·综述·

小分子 Janus 激酶抑制剂的研究进展

李梦丽,卢　诚,万慧阳,王玉斌
(南京工业大学药学院,南京 210009)

[摘要] Janus 激酶(JAKs)是一类非受体型酪氨酸激酶,在过去近 20 年里,小分子 Janus 激酶抑制剂逐渐进入大众视野并受到研究者广泛的重视。JAKs 可通过其与下游的信号传导及转录激活因子形成的 JAK-STAT 信号通路调节细胞增殖、分化、凋亡以及血管生成和免疫,其抑制剂可用于自身免疫性疾病、炎症反应以及恶性肿瘤等的防治。目前已经有近 10 种小分子 Janus 激酶抑制剂获得上市资格,还有一些抑制剂正处于临床研究阶段。本文就 Janus 激酶的结构、JAK-STAT 信号通路以及近年来在研及已上市的 JAKs 抑制剂的研发进展及临床应用进行综述,旨在为该类抑制剂的研发提供有益的参考。

[关键词] Janus 激酶;JAK-STAT 通路;JAKs 抑制剂;研究进展
[中图分类号] R967　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003 - 3734(2021)23 - 2178 - 11

Research progress of small-molecule Janus kinase inhibitors

LI Meng-li, LU Cheng, WAN Hui-yang, WANG Yu-bin
(*School of Pharmacy*, *Nanjing University of Technology*, *Nanjing* 210009, *China*)

[**Abstract**] Janus kinases (JAKs) are a class of non-receptor tyrosine kinases. In the past two decades, small-molecule Janus kinases inhibitors have gradually entered the public vision and received extensive attention from researchers. JAKs can regulate cell proliferation, differentiation, apoptosis, angiogenesis and immunity through JAK-STAT signal pathway formed by Janus kinases and their downstream signal transducers and activators of transcription. The inhibitors of JAKs can be used for prevention and treatment of autoimmune diseases, inflammatory reactions and malignant tumors. At present, nearly ten small-molecule Janus kinases inhibitors have been approved for marketing, and some others are in clinical research stage. This review summarizes the structure of Janus kinase, JAK-STAT signaling pathway, research and development progress and clinical application of JAKs inhibitors in recent years, providing useful reference for the further research and development of this class of inhibitors.

[**Key words**] Janus kinases;JAK-STAT signaling pathway;JAKs inhibitors;research progress

Janus 激酶(Janus kinases,JAKs)是一种非受体型酪氨酸激酶,JAKs 和其下游的信号传导及转录激活因子(signal transducers and activators of transcription,STAT)形成 JAK-STAT 信号通路。研究发现该通路可被多种细胞因子、生长因子以及受体激活,参与细胞增殖、分化、凋亡、血管生成以及免疫调节等重要生理过程,JAKs 失调常与自身免疫性疾病和造血系统恶性肿瘤的发病有关,因此靶向 JAKs 可作为治疗该类疾病有效的途径[1]。

目前已经有多个 JAKs 抑制剂被批准上市用于治疗如类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)、特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)和骨髓纤维化(myelofibrosis, MF)等,有的正在申请上市资格。本文就 JAKs 的结构、JAK-STAT 信号通路以及靶向不同 JAKs 的小分子抑制剂的研发进展及临床应用情况进行综述。

[作者简介] 李梦丽,女,硕士研究生,研究方向:小分子免疫抑制剂的设计、合成与生物学活性评价。E-mail: 1803829113@qq.com。
[通讯作者] 王玉斌,男,硕士生导师,研究方向:新药分子设计及成药性研究。E-mail: njutwyb5393@163.com。

1 JAKs 及 JAK-STAT 信号通路

1.1 JAKs 结构及功能

JAKs 家族迄今为止共发现 4 个成员:JAK1,JAK2,JAK3 和酪氨酸激酶 2(tyrosine kinase 2, TYK2)。JAKs 家族成员的结构都包含 7 个同源结构域 JH1 ~ JH7,组成 4 个保守结构域:激酶区(kinase domain, JH1)、假激酶区(pseudo-kinase domain,JH2)、FERM(Four. 1 protein, Ezrin, Radixin, Moesin)区和 SH2 结构域(src homology 2 domain)[2](见图 1)。研究发现,JH1(催化功能区)在其活性部位内存在一个高度保守的序列酪氨酸残基(tyrosine residues, Tyr),当 JAKs 与细胞因子结合时,JH1 上的酪氨酸残基发生磷酸化,伴随蛋白构象的变化,从而激活蛋白及其下游信号通路;JH2 在 JH1 功能的调控上发挥重要作用,该结构域内的突变会导致 JAKs 活性异常,从而致使一些疾病发生[3];JH3 和 JH4 构成 SH2 结构域,对稳定 JAKs 构象起重要作用;JH5 ~ JH7 构成 FERM,可调节 JAKs 与受体的结合[4]。

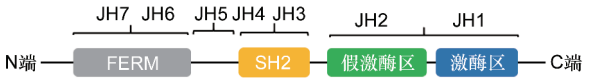


图 1 Janus 激酶结构域

1.2 JAK-STAT 信号通路

JAK-STAT 信号通路参与介导机体多种生理病理反应,是一种重要的调节机制,随着 JAKs 和 STAT 蛋白的结构和功能不断被阐明,JAK-STAT 信号通路的调控机制逐渐明晰(见图 2)。细胞因子与受体结合后,引起受体二聚体化,从而使得与受体偶联的 JAKs 相互靠近并通过交互酪氨酸磷酸化作用而活化,活化后的 JAKs 进而催化细胞因子受体自身的酪氨酸残基磷酸化,并形成 STAT 与受体复合物结合的位点,STAT 通过其具有选择性的 SH2 结构域与活化的受体结合,并在活化后的 JAKs 催化下实现磷酸化,磷酸化的 STAT 形成同/异二聚体并进入细胞核,与相应的靶基因启动子区域结合而激活相应基因的转录与表达[5-6]。

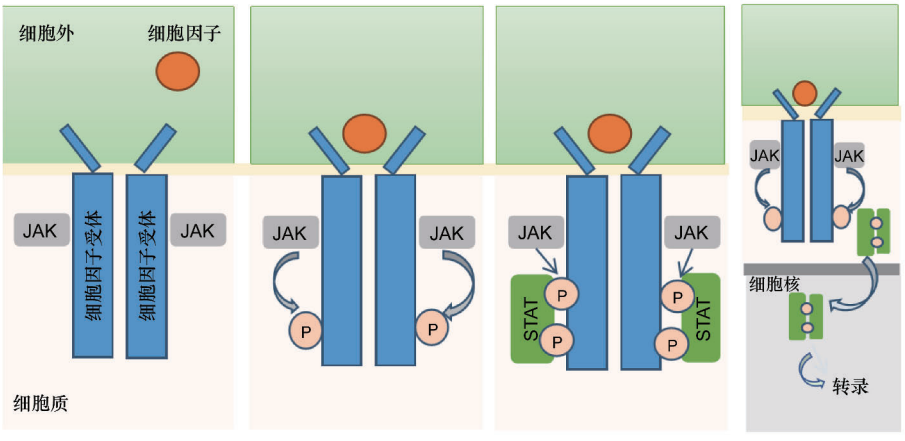


图 2 JAK-STAT 作用机制示意图

2 非选择性 JAKs 抑制剂

靶向抑制 JAKs 的药物可以下调 JAK-STAT 通路,从而预防和治疗一系列炎症、免疫性疾病以及癌症等,基于这些药物作用靶点不同,将其分为非选择性 JAKs 抑制剂和选择性 JAKs 抑制剂两大类,其中非选择性 JAKs 抑制剂同时靶向 2 个及以上 JAKs 靶点,可阻断多条相关信号通路,从而治疗多种自身免疫疾病,目前在临床上应用最为广泛。

