

• 上市新药 •

抑制 JAK3 激酶的免疫抑制剂托法替尼

王澳轩¹, 刘冰妮^{2*}, 刘颖², 刘登科², 刘默², 储德清¹

1. 天津工业大学 环境与化学工程学院, 天津 300387

2. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193

摘要: JAK/STAT 是一类重要的细胞因子信号传导通路, 与类风湿性关节炎及银屑病等许多疾病相关。美国辉瑞公司研发的 JAK 抑制剂托法替尼 (Tofacitinib, CP-690550) 能选择性抑制 JAK3 激酶, 美国食品和药物管理局 (FDA) 已于 2012 年 11 月批准其用于中至重度类风湿性关节炎的治疗。综述其作用机制、合成方法、药效与药动学、临床研究进展, 为同类新药的研发提供参考。

关键词: 托法替尼; JAK3 抑制剂; 类风湿性关节炎; 免疫抑制剂

中图分类号: R976 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2014)02-0169-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.02.017

Immune inhibitors of inhibiting JAK3 kinase: Tofacitinib

WANG Ao-xuan¹, LIU Bing-ni², LIU Ying², LIU Deng-ke², LIU Mo², CHU De-qing¹

1. School of Environmental and Chemical Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300387, China

2. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Janus kinase (JAK)/STAT cytokine signal transduction pathway is believed to play an important role in many diseases, such as rheumatoid arthritis and psoriasis. Tofacitinib (CP-690550) is a selective inhibitor of JAK3 kinase developed by Pfizer Inc.. The U.S. Food and Drug Administration approved tofacitinib for the treatment of moderate to severe rheumatoid arthritis disease in November 2012. The mechanism, synthetic method, efficacy, pharmacokinetics, and clinical research progress of tofacitinib have been summarized in the paper. We would like to provide some reference for the research and development of congeneric new drugs.

Key words: Tofacitinib; JAK3 inhibitor; rheumatoid arthritis; immunoinhibitor

JAK/STAT 是一类重要的细胞因子信号传导通路, 与血液系统疾病、肿瘤、类风湿性关节炎及银屑病等许多疾病相关。美国辉瑞 (Pfizer) 公司研发的 JAK 抑制剂托法替尼 (Tofacitinib, 结构见图 1) 能选择性抑制 JAK3 激酶, 于 2012 年 11 月 6 日被美国食品和药物管理局 (FDA) 通过危险评估和减轻策略 (REMS) 批准, 用于治疗成人活动期及对甲氨蝶呤反应不佳的中至重度类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 患者。本文综述其研发背景、合成、药效与药动学、临床研究进展, 为同类新药研发提供参考。

1 药物概况

通用名: 托法替尼 (Tofacitinib)

化学名: 3-((3R, 4R)-4-methyl-3-(methyl(7H-pyrrolo[2, 3-d]pyrimidin-4-yl)amino)piperidin-1-yl)-3-

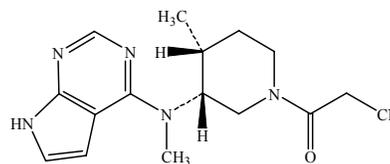


图 1 托法替尼的结构

Fig. 1 Structure of Tofacitinib

收稿日期: 2013-12-06

基金项目: 国家重大新药创制专项 (2011ZX09401-009)

作者简介: 王澳轩 (1987—), 男, 河北廊坊人, 硕士研究生, 主要从事药物合成研究。E-mail: hsxywax@163.com

*通信作者 刘冰妮 E-mail: liubn@tjpr.com

分子式: $C_{16}H_{20}N_6O$

相对分子质量: 312.37

原研公司: 美国辉瑞公司

药理分类: JAK3 抑制剂

适应症: 类风湿性关节炎、银屑病、胰腺病、白血病、骨髓增生异常综合征、强直性脊柱炎、移植排斥。

目前研发阶段: 已上市(类风湿性关节炎); III期临床(银屑病、移植排斥) 批准日期: 2012年11月6日(美国)

