够与许多蛋白激酶(如 MNK1, MNK2, PKN1, PIM2, PRKCH 等)结合<sup>[37]</sup>。然而, 十字孢碱的广谱激酶抑制能力严重限制了其进一步发展。十字孢碱的近似衍生物 CGP052088(化合物 **16**)是一种强效的 MNK1 抑制剂, 能够阻断导致 eIF4E 磷酸化的信号级联。CGP052088 对 MNK1 的  $IC_{50}$  值为  $70 \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 并且在浓度为  $4.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 24 h 后对肿瘤细胞表现出细胞毒性。但是其类似物 CGP052428(化合物 **17**)表现出相似的细胞毒性, 但对 MNK1 无抑制活性<sup>[38]</sup>。

Jin 等<sup>[39]</sup>通过高通量筛选海洋天然产物并通过结构优化获得了化合物 **18**。化合物 **18** 对 MNK 的  $IC_{50}$  值为  $6.38 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 其通过破坏 MNK-eIF4E 轴显著抑制 H446 细胞的迁移。该化合物中的羟基对 MNKs 的活性起着重要作用。

Li 等<sup>[40]</sup>通过药效团建模、分子对接和分子动力学研究, 得到了 3 种新的天然产物作为针对急性髓系白血病的双 MNK/PIM 抑制剂, ZINC000085569211(化合物 **19**)、ZINC100085569178(化合物 **20**)和 ZINC200085569190(化合物 **21**) 在 MNK2 的结合口袋中与 MET162, GLU92 和 GLU160 残基形成氢键, 在 PIM2 的结合口袋中与 ASP124, ASP127, GLU167 和 GLU117 残基形成氢键。化合物 **19** ~ **21** 也显示出良好的 MM-GBSA 结合自由能和可接受的 ADME

性质。化合物 **19** 和 **21** 在 100 ns MD 模拟期间显示

出与 MNK2 的稳定相互作用。

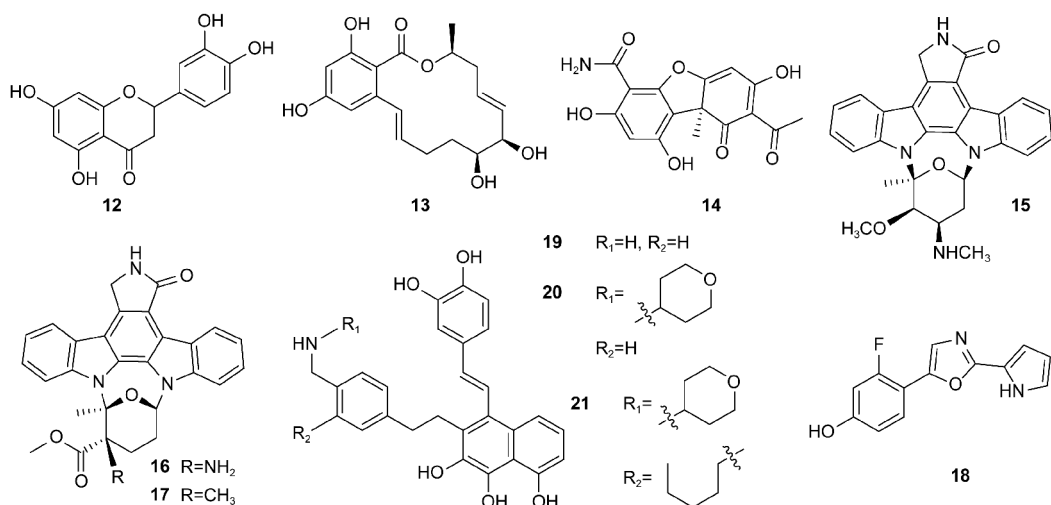


图 8 化合物 **12** ~ **21** 的结构式

3.2.2.4 多靶点抑制剂 多靶点抑制剂索拉非尼 (sorafenib, 化合物 **22**) 对 MNK 表现出一定的抑制活性且可下调磷酸化 eIF4E (p-eIF4E) 的水平。其对 MNK1/2 的  $IC_{50}$  值分别为 230 和  $130 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 索拉非尼具有突出的临床治疗效果可部分归功于对 MNK 的有效抑制<sup>[41]</sup>。