2.1 吡咯并嘧啶类

吡咯并嘧啶环是 JAKs 抑制剂中最常见的一种结构,母核中吡咯上的-NH-和嘧啶 N1 能与激酶铰链区形成关键氢键,从而发挥其抑制作用。

2.1.1 tofacitinib tofacitinib 枸橼酸盐(商品名:Xeljanz)为 Pfizer 公司开发的一种吡咯并嘧啶类 JAKs 抑制剂(见图 3),在激酶水平上,对 JAK3 的 IC_{50}为 1 nmol·L^{-1},是 JAK2(IC_{50}为 20 nmol·L^{-1})的 20 倍及 JAK1(IC_{50}为 112 nmol·L^{-1})的 100 倍,而对 TYK2 几乎无活性,在细胞水平上,该药对 JAK1/JAK3 的抑制能力(IC_{50}为 11 nmol·L^{-1})是对 JAK2 抑制能力的 30 倍[7]。

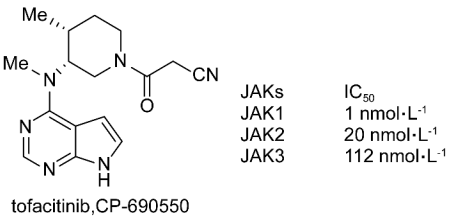


图 3 tofacitinib 的结构式

tofacitinib 于 2012 年 11 月获美国 FDA 批准上市,成为首个用于治疗成人中至重度活动性 RA 的 JAKs 抑制剂,如今已在多个国家包括中国获批用于治疗 RA;2018 年 5 月 30 日,FDA 批准 tofacitinib 缓释片用于治疗成人中重度 UC;2018 年该药获欧洲委员会批准,成为第一个用于活动性银屑病关节炎的 JAKs 抑制剂。临床研究中 tofacitinib 最严重的不良反应是严重感染,包括带状疱疹、肺结核、肺炎、泌尿系统感染等[8]。

2.1.2 ruxolitinib ruxolitinib(商品名:Jakafi)是美国 Incyte 公司开发的选择性 JAK1/JAK2 小分子抑制剂(见图 4)。在激酶水平上,ruxolitinib 对 JAK1 和 JAK2 的 IC_{50} 分别为(3.3 ± 1.2)和(2.8 ± 1.2)nmol·L^{-1},对 JAK1/2 的 IC_{50} 分别是对 TYK2 和 JAK3 的 6 倍和 100 倍[9]。

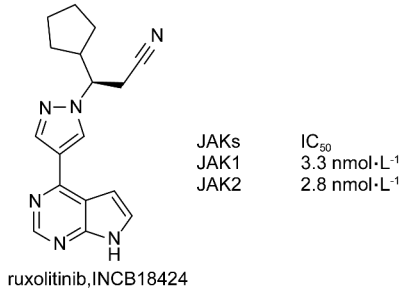


图 4 ruxolitinib 的结构式

该药于 2011 年 11 月获 FDA 批准用于治疗 MF,2012 年 8 月获欧洲 EMA 批准上市用于 MF,随后于 2014 和 2017 年分别在日本和中国获批上市;2019 年 5 月 24 日 FDA 批准该药用于治疗 12 岁及以上儿童和成人类固醇难治性急性移植物抗宿主病。

ruxolitinib 是目前用于治疗 MF 的一线药物,可减少症候学和脾肿大的发生。2020 年初 Incyte 公司宣布该药在治疗 AD 的Ⅲ期临床试验中获得成功,同时对白癜风(Ⅲ期)和斑秃(Ⅱ期)的临床试验正在进行。ruxolitinib 所致不良事件以血液学不良事件为主,常见的为贫血和血小板减少,可通过剂量调整和输血管理防止治疗中断[10]。

2.1.3 deuruxolitinib deuruxolitinib 是由 CoNCERT 公司用氘化技术修饰 ruxolitinib 而得的选择性 JAK1/JAK2 抑制剂(见图 5),该药为斑秃提供潜在的口服治疗方法。目前正计划对该药进行Ⅲ期临床试验用于治疗斑秃。在 2020 年 7 月,美国 FDA 批准了 deuruxolitinib 突破性治疗称号,用于治疗中至重度斑秃患者。

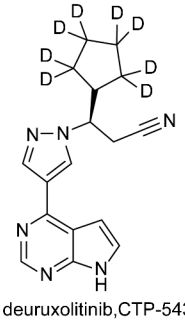


图 5 deuruxolitinib 的结构式

2.1.4 baricitinib baricitinib(商品名:Olumiant)是 Incyte 公司和 Lilly 公司共同开发的一款口服、可逆的、选择性的 JAK1/JAK2 抑制剂(见图 6),对 JAK1 与 JAK2 抑制效力较强(IC_{50} 值分别是 5.9 和 5.7 nmol·L^{-1}),但其对 TYK2 和 JAK3 的抑制效力较低[11]。

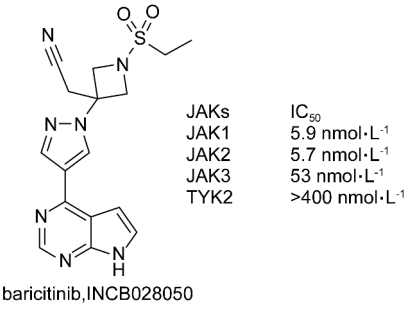


图 6 baricitinib 的结构式

baricitinib 于 2017—2019 年先后获欧洲 EMA 和美国 FDA 和国家药品监督管理局(NMPA)批准用于治疗成年患者的中至重度活动性 RA。baricitinib 用于治疗中至重度银屑病和中至重度 AD 的Ⅱb 和Ⅲ期临床试验结果显示出较好的疗效[12-13]。另外 baricitinib 用于治疗 2 型糖尿病/糖尿病肾病和系统性红斑狼疮处于Ⅱ期临床试验阶段。临床中常见不良反应为贫血、上呼吸道感染、恶心、单纯性疱疹和

带状疱疹等。

2.1.5 delgocitinib delgocitinib 是日本烟草公司(JT)和鸟居制药公司(Torii Pharmaceutical)共同开发的一款非选择性 JAKs 抑制剂(见图 7),主要用于治疗炎症性皮肤疾病。结构中除吡咯并嘧啶外,还含有三维的螺旋支架,吡咯并嘧啶结构域与 JAK3 的 Leu905 和 Glu903 残基形成氢键作用,而头部螺旋支架结构连接的氰乙酰基与 Gly829-Lys830 和 Gly834-Ser835 形成正交偶极相互作用,该结构在动物模型中,具有优异的理化性质和抗皮炎的效果,在激酶水平上,对 JAK1/2/3 以及 TYK2 的 IC_{50} 值分别是 2.8,2.6,13 和 58 nmol·L^{-1}[14]。