剂型: 薄膜包衣片剂

规格: 5 mg/片

用法用量: 2次/d, 5 mg/次

不良反应: 上呼吸道感染, 头痛, 腹泻和鼻咽炎等。警告和注意事项: 在活动性感染期间(包括局部感染及严重感染)禁用; 淋巴瘤和其他恶性病患者禁用; 胃肠道穿孔患者谨慎使用; 不应与活疫苗同时使用; 严重肝受损不建议使用。

2 作用机制

RA 是一种以慢性、对称性和进行性多关节炎为主要表现的全身性自身免疫病, 并以慢性侵蚀性关节炎为特征。早期表现为关节滑膜出现慢性炎症, 随后关节滑膜增生形成血管翳侵犯关节软骨, 对关节软骨、骨和关节囊造成破坏, 最终可导致关节强直和畸形, 功能严重受损。同时, RA 还可引起关节外病变, 如对皮肤、眼、肺、肝脏、肾脏、血液和心血管系统等造成破坏, 已成为世界公认的难治性疾病之一^[1]。RA 在世界各地的各个种族均有发病, 无明显地域性差异。RA 在我国的发病率为 0.26%~0.5%, 可发生于任何年龄, 但在 40~50 岁更为常见, 女性多发, 且有明显的家族遗传特点^[2]。我国有 500 多万名类风湿性关节炎患者, 全球范围内患者人数甚至高达 2 370 万。

目前, RA 的病因及发病机制均未得到明确证实, 一般认为与遗传、环境、感染等因素密切相关。研究表明, 某些抗原对于具有相应遗传特征的人群具有刺激敏感性, 从而引发此类人群的免疫应答反应, 进而导致机体发生病理性改变, 这也被认为是引起 RA 的一种可能^[2]。T、B 淋巴细胞和免疫分子(细胞因子、自身抗体等)会在 RA 患者的滑膜组织中出现异常增多现象, 说明这些物质可能与 RA 的发生和发展有关^[2]。

目前的治疗 RA 药物主要用来控制症状, 分别

为一线药物非甾体类抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs); 二线药物改善病情抗风湿药(disease modifying antirheumatic drugs, DMARDs)、生物制剂、糖皮质激素、植物药制剂等。其中, 改善病情抗风湿药广泛使用的有甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)、来氟米特(leflunomide, LEF)、柳氮磺胺吡啶(salicylazosulfapyriding, SASP)等。生物制剂类畅销药物包括依那西普(etanercept)、英夫利西单抗(infliximab)、阿达木单抗(adalimumab)等。

与多数 RA 治疗药物主要作用于细胞外靶点不同的是, 托法替尼以细胞内信号转导通路的蛋白激酶为靶点, 作用于细胞因子网络的核心部分^[3]。JAK/STAT 信号通路可以为多种细胞因子提供信号传导通路, 使其参与细胞的增殖、分化、凋亡以及免疫调节等重要的生物学过程。托法替尼能有效地选择抑制 JAK3, 同时对 JAK1、JAK2 也有抑制作用, 从而在细胞因子水平异常的体系中阻断 JAKs 介导的一系列细胞因子信号通路, 抑制异常免疫信号的传导, 有效控制 RA 病程, 对其他酪氨酸激酶抑制作用微弱, 能减小不良反应发生范围。

3 合成方法

以 4-氯-7H-吡咯并 [2, 3-d] 咪啉 (1) 为起始原料, 与对甲苯磺酰氯 (2) 进行氨基保护反应得到 4-氯-7-对甲苯磺酰基吡咯并 [2, 3-d] 咪啉 (3), 化合物 3 与 (3R, 4R)-1-苄基-4-甲基-3-甲胺基-哌啉 (4) 发生取代反应, 生成 N-[(3R, 4R)-1-苄基-4-甲基哌啉-3-基]-N-甲基-7-对甲苯磺酰基吡咯并 [2, 3-d] 咪啉-4-胺 (5), 化合物 5 经碱水解得到 N-[(3R, 4R)-1-苄基-4-甲基哌啉-3-基]-N-甲基-7H-吡咯并 [2, 3-d] 咪啉-4-胺 (6), 化合物 6 经催化氢解反应脱保护得到 N-[(3R, 4R)-4-甲基哌啉-3-基]-N-甲基-7H-吡咯并 [2, 3-d] 咪啉-4-胺 (7), 化合物 7 与氰乙酸乙酯进行酰胺化反应生成托法替尼^[4], 合成工艺见图 2。