LY1802653 (化合物 **23**) 是一种多激酶抑制剂, 抑制 MET, MST1R, FLT3, AXL, MERTK, TEK, ROS1, DDR1/2 和 MNK1/2, 对 MNK1/2 的  $IC_{50}$  值为  $7 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[42]</sup>。它抑制 MV4-11, MM6 和 AML-PT 细胞中 eIF4E 的磷酸化, 通过降低细胞周期蛋白 A2 和细胞周期蛋白 B1 的表达阻断 G0/G1 期细胞周期, 阻止集落形成, 诱导 MV4-11 细胞凋亡, 并在体内显示抗白血病特性<sup>[43]</sup>。

AST-487 是一种多激酶抑制剂。它通过损伤  $\beta$ -catenin 信号和干扰 MNK-eIF4E 轴, 抑制 eIF4E 的磷酸化。Cherian 等<sup>[44]</sup> 合成了一系列基于 AST-487 作为 MNKs 和 BCR-ABL1 抑制剂的化合物。其中化合物 **24** 对 MNK1 的  $IC_{50}$  值分别为 0.2 和  $0.01 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 对 BCR-ABL1 的  $IC_{50}$  值为  $0.01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。该化合物也可以抑制 FLT3, RET 和 VEGFR2。

QL-X-138 (化合物 **25**) 是一种选择性强的 BTK/MNK 双激酶抑制剂<sup>[45]</sup>, 它与 BTK 呈共价结合, 与 MNK2 呈非共价结合。QL-X-138 对淋巴瘤和白血病细胞株具有良好的抗增殖活性, 阻止了细胞周期的进展并且强烈诱导细胞凋亡。然而, 这种化合物的不良药动学特性限制了其在动物研究中的应用, 需要进一步的结构改造来改善其类药物特性。

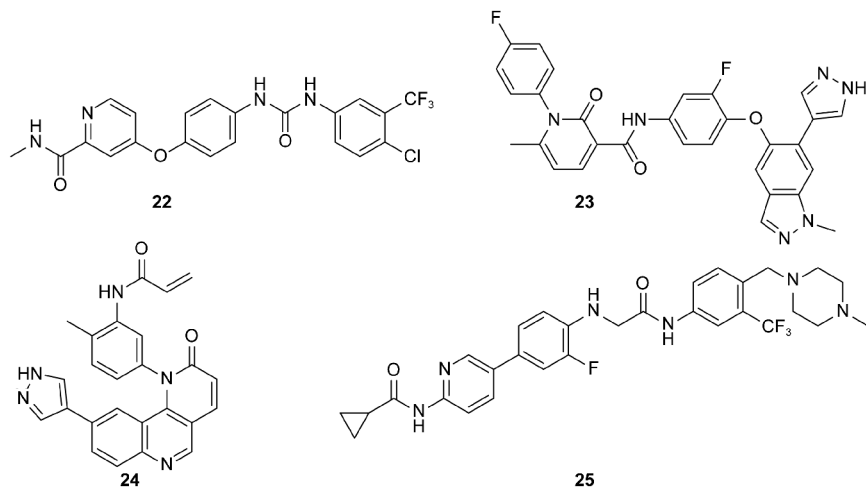


图 9 化合物 **22** ~ **25** 的结构式

3.2.2.5 其他类抑制剂 Oyarzabal 等<sup>[46]</sup>发现 ETP-45835(化合物 **26**)对 MNK1 的  $IC_{50}$  值为  $646 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其降低了 eIF4E 上 SER209 残基的磷酸化。DS12881479(化合物 **27**)对 MNK1 的  $IC_{50}$  值为  $21 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[47]</sup>,该抑制剂与非活性 MNK1 相互作用,阻止其转换为活性构象,抑制其活化。

SEL-201(化合物 **28**)对 MNKs 的  $IC_{50}$  值为  $10.8 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (MNK1) 和  $5.4 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (MNK2)<sup>[48]</sup>。SEL-201 在浓度为  $1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时表现出良好的选择性。用 SEL-201 治疗 KIT 突变型黑色素瘤细胞可阻断 eIF4E 的磷酸化,并降低其致癌性和转移能力。SEL-201 还抑制 HBL 和 MM111 细胞的集落形成和细胞迁移,并抑制细胞周期蛋白 E1 和 SNAIL 的表达。它还阻止了导管原位癌(DCIS)向侵袭性疾病的进展<sup>[49]</sup>,单独或与 mTOR 抑制剂联合使用时抑制了 AML 细胞的增殖<sup>[50]</sup>。