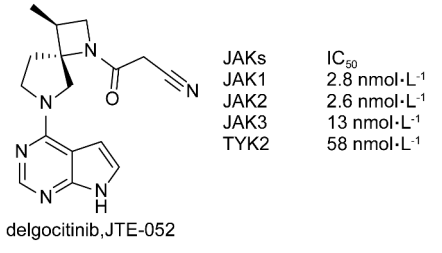


图 7 delgocitinib 的结构式

在此前报道中,在 2,4-二硝基氯苯(DNCB)诱导的大鼠皮炎模型中证实了 delgocitinib 的抗皮炎作用[15]。delgocitinib 于 2020 年 1 月 23 日获得日本 PMDA 批准上市,成为第一个用于局部治疗成人轻中度 AD 的 JAKs 抑制剂。

2.2 吡咯并吡啶类

2.2.1 peficitinib peficitinib(商品名:Smyraf)是 Astellas Pharma 公司开发的 JAK1/JAK3 抑制剂(见图 8),在激酶水平上对 JAK3 的 IC_{50} 为 0.71 nmol·L^{-1},对 JAK1,JAK2 及 TYK2 的 IC_{50} 分别为 3.9,5.0 和 4.8 nmol·L^{-1},4 位氨基取代基为金刚烷取代基,可增加代谢稳定性,引入的羟基降低了亲脂性,可与 JAK1 的 Asn1008 残基和 JAK3 的 Arg953 和 Asp967 残基形成氢键,增加抑制活性[16]。

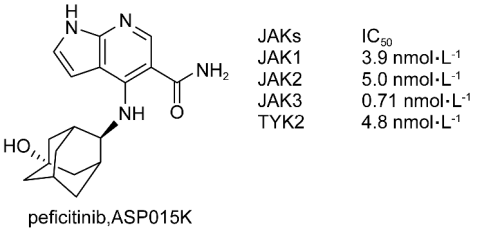


图 8 peficitinib 的结构式

peficitinib 于 2019 年 3 月在日本获批用于治疗甲氨蝶呤(MTX)反应不足的中至重度 RA,于 2020 年在韩国获批用于治疗 RA。该药不良反应如带状疱疹的增加与其他 JAKs 抑制剂无异,目前对 peficitinib 用于治疗中至重度活动性 UC 的Ⅱ期临床试验也已经完成[17]。

2.3 氨基嘧啶类

2.3.1 brepocitinib brepocitinib 是 Pfizer 公司于 2018 年开发的一款 JAK1/TYK2 双重抑制剂(见图 9),通过靶向 TYK2,阻断白细胞介素(IL)-12 和 IL-23 信号传导来增强对 JAK1 的抑制活性,进而减少一些免疫疾病的发生率[6]。目前该药对斑块型银屑病的Ⅱa 期临床试验已经完成,结果显示 brepocitinib 对中重度斑块型银屑病患者普遍有效且耐受性良好。目前对该药用于治疗 UC、克罗恩病、银屑病关节炎、系统性红斑狼疮和斑秃的研究处于Ⅱ期临床阶段。

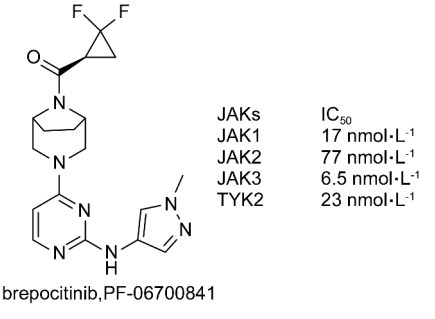


图 9 brepocitinib 的结构式

2.3.2 momelotinib momelotinib(MMB)是由澳大利亚 Cytopia 公司开发的用于治疗 MF 的 JAK1/JAK2 和 1 型激活素 A 受体(activin A receptor type 1, ACVR1)的小分子抑制剂(见图 10),对 *JAK2*^{V617F} 突变有强抑制性,对 JAK1 和 JAK2 的 IC_{50} 值分别为 11 和 18 nmol·L^{-1},是对 JAK3 的 10 倍左右,同时对 ACVR1 有很强的抑制作用[18]。

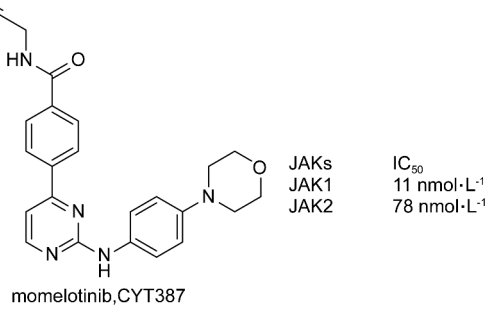


图 10 MMB 的结构式

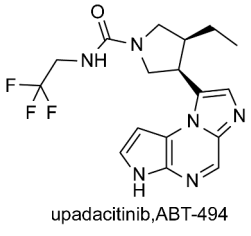
目前 MMB 已经进入Ⅲ期临床试验阶段,与 ruxolitinib 相比,MMB 对贫血症状有明显的改善,可减少频繁输血的需求,后研究表明 MMB 通过抑制 ACVR1 介导的肝内铁调素(hepcidin)的表达,从而增加红细胞的生成,改善炎症性贫血[19-20]。Ⅲ期临床试验表现出的主要不良反应有血小板减少、恶心、头疼、腹痛和周围神经病变等[10]。MMB 为 MF 患者特别是伴随贫血的 MF 患者提供了新的治疗途径。

3 选择性 JAK1 抑制剂

JAK1 在 JAKs 家族成员中有着最广泛的细胞因子信号通路,是唯一可与其他 3 种 JAKs 形成配对的异构体。JAK3 仅与 JAK1 配对组合,调节 γ 共链(γ_c)细胞因子的信号传导;JAK1 与 JAK2 特异性配对调节 II 型干扰素(IFNγ)的信号传导;JAK1 与 TYK2 一起调节Ⅰ型干扰素(IFNα/IFNβ)和 IL-10 家族细胞因子的信号传导;此外,当与 JAK2 或 TYK2 配对时,JAK1 调节含有 gp130 的受体信号(包括原型细胞因子 IL-6 受体),以及通过粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-csf)受体传递信号,由于 JAK1 可以与 JAK2,JAK3 和 TYK2 配对,选择性 JAK1 抑制剂有望抑制炎症和免疫功能所涉及多种细胞因子,同时避免对 JAK2 的抑制[JAK2 同二聚体调节促红细胞生成素(EPO)和血小板生成素(TPO)信号及其他细胞因子],减少贫血等不良反应的发生[21]。

3.1 upadacitinib

upadacitinib(商品名:Rinvoq)是 AbbVie 公司开发的以吡咯并吡嗪并吡唑三环为母环的选择性 JAK1 抑制剂(见图 11),从共晶结构中预测三氟乙基占据了富含甘氨酸的环,与该区域相互作用提高了对 JAK1 的选择性,在激酶水平上对 JAK1,JAK2,JAK3 和 TYK2 的 IC_{50} 分别为 47,120,2 300 和 4 690 nmol·L^{-1},在细胞水平上该化合物对 JAK1 的选择性分别为对 JAK2 和 JAK3 的 60 和 100 倍[22]。



upadacitinib,ABT-494

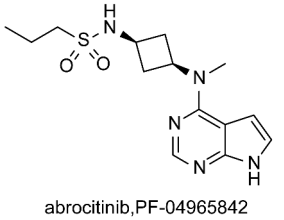
JAKs	IC_{50}
JAK1	47 nmol·L^{-1}
JAK2	120 nmol·L^{-1}
JAK3	2 300 nmol·L^{-1}
TYK2	4 690 nmol·L^{-1}