4 药效及药动学研究

托法替尼是一种口服 JAKs 抑制剂, 体外抑制激酶 JAK1、JAK2、JAK3 的半数有效浓度 (IC₅₀) 分别为 3.2、4.1、1.6 nmol/L, 且在细胞实验中选择性抑制 JAK3 的能力比 JAK2 高 10 倍以上^[5]。托法替尼能与激活 T 细胞所必须的细胞因子 IL-2、4、7、9 等受体的 γ 共链相结合。此药物表现出对心脏移植术的小鼠动物模型有效, 体现了 T 细胞在移植排斥方面起至关重要的作用。此外, 托法替尼作用于

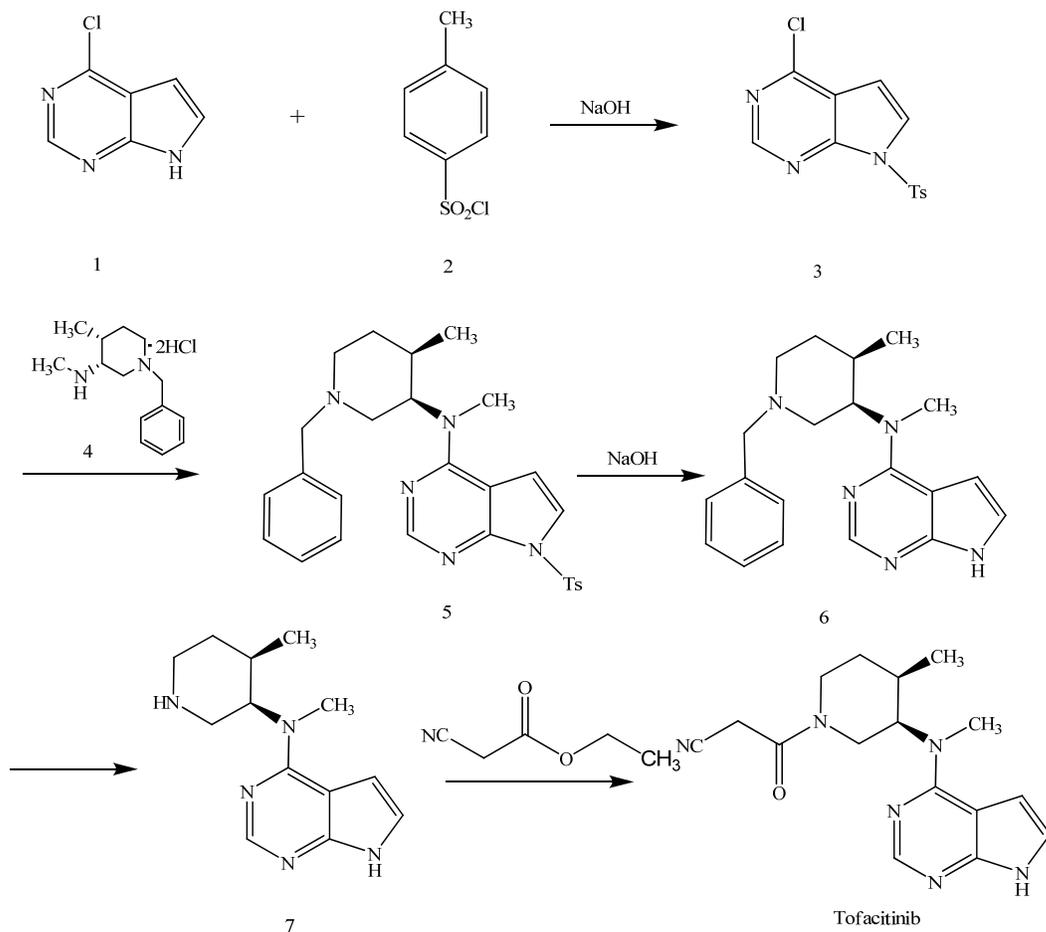


图 2 托法替尼的合成

Fig. 2 Synthesis of Tofacitinib

人单核细胞和滑膜细胞，能抑制 TNF、IFN- γ 、减少 IL-6 和趋化因子生成、T 细胞 CD₄ 的增殖^[6]。动物实验表明，该药治疗佐剂诱导的关节炎大鼠模型和胶原诱导的关节炎小鼠模型可使关节肿胀明显减轻，同时滑膜炎和软骨破坏均较对照组显著改善。托法替尼能降低鼠血清中的 IL-6、IL-8 水平，减少滑膜炎入侵软骨，起到抗炎及骨保护作用^[7]。在灵长类异体肾移植排斥反应模型中，托法替尼能使动物平均生存期显著延长，且与给药剂量正相关。给药组动物体内自然杀伤细胞、CD₄⁺和 CD₈⁺T 细胞数量显著下降，血糖、血压正常，没有发现癌变症状。在高剂量时给药组伴有贫血、肾炎和尿钙盐沉积等现象^[8]。

托法替尼在佐剂型关节炎鼠模型中血浆浓度半衰期是 0.9 h^[9]，对 P450 代谢酶基本无抑制或诱导效应，在体外药物浓度达到 25 $\mu\text{mol/L}$ 以上才能观