Kwiatkowski 等<sup>[51]</sup>发现化合物 **29** 对 MNKs 具有良好的活性(对 MNK1 和 MNK2 的  $IC_{50}$  值分别为

$0.8$  和  $0.35 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),并且获得了 3 种更好的化合物(**30** ~ **32**)。化合物 **30** 对 MNK1 和 MNK2 的  $IC_{50}$  值分别为  $0.20$  和  $0.089 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,化合物 **31** 对 MNK1 和 MNK2 的  $IC_{50}$  值分别为  $0.033$  和  $0.014 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,化合物 **32** 对 MNK1 和 MNK2 的  $IC_{50}$  值分别为  $0.19$  和  $0.025 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在对 104 种激酶的筛选中,化合物 **31** 比化合物 **29** 表现出更好的选择性,化合物 **29** 具有最佳的 ADME 和药理学参数,而化合物 **30** 对这 2 种 MNK 亚型的作用更强。

Han 等<sup>[52]</sup>通过高通量筛选确定了氨基吡嗪-苯并咪唑骨架类的 MNK 抑制剂。对于 MNK1 和 MNK2,先导化合物的配体效率值均为  $0.38$ ,对 MNK1 和 MNK2 的  $IC_{50}$  值分别为  $0.7$  和  $0.9 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。通过结构优化,他们获得了更好的化合物 **43**,该化合物对 MNK1/2 有效, $IC_{50}$  值均为  $3 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。化合物 **43** 在体外抑制 eIF4E 的磷酸化, $EC_{50}$  值为  $0.6 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,具有良好的 ADME 参数和低毒性。

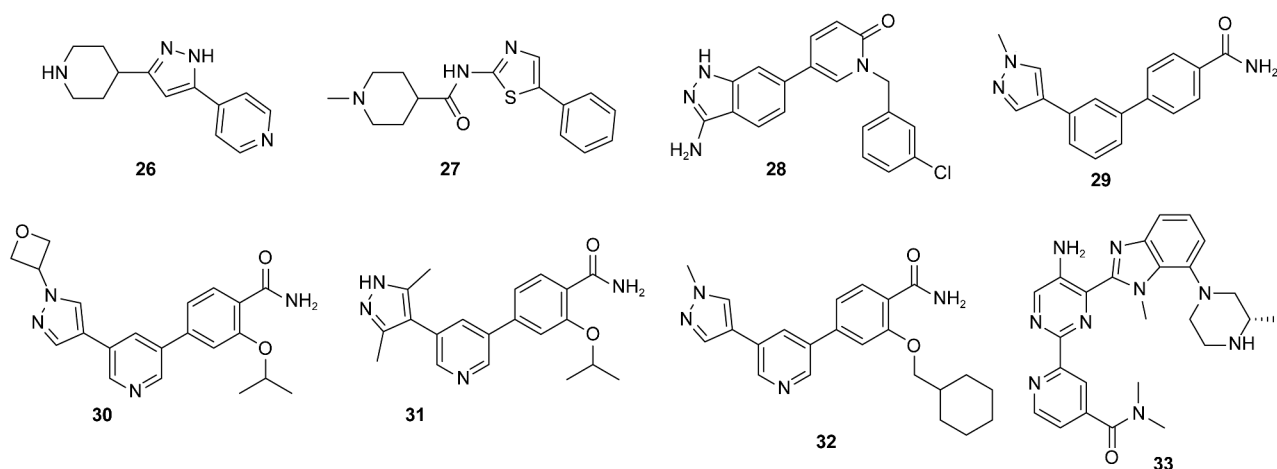


图 10 化合物 **26** ~ **33** 的结构式

### 3 结论与展望

由于翻译过程受细胞信号传导通路 Ras/Raf/MEK/ERK/MNK 和 PI3K/Akt/mTOR/4E-BP1 的严格调控,2 条通路交汇于 eIF4E 这一关键节点,而 MNK 作为唯一可以直接调节 eIF4E 活性的重要枢纽,参与多种生理过程,如介导多种促炎细胞因子、趋化因子和免疫检查点蛋白的表达。MNK 的激活或者抑制与细胞的异常增殖、血管生成、免疫反应改变等密切相关。在乳腺癌、肺癌等多种肿瘤细胞中都能检测到 MNK 的异常表达,而 MNK 抑制剂如

eFT508 等都已进入临床试验研究,用于多种恶性肿瘤的治疗,并且取得了良好效果。

综上所述,MNK1/2 作为一种有前途的药物靶点,受到了越来越多的关注。尽管目前尚无靶向 MNKs 的药物上市,但作为调节 mRNA 翻译和介导多种细胞因子表达的关键激酶,其抑制剂在减少肿瘤的发生、转移和其他各类疾病都发挥着重要的作用,还十分有望与包括 PD-1/PD-L1 抑制剂在内的治疗药物联用以达到更好的治疗效果。总之,进一步研究 MNKs 抑制剂具有十分广阔的发展前景。