图 11 upadacitinib 的结构式

upadacitinib 于 2019 年 8 月被 FDA 批准上市用于治疗对 MTX 反应不足的中至重度 RA,成为第一个上市的选择性 JAK1 抑制剂,2019 年 12 月获 EMA 批准用于治疗中至重度 RA。Ⅱb 期临床试验结果表明 upadacitinib 对中至重度 UC 有显著疗效,但存在带状疱疹的不良反应[23]。该药用于克罗恩病和 AD 的 2 项Ⅱb 期临床试验结果为Ⅲ期临床试验起到积极的支撑作用[24-25]。2020 年底,AbbVie 公司向 FDA 和 EMA 提交 upadacitinib 的监管申请治疗成人活动性银屑病关节炎。

3.2 abrocitinib

abrocitinib 是由 Pfizer 公司通过改造 tofacitinib 结构得到的一款有效、可口服的 JAK1 抑制剂(见图 12),可以调节 AD 病理中的多个细胞因子,包括 IL-4,IL-13,IL-31 和 IFN-γ,对 JAK1 的 IC_{50} 值为 29 nmol·L^{-1},分别是对 JAK2,JAK3 和 TYK2 抑制活性的 28,340 和 43 倍,通过与 JAK1 和 JAK2 这 2 种激酶的共晶结构分析,发现该化合物与结合位点内的残基以及 P 环的氢键结合方式存在细微差异,同时,水分子介导嘧啶环上 N3 原子与 JAK1 中侧链 Glu966 残基之间形成氢键相互作用,而 JAK2 对应位置的 Asp939 则需要扩展水分子网络来与 N3 进行相互作用,这些细微差异可能是导致对 JAK1 的选择性高于 JAK2 的原因[21]。



abrocitinib,PF-04965842

JAKs	IC_{50}/ratio
JAK1	29 nmol·L^{-1}
JAK1/2	28
JAK1/3	>340
JAK1/TYK2	43

图 12 abrocitinib 的结构式

美国 FDA 在 2018 年 2 月批准了 abrocitinib 治疗中重度 AD 的突破性药物资格。一项Ⅲ期临床试验显示每日 1 次口服 200 或 100 mg 的 abrocitinib 对青少年和成人中重度 AD 患者具有良好的耐受性,并显著改善 AD 的体征和症状[26]。FDA 于 2020 年 10 月 28 日受理 abrocitinib 的新药申请,用于治疗中重度 AD,另外 EMA 也受理该药用于相同适应证的上市许可证(MAA)。

3.3 filgotinib

filgotinib 是由美国 Gilead 公司和 Galapagos 公司联合开发出的母环为吡啶并三氮唑的 JAK1 抑制

剂(见图 13),与三氮唑相连的 N-H 和与羰基连接的环丙基有供氢作用,是对 JAK1 的选择性不可或缺的部分。在激酶水平上对 JAK1 的 IC_{50} 值是(10 ± 0.8) nmol·L^{-1},分别是 JAK2,JAK3 和 TYK2 的 2.8,81 和 11.6 倍,但在细胞水平上对 JAK1 的活性是 JAK2 的 14 倍[27]。

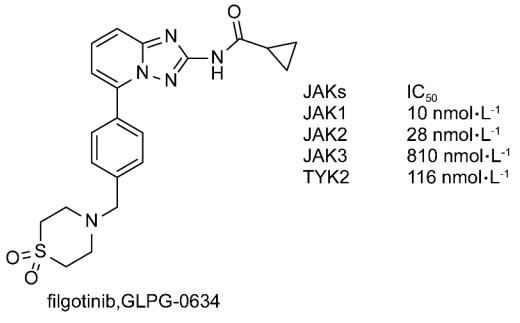


图 13 filgotinib 的结构式

2017 年该药物被授予孤儿药称谓用于治疗儿科克罗恩病和 UC。2020 年 9 月 26 日,filgotinib 在欧盟和日本被批准单药或联合 MTX 用于治疗对一种或多种疾病修饰抗风湿性药物(DMARD)应答不足或不耐受的中度至重度 RA 成人患者,商品名为 Jyseleca,批准规格包括 100 和 200 mg。2020 年 11 月 2 日,Gilead 公司和 Galapagos 公司联合宣布 EMA 已经受理了 filgotinib(200 mg)的新适应证申请,用于治疗对常规疗法或生物制剂的反应不足或不耐受的中至重度 UC 成人患者。另外,Gilead 公司于 2019 年 12 月向 FDA 提交了 filgotinib 新药申请,优先审查对 RA 的疗效,但在 2020 年 8 月,FDA 向 Gilead 公司发出完整回应函(CRL),要求其从另外 2 项临床研究即 MANTA 和 MANTA-Ray 中获得更多数据来评估睾丸安全性,同时对高剂量(200 mg) filgotinib 总体的利益和风险概况表示担忧。目前由于某些原因暂停该药对银屑病关节炎的Ⅲ期临床研究、强直性脊柱炎和葡萄膜炎的Ⅱ期临床研究。

3.4 solcitinib

solcitinib 是由 GlaxoSmithKline 公司通过高通量筛选得到的选择性 JAK1 抑制剂(见图 14),其对 JAK1 的 IC_{50} 值为 9.8 nmol·L^{-1},选择性是对 JAK2,JAK3 和 TYK2 的 11,55 和 23 倍。临床前实验数据表明,其对银屑病和系统性红斑狼疮具有较好的疗效,对炎症性肠病也有一定的疗效[28]。该药首先被开发应用于治疗斑块型银屑病患者,并取得了较好的临床疗效,而后对其用于治疗成人系统性红斑狼疮也进行了Ⅱ期临床试验,但因出现几例严重的不良反应,包括嗜酸性粒细胞增多症和全身症状综合征(DRESS)以及肝功能异常情况,导致临床终止[29-30]。

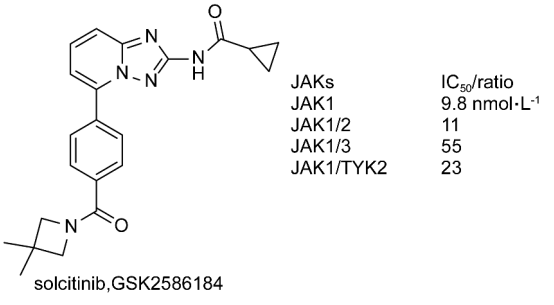


图 14 solcitinib 的结构式

3.5 itacitinib

itacitinib 是 Incyte 公司研发的一款结构为吡咯并嘧啶类的选择性 JAK1 抑制剂(见图 15),对 JAK1 的 IC_{50} 值为 2 nmol·L^{-1},选择性是对 JAK2 的 20 多倍、对 JAK3 与 TYK2 的 100 多倍。该药具有口服生物活性和抗肿瘤活性,目前正处于Ⅲ期临床试验,联用皮质类固醇用于治疗急性和慢性移植物抗宿主病,主要由 CYP3A4 代谢,肾脏清除率很低,对健康受试者心脏安全性的临床评估得知该药剂量在安全范围内[31]。同时,在不同国家对该药用于治疗支气管炎、转移性非小细胞肺癌等疾病正在进行Ⅱ期临床研究。

