

ROR γ t 反向激动剂用于自身免疫性疾病治疗的研究进展

鲁丽雪, 王永辉*

(复旦大学药学院药物化学系, 上海 201203)

摘要 视黄酸受体相关孤儿受体 ROR γ t 作为 Th17 细胞特异性转录因子可诱导 Th17 细胞的分化以及炎症因子 IL-17 等的产生, 在炎症和自身免疫性疾病等病症的发生和发展过程中发挥着重要作用。近年来 ROR γ t 反向激动剂已成为学术界乃至国际制药公司研究的热点领域。目前已报道多种骨架结构类型, 包括正构位点反向激动剂和变构位点反向激动剂。本文通过介绍 ROR γ t 的结构与功能, 并对处于临床和临床前研究中的一些 ROR γ t 反向激动剂进行综述, 以期 ROR γ t 反向激动剂的进一步研究与开发提供参考。

关键词 自身免疫性疾病; Th17 细胞; ROR γ t 反向激动剂

中图分类号 R914; R593 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2024)01-0087-16

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023121303

引用本文 鲁丽雪, 王永辉. ROR γ t 反向激动剂用于自身免疫性疾病治疗的研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(1): 87–102.

Cite this article as: LU Lixue, WANG Yonghui. Progress in discovery of ROR γ t inverse agonists for the treatment of autoimmune diseases[J]. *J China Pharm Univ*, 2024, 55(1): 87–102.

Progress in discovery of ROR γ t inverse agonists for the treatment of autoimmune diseases

LU Lixue, WANG Yonghui*

Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China

Abstract As a Th17 cell-specific transcription factor, retinoic acid receptor-related orphan receptor γ t (ROR γ t), can induce differentiation of Th17 cells and production of inflammatory factor IL-17, playing an important role in inflammation and autoimmune diseases. ROR γ t inverse agonists have become a research hotspot in both academia and pharmaceutical companies around the world in recent years, with great development potential. A variety of skeletal structure types have been reported, including orthosteric and allosteric inverse agonists. In this paper, the structure and functions of ROR γ t are introduced, and ROR γ t inverse agonists in clinical and preclinical studies are reviewed in order to provide reference for further research and development of ROR γ t inverse agonists.

Key words autoimmune diseases; Th17 cells; ROR γ t inverse agonists

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81874287); and Shanghai Bio-pharmaceutical Science and Technology Supporting Plan (No.19431900100)

免疫系统对于人体健康至关重要。自身免疫性疾病, 如银屑病、炎症性肠病、多发性硬化症及类风湿性关节炎等, 是一类机体对自身抗原发生免疫反应而损害自身组织的疾病, 具有发病机制复杂、

诱因众多、病程持久等特点, 极大增加了临床有效药物的开发难度, 银屑病甚至被称为“不死的癌症”。近年来, 越来越多的研究表明炎症因子 IL-17 的过量产生促进自身免疫性疾病的发生, 因此针对减

收稿日期 2023-12-13 *** 通信作者** Tel: 021-51980118 E-mail: yonghuiwang@fudan.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金项目 (No.81874287); 上海市生物医药科技支撑计划项目 (No.19431900100)

少 IL-17 产生的治疗方案不断涌现并取得了较好的疗效^[1-2]。2015 年, IL-17a 单克隆抗体 secukinumab 获 FDA 批准上市, 用于治疗成人的中重度斑块状银屑病^[3]。随后, ixekizumab(2016 年)^[4]、brodalumab(2017 年)^[5] 和 bimekizumab(2020 年)^[6] 相继上市。以此为契机, 视黄酸受体相关孤儿受体- γ t(ROR γ t) 作为 IL-17 生成的关键转录因子, 其小分子抑制剂用于治疗自身免疫性疾病的可行性也得到了充分的理论验证。

1 核受体 ROR γ t

核受体(nuclear receptors, NRs)超家族负责编码数量庞大的转录因子, 在代谢炎症反应、昼夜节律等类重要生理过程中发挥关键的调节作用^[7]。视黄酸相关孤儿受体(ROR)属于配体依赖的转录因子核受体超家族的一员, 包括 ROR α 、ROR β 和 ROR γ 3 种亚型。其中 ROR α 表达于多种器官中, 在脑组织中表达水平最高, 与炎症反应和抗肿瘤等相关^[8-10]; ROR β 表达在大脑及视网膜的某些区域, 对于该亚型受体的作用研究较少, 部分报道显示其在哺乳动物远程神经元的连接和分化过程中起到关键作用^[11-12]; ROR γ 主要表达于胸腺、胰腺和肝等器官, 其中胸腺特异性表达的 ROR γ 称为 ROR γ t, 在免疫功能中发挥重要作用^[13-14]。