## [ 参 考 文 献 ]

- [1] BUQUÉ A, BLOY N, ARANDA F, *et al.* Trial Watch-Small molecules targeting the immunological tumor microenvironment for cancer therapy[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(6): e1149674.
- [2] YUAN XR, WU HS, BU H, *et al.* Targeting the immunity protein kinases for immuno-oncology[J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 163: 413–427.
- [3] JOSHI S, PLATANIAS LC. Mnk kinase pathway: cellular functions and biological outcomes[J]. *World J Biol Chem*, 2014, 5(3): 321–333.
- [4] 樊印波, 曹宇, 刘丹, 等. MNK 抑制剂抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2016, 26(3): 197–205.
- [5] WASKIEWICZ AJ, FLYNN A, PROUD CG, *et al.* Mitogen-activated protein kinases activate the serine/threonine kinases Mnk1 and Mnk2[J]. *EMBO J*, 1997, 16(8): 1909–1920.
- [6] PARRA JL, BUXADÉ M, PROUD CG. Features of the catalytic domains and C termini of the MAPK signal-integrating kinases Mnk1 and Mnk2 determine their differing activities and regulatory properties[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(45): 37623–37633.
- [7] O'LOGHLEN A, GONZÁLEZ VM, PIÑEIRO D, *et al.* Identification and molecular characterization of Mnk1b, a splice variant of human MAP kinase-interacting kinase Mnk1[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 299(2): 343–355.
- [8] BUXADÉ M, PARRA-PALAU JL, PROUD CG. The mnks: map kinase-interacting kinases (MAP kinase signal-integrating kinases)[J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 5359–5373.
- [9] JAUCH R, JÄKEL S, NETTER C, *et al.* Crystal structures of the Mnk2 kinase domain reveal an inhibitory conformation and a zinc binding site[J]. *Structure*, 2005, 13(10): 1559–1568.
- [10] D'ABRONZO LS, GHOSH PM. eIF4E phosphorylation in prostate cancer[J]. *Neoplasia*, 2018, 20(6): 563–573.
- [11] PINTO-DÍEZ C, GARCÍA-RECIO EM, PÉREZ-MORGADO MI, *et al.* Increased expression of MNK1b, the spliced isoform of MNK1, predicts poor prognosis and is associated with triple-negative breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(17): 13501–13516.
- [12] ADESSO L, CALABRETTA S, BARBAGALLO F, *et al.* Gemcitabine triggers a pro-survival response in pancreatic cancer cells through activation of the MNK2/eIF4E pathway[J]. *Oncogene*, 2013, 32(23): 2848–2857.
- [13] YOSHIZAWA A, FUKUOKA J, SHIMIZU S, *et al.* Overexpression of phospho-eIF4E is associated with survival through AKT pathway in non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(1): 240–248.
- [14] GRZMIL M, HUBER RM, HESS D, *et al.* MNK1 pathway activity maintains protein synthesis in rapalog-treated gliomas[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(2): 742–754.
- [15] LIM S, SAW TY, ZHANG M, *et al.* Targeting of the MNK-eIF4E axis in blast crisis chronic myeloid leukemia inhibits leukemia stem cell function[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(25): E2298–E2307.
- [16] SANTAG S, SIEGEL F, WENGNER AM, *et al.* BAY 1143269, a novel MNK1 inhibitor, targets oncogenic protein expression and shows potent anti-tumor activity[J]. *Cancer Lett*, 2017, 390: 21–29.
- [17] REICH SH, SPRENGELER PA, CHIANG GG, *et al.* Structure-based design of pyridone-aminal eFT508 targeting dysregulated translation by selective mitogen-activated protein kinase interacting kinases 1 and 2 (MNK1/2) inhibition[J]. *J Med Chem*, 2018, 61(8): 3516–3540.
- [18] YANG HY, CHENNAMANENI LR, HO MWT, *et al.* Optimization of selective mitogen-activated protein kinase interacting kinases 1 and 2 inhibitors for the treatment of blast crisis leukemia[J]. *J Med Chem*, 2018, 61(10): 4348–4369.