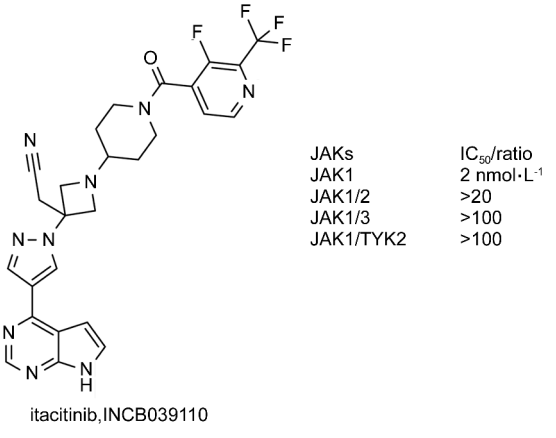


图 15 itacitinib 的结构式

3.6 AZD4205

AZD4205 是由 AstraZeneca 公司开发、具有高选择性的 JAK1 抑制剂(见图 16),该药具有良好的药物代谢和药动学性质,在临床前非小细胞肺癌模型中,该化合物与 EGFR 抑制剂 osimertinib 联合显示

出增强的抗肿瘤活性[32]。如今对该药用于治疗非小细胞肺癌处于Ⅱ期临床试验阶段。

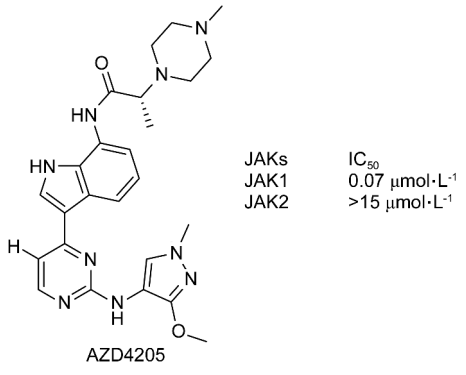


图 16 AZD4205 的结构式

除上述几种选择性 JAK1 抑制剂外,江苏恒瑞医药有限公司研发的 SHR-0302 用于治疗 RA,正处于Ⅲ期临床试验阶段(见图 17),同时对斑秃、UC 和 AD 的研究进入Ⅱ期临床研究阶段。

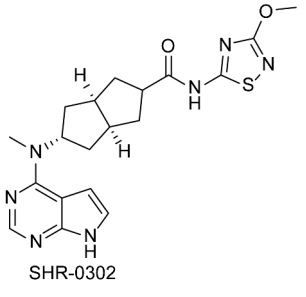


图 17 SHR-0302 的结构式

4 选择性 JAK2 抑制剂

JAK2 是家族中唯一与自身配对的成员,广泛分布于体细胞的胞质中,参与造血和免疫系统等的信号转导,调节各种细胞因子和生长因子的信号,包括 IL-3,IL-5,GM-CSF,EPO 和 TPO 等,在小鼠模型中敲除 *JAK2* 可导致贫血引起的动物死亡。研究发现 JAK2 的 JH2 区的 *V617F* 位点突变可导致 *JAK2* 组成性激活,使得 JAK-STAT 信号通路继续活化,这种持续性的活化导致细胞恶性增殖并抑制细胞的正常凋亡,最终引起真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、MF 等的发生,在骨髓增生性肿瘤中,真性红细胞增多症患者 *JAK2*^{V617F} 突变率达到了 95%,原发性血小板增多症和原发性骨髓纤维化患者达到了 50%,*JAK2*^{V617F} 突变在 *JAK2* 所有突变中最为普遍[33-34]。靶向 JAK2 已成为治疗和预防该类疾病的重要途径。

4.1 pacritinib

pacritinib 是由 Cell Therapy Ltd.(CTL)公司开发的 JAK2/FLT3 双重抑制剂(见图 18),主要用于 MF。该药为大环 2-氨基嘧啶取代物,与 JAK2 的共晶结构显示:氨基嘧啶与 JAK2 的 ATP 结合区中 Leu932 作用,连接链中氧原子与 Ser936 形成氢键,吡咯烷的氮与 Asp939 形成盐桥,在激酶水平上对野生型 *JAK2*,*JAK2*^{V617F} 和 *FLT3* 抑制活性 IC_{50} 分别为 23,19 和 22 nmol·L^{-1},对 JAK2 的选择性是 JAK1/3 和 TYK2 的 56,23 和 2.2 倍[35]。

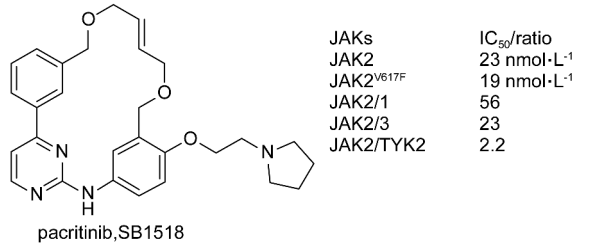


图 18 pacritinib 的结构式

pacritinib 在 *JAK2*^{V617F} 驱动的疾病模型中具有良好的耐受性并减少脾肿大和肝肿大,作为一个非骨髓抑制的 JAK2 选择性抑制剂,在Ⅱ期临床试验中其对 MF 或其他髓系恶性肿瘤患者具有良好的疗效[36]。pacritinib 在Ⅲ期临床试验期间表现出的不良反应主要有贫血、血小板减少、恶心和腹泻等,作为用于 ruxolitinib 失败后的二线药物,pacritinib 具有很好的前景[37]。

4.2 fedratinib

fedratinib(商品名:Inrebic)是由 Sanofi 公司研发的一款小分子选择性 JAK2 抑制剂(见图 19),激酶水平对 JAK2 的 IC_{50} 为 3 nmol·L^{-1},选择性比 JAK1,JAK3 和 TYK2 分别高 35,334 和 100 多倍[38]。fedratinib 对野生型和 *V617F* 突变的 JAK2 均有很强的抑制作用,在骨髓增生性肿瘤的临床前研究中,fedratinib 表现出剂量依赖性地降低表达 V617F 的细胞群数目,而不影响正常造血系统,所以该药物治疗 *JAK2*^{V617F} 突变的 MF 具有一定优势。

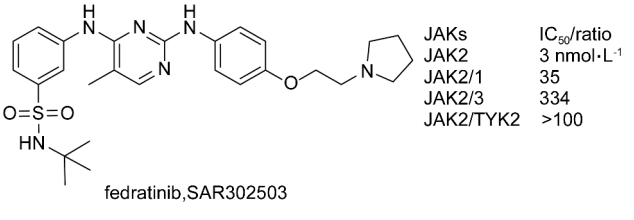


图 19 fedratinib 的结构式

fedratinib 于 2019 年 8 月 16 日获 FDA 批准上市,作为孤儿药用于原发性或继发性真性红细胞增多症或骨髓增生性肿瘤后的中危或高危 MF 的成人患者。fedratinib 在Ⅰ期临床试验表现出的不良反应包括恶心、呕吐、腹泻、贫血和血小板减少症[39]。在Ⅲ期临床试验中发现 fedratinib 携带一个脑病的黑框警告,包括韦尼克氏脑病[一种由硫胺素(维生素 B_1)缺乏引起的神经系统急症],使用 fedratinib 之前,应定期评估硫胺素水平和营养状况,并根据临床指示定期进行评估,研究显示使用 ruxolitinib 无效后使用该药显现出较好的疗效[38]。