察到诱导效应，而用于体内治疗时的血药浓度小于 1 $\mu\text{mol/L}$ ^[10]。药物相互作用研究表明，托法替尼与甲氨蝶呤联用时在体内代谢没有显著差异，与氟康唑同服有血药浓度升高影响。体内毒性研究表明本品在代谢、血压、淋巴细胞增殖等方面无显著异常症状，有与剂量相关的贫血等血液方面的副作用，可能与同时抑制 JAK2 有关，JAK2 通路造血因子密切相关。

5 临床研究

辉瑞公司于 2009 年启动了托法替尼治疗 RA 的 III 期临床研究，覆盖了 35 个国家地区^[11]。一组双盲、安慰剂对照、单独使用托法替尼治疗成人中至重度 RA 临床研究纳入约 611 名对缓解病情抗类风湿关节炎药物无应答患者，随机分成 5、10 mg 组及安慰剂组，每天服药 2 次。3 个月后 ACR20 响应率(美国风湿学会的量表评分与基线比较改善 20%)

分别为 59.8%、65.7%、26.7%，ACR50 响应率分别为 31.1%、36.8%、12.5%。安全性方面与 II 临床研究结果一致。

在日本开展的一项双盲研究中利用托法替尼治疗对 MTX 无应答 RA 患者。140 名患者随机分为 1、3、5、10 mg 及安慰剂组，每天服药 2 次。根据美国风湿学会标准 ACR20 响应率在所有托法替尼治疗组都有明显效果。不良反应多数轻微至中等强度，常见的不良反应有胃痛、鼻咽炎、转氨酶及血脂升高等^[7]。

另一项 II 期临床研究 190 多位患有中度至重度斑块银屑病患者使用托法替尼治疗情况。到第 12 周，对银屑病损面积与严重程度指数 (psoriasis area and severity index, PASI) 降低 75% 的应答率在 2、5、15 mg 每天给药 2 次的治疗组中分别是 25.0%、40.8% 及 66.7%，而安慰剂组只有 2%，治疗组银屑病症状得到明显改善^[11]。