- [19] TENEGGI V, NOVOTNY-DIERMAYR V, LEE LH, *et al.* First-in-human, healthy volunteers integrated protocol of ETC-206, an oral mnk 1/2 kinase inhibitor oncology drug[J]. *Clin Transl Sci*, 2020, 13(1): 57–66.
- [20] SCHIRMER A, KENNEDY J, MURLI S, *et al.* Targeted covalent inactivation of protein kinases by resorcylic acid lactone polyketides[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(11): 4234–4239.
- [21] XU J, CHEN AQ, JOY J, *et al.* Rational design of resorcylic acid lactone analogues as covalent MNK1/2 kinase inhibitors by tuning the reactivity of an enamide Michael acceptor[J]. *Chem Med Chem*, 2013, 8(9): 1483–1494.
- [22] YU MF, LI P, BASNET SK, *et al.* Discovery of 4-(dihydropyridinon-3-yl) amino-5-methylthieno[2,3-d] pyrimidine derivatives as potent Mnk inhibitors: synthesis, structure-activity relationship analysis and biological evaluation[J]. *Eur J Med Chem*, 2015, 95: 116–126.
- [23] TEO T, YANG YC, YU MF, *et al.* An integrated approach for discovery of highly potent and selective Mnk inhibitors: screening, synthesis and SAR analysis[J]. *Eur J Med Chem*, 2015, 103: 539–550.
- [24] TEO T, LAM F, YU MF, *et al.* Pharmacologic inhibition of MNKs in acute myeloid leukemia[J]. *Mol Pharmacol*, 2015, 88(2): 380–389.
- [25] JIN X, MERRETT J, TONG S, *et al.* Design, synthesis and activity of Mnk1 and Mnk2 selective inhibitors containing thieno[2,3-d] pyrimidine scaffold[J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 162: 735–751.
- [26] ZHANG M, JIANG L, TAO J, *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of 4-aniline-thieno[2,3-d] pyrimidine derivatives as MNK1 inhibitors against renal cell carcinoma and nasopharyngeal carcinoma[J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27(11): 2268–2279.
- [27] KNAUF U, TSCHOOP C, GRAM H. Negative regulation of protein translation by mitogen-activated protein kinase-interacting kinases 1 and 2[J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(16): 5500–5511.
- [28] WHEATER MJ, JOHNSON PW, BLAYDES JP. The role of MNK proteins and eIF4E phosphorylation in breast cancer cell proliferation and survival[J]. *Cancer Biol Ther*, 2010, 10(7): 728–735.
- [29] WEN QY, WANG WY, LUO JD, *et al.* CGP57380 enhances efficacy of RAD001 in non-small cell lung cancer through abrogating mTOR inhibition-induced phosphorylation of eIF4E and activating mitochondrial apoptotic pathway[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19): 27787–27801.
- [30] ZHANG M, FU WX, PRABHU S, *et al.* Inhibition of polysome assembly enhances imatinib activity against chronic myelogenous leukemia and overcomes imatinib resistance[J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(20): 6496–6509.
- [31] DIAB S, LI P, BASNET SK, *et al.* Unveiling new chemical scaffolds as Mnk inhibitors[J]. *Future Med Chem*, 2016, 8(3): 271–285.
- [32] CHEN LC, HUANG HL, HUANGFU WC, *et al.* Biological evaluation of selected flavonoids as inhibitors of MNKs targeting acute myeloid leukemia[J]. *J Nat Prod*, 2020, 83(10): 2967–2975.
- [33] XU J, CHEN AQ, GO ML, *et al.* Exploring aigialomycin d and its analogues as protein kinase inhibitors for cancer targets[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2011, 2(9): 662–666.
- [34] KONICEK BW, STEPHENS JR, MCNULTY AM, *et al.* Therapeutic inhibition of MAP kinase interacting kinase blocks eukaryotic initiation factor 4E phosphorylation and suppresses outgrowth of experimental lung metastases[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(5): 1849–1857.
- [35] XU WJ, KANNAN S, VERMA CS, *et al.* Update on the development of MNK inhibitors as therapeutic agents[J]. *J Med Chem*, 2022, 65(2): 983–1007.
- [36] LIU YD, SUN LL, SU XW, *et al.* Inhibition of eukaryotic initia-