除了以上 2 个 JAK2 抑制剂,还有 CEP-33779 和 AZD1480 等正处在临床前研究状态(见图 20)。

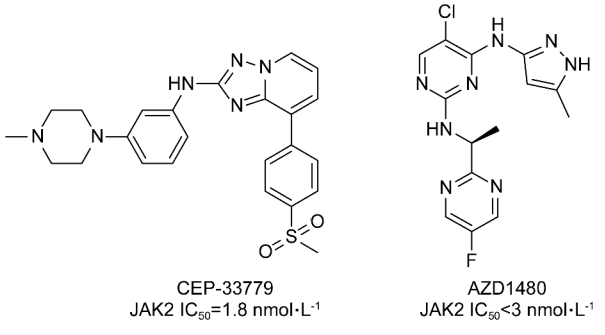


图 20 CEP-33779 和 AZD1480 的结构式

5 选择性 JAK3 抑制剂

JAK3 相较于其他几种 JAKs 主要分布于骨髓和淋巴系统中,是免疫反应细胞信号传导的一个关键分子,仅与 JAK1 形成二聚体,通过与 IL-2,IL-4,IL-7,IL-9,IL-15,IL-21 等细胞因子受体复合物中的 γc 相结合,调节细胞信号传导,*JAK3* 或者 γ_c 突变或者缺失会导致严重联合免疫缺陷[40],JAK3 活性异常表现为 T 细胞和 NK 细胞大量减少、B 细胞功能丧失,严重影响免疫系统等的正常生物学功能,所以 JAK3 一直是治疗移植排斥反应和包括 RA 及克罗恩病在内的其他免疫疾病的靶点。

5.1 decernotinib

decernotinib 是由加拿大 Vertex Pharmaceuticals 公司开发的一种母环为吡咯并吡啶的 JAK3 抑制剂(见图 21),对 JAK3 的 K_i 值为 2 nmol·L^{-1},对 IL-2 介导的人 T 细胞的 IC_{50} 为 0.14 μmol·L^{-1},与 tofacitinib (0.15 μmol·L^{-1})相当[41]。

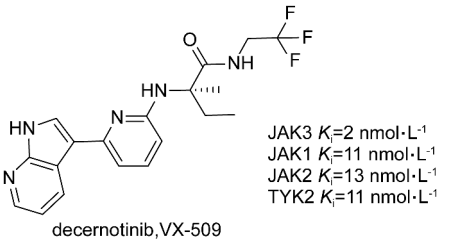


图 21 decernotinib 的结构式

decernotinib 在临床上主要联用 MTX 治疗 MTX 反应不足的 RA 患者,在Ⅱ期临床研究中,VX-509 组最常见的不良事件是头痛及转氨酶、脂蛋白和肌酐水平升高等[42]。

5.2 ritlecitinib

ritlecitinib 是 Pfizer 公司开发的母环为 2-氨基吡咯并吡啶结构的、选择性 JAK3/TEC 抑制剂(见图 22)。对比 4 种 JAKs 激酶结构,表明 JAK3 只有 2 个独特的残基可用于设计选择性抑制剂,于是研究以与 JAK3 残基 Cys-909 形成共价作用为出发点进行设计,得到该化合物,该结构中的丙烯酰胺基团可特异性地与 JAK3 残基 Cys-909 形成共价作用,在激酶水平上 ritlecitinib 对 JAK3 的 IC_{50} 为 33 nmol·L^{-1},远远超过其他 3 种 JAKs 激酶(三者的 IC_{50} > 10 000 nmol·L^{-1})。在人全血实验中也显示出较高的选择性,且有较好的疗效与较低的体内清除率,该药的有效性和安全性在多个临床试验中得到评价[43]。

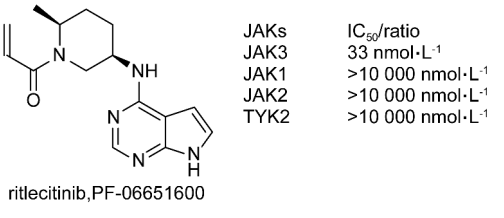


图 22 ritlecitinib 的结构式

该药用于治疗中重度以及 MTX 反应不足的 RA,在对该药用于治疗 RA 的一项Ⅱ期临床研究中显示出较好的疗效,不良事件较轻,常见的不良反应为感染以及皮肤和皮下组织疾病。目前也对该药用于治疗炎症性肠病(Ⅱ期)和斑秃(Ⅲ期)进行了临床研究。

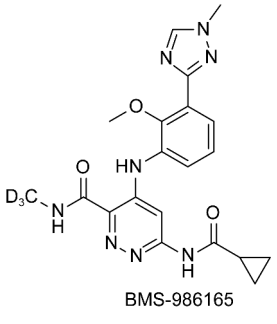
6 选择性 TYK2 抑制剂

TYK2 是 JAK 家族中的第 1 个成员,可被 IFNs,IL-10,IL-6,IL-12,IL-23 和 IL-27 等多种细胞因子激

活,TYK2 活性的丧失导致疱疹病毒科、葡萄球菌和分枝杆菌等药物引起严重皮肤感染的风险增加,然而在小鼠中,TYK2 功能缺失会增加对自身免疫疾病、过敏以及炎症性疾病的抵抗力[44-45]。目前在银屑病中,IL-23/IL-17 轴被认为是关键的致病途径,通过选择性抑制 TYK2 激酶可以阻断 IL-23 等细胞因子介导的 JAK-STAT 信号通路,从而实现治疗银屑病以及银屑病关节炎的目的[46]。

6.1 BMS-986165

目前已知的已经上市的小分子抑制剂都是通过与激酶区即 JH1 区域结合,通过阻断 ATP 以及激酶的磷酸化和由此产生的信号通路转导来阻止激酶的催化活性,但是该药物是通过与 TYK2 的假激酶区即 JH2 结合,通过变构机制抑制其功能,BMS-986165 是目前发现的第 1 个靶向 JH2 的 JAK 抑制剂(见图 23)。对 TYK2 的 JH2 区 IC_{50}值为 0.2 nmol·L^{-1},除对 JAK1 的 JH2 的 IC_{50}值为 1 nmol·L^{-1}外,远远超过对其他 JAKs(对 JAK1/JAK2/JAK3/TYK2 的 JH1 结构的 IC_{50} > 10 000 nmol·L^{-1})的抑制活性,结构中的氘甲基酰胺取代基与 TYK2 结构中的 JH2 结构区上一种罕见的丙氨酸残基(丙氨酸口袋)结合提高其对 JH2 区域的选择性,又通过引入氘代甲基基团阻止其通过去甲基代谢途径生成选择性较低的初级酰胺代谢物[47]。



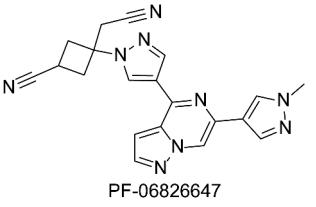
JAKs	IC_{50}
TYK2(JH2)	0.2 nmol·L^{-1}
JAK1(JH2)	1.0 nmol·L^{-1}
JAK1/2/3(JH1)	>10 000 nmol·L^{-1}
TYK2	>10 000 nmol·L^{-1}

图 23 BMS-986165 的结构式

目前对 BMS-986165 用于银屑病正在各个国家进行Ⅲ期临床试验,同时对该药用于治疗 UC、克罗恩病、狼疮性肾炎、银屑病关节炎和系统性红斑狼疮处于Ⅱ期临床研究阶段。

6.2 PF-06826647

除 BMS-986165 外,另一个选择性 TYK2 抑制剂 PF-06826647 正在进行中至重度银屑病、UC 和化脓性汗腺炎的Ⅱ期临床研究(见图 24)。近些年对银屑病以及其他免疫疾病等的作用机制逐渐清晰之后,对靶向 TYK2 的小分子免疫抑制剂的研究越来越吸引研究者的目光,今后将有更多相关药物被研制出来。