6 结语

目前对于 RA 的治疗着眼点主要是对其引起的炎症以及后遗症进行综合治疗，包括控制炎症进一步发展、减轻疼痛、防止关节畸形、保护并尽量恢复其功能。JAK 激酶作为一种非受体酪氨酸蛋白激酶 (PTK)，是炎症细胞因子网络信号传导中枢蛋白，其信号通路对 RA 相关细胞的促炎活性有调控作用。选择性高的 JAK 抑制剂已经成为治疗自身免疫性疾病药物研发的热点。托法替尼对于大部分其他激酶表现出的活性很低，却对于 JAK 激酶表现出选择抑制作用，从而可以有效地阻断 JAK/STAT 通路，达到治疗类风湿性关节炎等免疫疾病的目的。

目前较有前景的同类新药有比利时 Galapagos 公司研发的 JAK1 抑制剂 GLPG0634、Vertex 公司研发的 JAK3 抑制剂 VX-509 等，大多都处于 II 期临床研究阶段。与托法替尼不同，GLPG0634 是一种高度选择性的 JAK1 抑制剂，能更好地减少或避免不良反应，如贫血和高胆固醇。2012 年 2 月，雅培药厂以高达 13.5 亿美元的价格获得了 GLPG0634 的全球许可。因此，国内在进行同类新药研发时，应更注重开发选择性高的 JAKs 激酶抑制剂，满足临床需求。

近年新兴的 TNF 抑制剂如阿达木单抗、依那西普以及英夫利昔单抗等药物都是含有蛋白大分子的生物产品，这些药物只能通过静脉注射使用。作为可以口服的 JAK 抑制剂，托法替尼可以改变 RA 患者的用药方式，改善他们的生存质量。其他适应症如银屑病的 III 期数据也刚刚发布信息到达治疗终点，相信将很快申请上市。托法替尼作为口服信号传导抑制剂或许成为 RA 等免疫疾病治疗发展中的另一个新起点。

参考文献

- [1] 范 鸣. 抗类风湿性关节炎药 Tofacitinib [J]. 药学进展, 2011, 35(10): 480.
- [2] 张 群, 王竞秋. 类风湿性关节炎发病机制与临床治疗的研究进展 [J]. 内蒙古中医药, 2013(21): 148-149.
- [3] Kunihiro Y, Satoshi K, Koshiro S, *et al.* JAK inhibitor: tofacitinib, a new disease modifying anti-rheumatic drug [J]. *Inflamm Regener*, 2011, 31(4): 349-353.
- [4] 张仲奎, 匡春香. Tofacitinib 的合成 [J]. 中国医药工业杂志, 2013, 44(4): 321-323.
- [5] Vijaykrishnan L, Venkataramanan R, Gulati P. Treating inflammation with the janus kinase inhibitor CP-690550 [J]. *Trends Pharm Sci*, 2011, 32(1): 25-34.
- [6] Miossec P. Kinase inhibition in rheumatoid arthritis: a big advance? [J]. *Lancet*, 2013, 381: 429-431.
- [7] Tanaka Y, Maeshima K, Yamaoka K. *In vitro* and *in vivo* analysis of a JAK inhibitor in rheumatoid arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72(1): 156.
- [8] Borie D C, Changelian P S, Larson M J, *et al.* Immunosuppression by the JAK3 inhibitor CP-690, 550 delays rejection and significantly prolongs kidney allograft survival in nonhuman primates [J]. *Transplantation*, 2005, 79(7): 791-801.
- [9] Balague C, Pont M, Prats N, *et al.* Profiling of dihydroorotate dehydrogenase, p38 and JAK inhibitors in the rat adjuvant-induced arthritis model: a translational study [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 166(4): 1320-1332.
- [10] Gupta P, Alvey C, Wang R, *et al.* Lack of effect of tofacitinib (CP-690, 550) on the pharmacokinetics of the CYP3A4 substrate midazolam in healthy volunteers: confirmation of *in vitro* data [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2012, 74(1): 109-115.
- [11] Tofacitinib [J]. *Drugs R D*, 2010, 10(4): 271-284.