- tion factor 4E phosphorylation by cercosporamide selectively suppresses angiogenesis, growth and survival of human hepatocellular carcinoma[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2016, 84: 237 – 243.
- [37] KARAMAN MW, HERRGARD S, TREIBER DK, *et al*. A quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity[J]. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(1): 127 – 132.
- [38] TSCHOPP C, KNAUF U, BRAUCHLE M, *et al*. Phosphorylation of eIF-4E on Ser 209 in response to mitogenic and inflammatory stimuli is faithfully detected by specific antibodies[J]. *Mol Cell Biol Res Commun*, 2000, 3(4): 205 – 211.
- [39] JIN X, LI MW, QIU TT, *et al*. Design, synthesis and evaluation of novel phorbazole C derivatives as MNK inhibitors through virtual high-throughput screening[J]. *Mar Drugs*, 2022, 20(7): 429.
- [40] MOHAMED LM, ELTIGANI MM, ABDALLAH MH, *et al*. Discovery of novel natural products as dual MNK/PIM inhibitors for acute myeloid leukemia treatment: Pharmacophore modeling, molecular docking, and molecular dynamics studies[J]. *Front Chem*, 2022, 10: 975191.
- [41] LIU GY, WANG R, WANG YT, *et al*. Ethacrynic acid oxadiazole analogs induce apoptosis in malignant hematologic cells through downregulation of Mcl-1 and c-FLIP, which was attenuated by GSTP1-1[J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(9): 1837 – 1847.
- [42] PEEK VL, AJAMIE R, *et al*. LY2801653 is an orally bioavailable multi-kinase inhibitor with potent activity against MET, MST1R, and other oncoproteins, and displays anti-tumor activities in mouse xenograft models[J]. *Invest New Drugs*, 2013, 31(4): 833 – 844.
- [43] KOSCIUCZUK EM, SALEIRO D, KROCZYNSKA B, *et al*. Merestinib blocks Mnk kinase activity in acute myeloid leukemia progenitors and exhibits antileukemic effects *in vitro* and *in vivo* [J]. *Blood*, 2016, 128(3): 410 – 414.
- [44] CHERIAN J, NACRO K, POH ZY, *et al*. Structure-activity relationship studies of mitogen activated protein kinase interacting kinase (MNK) 1 and 2 and BCR-ABL1 inhibitors targeting chronic myeloid leukemic cells[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(7): 3063 – 3078.
- [45] WU H, HU C, WANG A, *et al*. Discovery of a BTK/MNK dual inhibitor for lymphoma and leukemia[J]. *Leukemia*, 2016, 30(1): 173 – 181.
- [46] OYARZABAL J, ZARICH N, ALBARRAN MI, *et al*. Discovery of mitogen-activated protein kinase-interacting kinase 1 inhibitors by a comprehensive fragment-oriented virtual screening approach[J]. *J Med Chem*, 2010, 53(18): 6618 – 6628.
- [47] MATSUI Y, YASUMATSU I, YOSHIDA KI, *et al*. A novel inhibitor stabilizes the inactive conformation of MAPK-interacting kinase 1[J]. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*, 2018, 74(Pt 3): 156 – 160.
- [48] ZHAN Y, GUO J, YANG W, *et al*. MNK1/2 inhibition limits oncogenicity and metastasis of KIT-mutant melanoma[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(11): 4179 – 4192.
- [49] GUO QY, LI VZ, NICHOL JN, *et al*. MNK1/NODAL signaling promotes invasive progression of breast ductal carcinoma *in situ* [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(7): 1646 – 1657.
- [50] KOSCIUCZUK EM, KAR AK, BLYTH GT, *et al*. Inhibitory effects of SEL201 in acute myeloid leukemia[J]. *Oncotarget*, 2019, 10(67): 7112 – 7121.
- [51] KWIATKOWSKI J, LIU BP, PANG S, *et al*. Stepwise evolution of fragment hits against MAPK interacting kinases 1 and 2[J]. *J Med Chem*, 2020, 63(2): 621 – 637.
- [52] HAN W, DING Y, XU YJ, *et al*. Discovery of a selective and potent inhibitor of mitogen-activated protein kinase-interacting kinases 1 and 2 (MNK1/2) utilizing structure-based drug design [J]. *J Med Chem*, 2016, 59(7): 3034 – 3045.

编辑:毕晓帆/接受日期:2023-02-13