JAKs	IC_{50}
JAK1	383 nmol·L^{-1}
JAK2	74 nmol·L^{-1}
JAK3	>10 000 nmol·L^{-1}
TYK2	15 nmol·L^{-1}

图 24 PF-06826647 的结构式

7 结语

自从 20 世纪发现细胞因子介导的 JAK-STAT 通路对一些自身免疫疾病,如 MF,RA,AD 及斑秃、银屑病或者一些肿瘤有一定影响后,靶向 JAKs 的小分子抑制剂越来越吸引研究者的目光。目前国内外已经有不少 JAKs 抑制剂上市,近年来研究者将目光从非选择性 JAKs 抑制剂逐渐转向选择性 JAKs 抑制剂,随着研究发展,不同的 JAKs 亚型所介导的不同的生理活动逐渐被阐明,不同亚型的突变可导致不同的疾病,掌握这些亚型所对应的不同症状,可使研发者在药物研发过程中避免研究出不良反应较大的药物。目前选择性 JAK1 抑制剂 upadacitinib 和 filgotinib 都已获批上市用于治疗 RA;选择性 JAK2 抑制剂对骨髓纤维化相关的疾病有一定的疗效,在该亚型的相关突变中 $JAK2^{V617F}$ 最为常见;同时 JAK3 因为其特有的仅在淋巴组织中分布而一直受到关注,目前研究出的 JAK3 抑制剂基本上也与 JAK1 所介导的相关细胞因子有一定关联,对选择性抑制该靶点的药物作用效果还在进行临床研究;对 TYK2 的研究在近年内兴起,尤其是其结构中的 JH2 结构域的特异性吸引研究者的注意,靶向抑制 JH2 区域对银屑病等相关疾病有良好作用。

还有一些药物正在进行临床研究,对相关药物的长期安全性及有效性进行评估。相信随着细胞分子生物技术的不断深入发展和筛选手段的不断改进,对选择性 JAKs 抑制剂的研究将会到达一个新的台阶,可以为相关疾病患者带来福音。

[参 考 文 献]

[1] SENKEVITCH E, DURUM S. The promise of Janus kinase inhibitors in the treatment of hematological malignancies[J]. *Cytokine*, 2017, 98: 33-41.

[2] BABON JJ, LUCET IS, MURPHY JM, *et al*. The molecular regulation of Janus kinase (JAK) activation[J]. *Biochem J*, 2014, 462(1): 1 – 13.

[3] SAHARINEN P, SILVENNOINEN O. The pseudokinase domain is required for suppression of basal activity of Jak2 and Jak3 tyrosine kinases and for cytokine-inducible activation of signal transduction[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(49): 47954 – 47963.

[4] RADTKE S, HAAN S, JÖRISSEN A, *et al*. The Jak1 SH_2 domain does not fulfill a classical SH2 function in Jak/STAT signaling but plays a structural role for receptor interaction and up-regulation of receptor surface expression[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(27): 25760 – 25768.

[5] COSKUN M, SALEM M, PEDERSEN J, *et al*. Involvement of JAK/STAT signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. *Pharmacol Res*, 2013, 76: 1 – 8.

[6] FENSOME A, AMBLER CM, ARNOLD E, *et al*. Dual Inhibition of TYK_2 and JAK1 for the Treatment of Autoimmune Diseases: Discovery of ((S)-2, 2-Difluorocyclopropyl)((1R,5S)-3-(2-((1-methyl-1 H-pyrazol-4-yl) amino) pyrimidin-4-yl)-3, 8-diazabicyclo[3. 2. 1] octan-8-yl) methanone (PF-06700841)[J]. *J Med Chem*, 2018, 61(19): 8597 – 8612.

[7] FLANAGAN ME, BLUMENKOPF TA, BRISSETTE WH, *et al*. Discovery of CP-690, 550: a potent and selective Janus kinase (JAK) inhibitor for the treatment of autoimmune diseases and organ transplant rejection[J]. *J Med Chem*, 2010, 53(24): 8468 – 8484.

[8] SINGH JA, SAAG KG, BRIDGES SL, *et al*. 2015 American college of rheumatology guideline for the treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2016, 68(1): 1 – 25.

[9] ARANA YI C, TAM CS, VERSTOVSEK S. Efficacy and safety of ruxolitinib in the treatment of patients with myelofibrosis[J]. *Future Oncol*, 2015, 11(5): 719 – 733.

[10] SAEED I, MCLORNAN D, HARRISON CN. Managing side effects of JAK inhibitors for myelofibrosis in clinical practice[J]. *Expert Rev Hematol*, 2017, 10(7): 617 – 625.

[11] FRIDMAN JS, SCHERLE PA, COLLINS R, *et al*. Selective inhibition of JAK1 and JAK2 is efficacious in rodent models of arthritis: preclinical characterization of INCB028050[J]. *J Immunol*, 2010, 184(9): 5298 – 5307.

[12] PAPP KA, MENTER MA, RAMAN M, *et al*. A randomized phase 2b trial of baricitinib, an oral Janus kinase (JAK) 1/JAK2 inhibitor, in patients with moderate-to-severe psoriasis[J]. *Br J Dermatol*, 2016, 174(6): 1266 – 1276.

[13] SIMPSON EL, LACOUR JP, SPELMAN L, *et al*. Baricitinib in patients with moderate-to-severe atopic dermatitis and inadequate response to topical corticosteroids: results from two randomized monotherapy phase III trials[J]. *Br J Dermatol*, 2020, 183(2): 242 – 255.

[14] NOJI S, HARA Y, MIURA T, *et al*. Discovery of a Janus kinase inhibitor bearing a highly three-dimensional spiro scaffold: JTE-052 (delgocitinib) as a new dermatological agent to treat inflammatory skin disorders[J]. *J Med Chem*, 2020, 63(13): 7163 – 7185.

[15] TANIMOTO A, SHINOZAKI Y, YAMAMOTO Y, *et al*. A novel JAK inhibitor JTE-052 reduces skin inflammation and ameliorates chronic dermatitis in rodent models: Comparison with conventional therapeutic agents[J]. *Exp Dermatol*, 2018, 27(1): 22 – 29.

[16] HAMAGUCHI H, AMANO Y, MORITOMO A, *et al*. Discovery and structural characterization of peficitinib (ASP015K) as a novel and potent JAK inhibitor[J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(18): 4971 – 4983.

[17] SANDS BE, SANDBORN WJ, FEAGAN BG, *et al*. Peficitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in moderate-to-severe ulcerative colitis: results from a randomised, phase 2 study[J]. *J Crohns Colitis*, 2018, 12(10): 1158 – 1169.

[18] PARDANANI A, LASHO T, SMITH G, *et al*. CYT387, a selective JAK1/JAK2 inhibitor: *in vitro* assessment of kinase selectivity and preclinical studies using cell lines and primary cells from polycythemia vera patients[J]. *Leukemia*, 2009, 23(8): 1441 – 1445.

[19] ZHENG J, XIN Y, ZHANG JY, *et al*. Pharmacokinetics and disposition of momelotinib revealed a disproportionate human metabolite-resolution for clinical development[J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46(3): 237 – 247.

[20] ASSHOFF M, PETZER V, WARR MR, *et al*. Momelotinib inhibits ACVR1/ALK2, decreases hepcidin production, and ameliorates Anemia of chronic disease in rodents[J]. *Blood*, 2017, 129(13): 1823 – 1830.

[21] VAZQUEZ ML, KAILA N, STROHBACH JW, *et al*. Identification of N-{Cis-3-[methyl(7H-pyrrolo[2, 3-d]pyrimidin-4-yl) amino]cyclobutyl} propane-1-sulfonamide (PF-04965842): a selective JAK1 clinical candidate for the treatment of autoimmune diseases[J]. *J Med Chem*, 2018, 61(3): 1130 – 1152.

[22] PARMENTIER JM, VOSS J, GRAFF C, *et al*. *In vitro* and *in vivo* characterization of the JAK1 selectivity of upadacitinib (ABT-494)[J]. *BMC Rheumatol*, 2018, 2(12): 3141 – 3154.

[23] SANDBORN WJ, GHOSH S, PANES J, *et al*. Efficacy of upadacitinib in a randomized trial of patients with active ulcerative colitis[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(8): 2139 – 2149.

[24] SANDBORN WJ, FEAGAN BG, LOFTUS EV, *et al*. Efficacy and safety of upadacitinib in a randomized trial of patients with Crohn's disease[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(8): 2123 – 2138.

[25] GUTTMAN-YASSKY E, THAÇI D, PANGAN AL, *et al*. Upadacitinib in adults with moderate to severe atopic dermatitis: 16-week results from a randomized, placebo-controlled trial[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145(3): 877 – 884.

[26] SILVERBERG JI, SIMPSON EL, THYSSEN JP, *et al*. Efficacy and safety of abrocitinib in patients with moderate-to-severe atopic dermatitis: a randomized clinical trial[J]. *JAMA Dermatol*, 2020, 156(8): 863 – 873.

[27] MENET CJ, FLETCHER SR, VAN LOMMEN G, *et al*. Triazolopyridines as selective JAK1 inhibitors: from hit identification to GLPG0634[J]. *J Med Chem*, 2014, 57(22): 9323 – 9342.

[28] LUDBROOK VJ, HICKS KJ, HANROTT KE, *et al*. Investigation of selective JAK1 inhibitor GSK2586184 for the treatment of psoriasis in a randomized placebo-controlled phase IIa study[J]. *Br J Dermatol*, 2016, 174(5): 985 – 995.

[29] KAHL L, PATEL J, LAYTON M, *et al*. Safety, tolerability, efficacy and pharmacodynamics of the selective JAK1 inhibitor GSK2586184 in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2016, 25(13): 1420 – 1430.

[30] VAN VOLLENHOVEN RF, LAYTON M, KAHL L, *et al*. DRESS syndrome and reversible liver function abnormalities in patients with systemic lupus erythematosus treated with the highly selective JAK-1 inhibitor GSK2586184[J]. *Lupus*, 2015, 24(6): 648 – 649.

[31] GONG X, DARPO B, XUE H, *et al*. Evaluation of clinical cardiac safety of itacitinib, a JAK1 inhibitor, in healthy participants[J]. *Clin Pharmacol Drug Dev*, 2020, 9(6): 677 – 688.

[32] SU QB, ERICA B, GERALDINE B, *et al*. Discovery of (2R)-N-[3-[2-[(3-methoxy-1-methyl-pyrazol-4-yl) amino] pyrimidin-4-yl]-1H-indol-7-yl]-2-(4-methylpiperazin-1-yl) propenamide (AZD4205) as a Potent and Selective Janus Kinase 1 Inhibitor[J]. *J Med Chem*, 2020, 63(9): 4517 – 4527.

[33] GHORESCHI K, LAURENCE A, O'SHEA JJ. Janus kinases in immune cell signaling[J]. *Immunol Rev*, 2009, 228(1): 273 – 287.

[34] RAMPAL R, AL-SHAHROUR F, ABDEL-WAHAB O, *et al*. Integrated genomic analysis illustrates the central role of JAK-STAT pathway activation in myeloproliferative neoplasm pathogenesis[J]. *Blood*, 2014, 123(22): e123 – e133.

[35] WILLIAM AD, LEE ACH, BLANCHARD S, *et al*. Discovery of

the macrocycle 11-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-14,19-dioxa-5,7,26-triaza-tetracyclo[19.3.1.1(2,6).1(8,12)]heptacosa-1(25),2(26),3,5,8,10,12(27),16,21,23-decaene (SB1518), a potent Janus kinase 2/Fms-like tyrosine kinase-3 (JAK2/FLT3) inhibitor for the treatment of myelofibrosis and lymphoma[J]. *J Med Chem*, 2011, 54(13): 4638 - 4658.

[36] VERSTOVSEK S, ODENIKE O, SINGER JW, *et al*. Phase 1/2 study of pacritinib, a next generation JAK2/FLT3 inhibitor, in myelofibrosis or other myeloid malignancies[J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(4): 1933 - 1940.

[37] TREMBLAY D, MASCARENHAS J. Pacritinib to treat myelofibrosis patients with thrombocytopenia[J]. *Expert Rev Hematol*, 2018, 11(9): 707 - 714.

[38] HARRISON CN, SCHAAP N, MESA RA. Management of myelofibrosis after ruxolitinib failure[J]. *Ann Hematol*, 2020, 99(6): 1177 - 1191.

[39] PARDANANI A, GOTLIB JR, JAMIESON C, *et al*. Safety and efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in myelofibrosis[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(7): 789 - 796.

[40] VILLA A, SIRONI M, MACCHI P, *et al*. Monocyte function in a severe combined immunodeficient patient with a donor splice site mutation in the Jak3 gene[J]. *Blood*, 1996, 88(3): 817 - 823.

[41] FARMER LJ, LEDEBOER MW, HOOCK T, *et al*. Discovery of VX-509 (decernotinib): a potent and selective Janus kinase 3 inhibitor for the treatment of autoimmune diseases[J]. *J Med Chem*, 2015, 58(18): 7195 - 7216.

[42] GENOVESE MC, VAN VOLLENHOVEN RF, PACHECO-TENA C, *et al*. VX-509 (decernotinib), an oral selective JAK-3 inhibitor, in combination with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(1): 46 - 55.

[43] THORARENSEN A, DOWTY ME, BANKER ME, *et al*. Design of a Janus kinase 3 (JAK3) specific inhibitor 1-((2S,5R)-5-((7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2-methylpiperidin-1-yl)prop-2-en-1-one (PF-06651600) allowing for the interrogation of JAK3 signaling in humans[J]. *J Med Chem*, 2017, 60(5): 1971 - 1993.

[44] KREINS AY, CIANCANELLI MJ, OKADA S, *et al*. Human TYK_2 deficiency: mycobacterial and viral infections without hyper-IgE syndrome[J]. *J Exp Med*, 2015, 212(10): 1641 - 1662.

[45] NOGUEIRA M, PUIG L, TORRES T. JAK inhibitors for treatment of psoriasis: focus on selective TYK_2 inhibitors[J]. *Drugs*, 2020, 80(4): 341 - 352.

[46] HAWKES JE, YAN BY, CHAN TC, *et al*. Discovery of the IL-23/IL-17 signaling pathway and the treatment of psoriasis[J]. *J Immunol*, 2018, 201(6): 1605 - 1613.

[47] WROBLESKI ST, MOSLIN R, LIN S, *et al*. Highly selective inhibition of tyrosine kinase 2 (TYK_2) for the treatment of autoimmune diseases: discovery of the allosteric inhibitor BMS-986165[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(20): 8973 - 8995.

编辑:杨青/接受日期:2021 - 04 - 24