1.1 ROR γ t 结构

ROR γ t 由可变的 N-端区域(A/B 区, N-terminal domain, NTD)、DNA 结合域(C 区, DNA-binding domain, DBD)、铰链区(D 区)以及 C-端的配体结合域(E/F 区, ligand-binding domain, LBD)四部分构成^[15](图 1)。A/B 结构区位于 ROR γ t 蛋白氨基末端, 含有非配体依赖的活性功能区 1(activation function 1, AF1), 该功能区对于不同亚型的 DNA 结合特异性具有重要作用^[16]。C 结构区是高度保守的 DNA 结合区(DBD), 其中包含两个半胱氨酸丰富的锌指结构, 分别起到识别核心基序以及结合 DNA 响应元件(ROR γ genomic DNA response element, RORE)中 5'-AT 富集区域的作用, 决定了 DNA 的结合活性^[13]。D 结构区是一段相对短小的柔性铰链区, 上承 C 端的 DBD, 下接 E/F 端的 LBD。位处于羧基末端(C 端)的 E/F 区是由 12 个 α 螺旋(H1-H12)以及两个 α 螺旋(H2'和 H11')以及 2~3 个 β 折叠构成的 3 层折叠结构。该区域具有一段 LBD 配体依赖的

活性功能区 2(activation function 2, AF-2), 其可以通过采取不同的构象与配体结合, 来招募/排斥共刺激因子或共抑制因子来调控下游靶基因的转录^[17]。因此, LBD 区域的结构改变决定了 ROR γ t 蛋白的转录功能。当 ROR γ t 反向激动剂结合时, AF2 可以通过抑制共刺激因子的招募或增加共抑制因子的招募, 起到减少 IL-17 生成的作用。

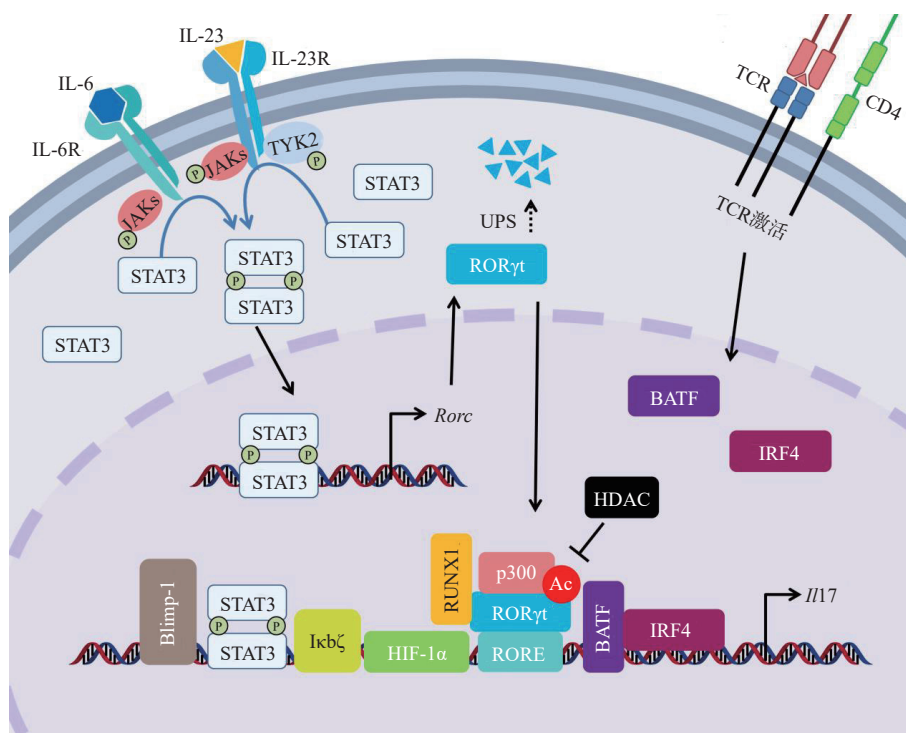


图 1 视黄酸相关孤儿受体 γ t(ROR γ t) 的结构

NTD: N-端区域; DBD: DNA 结合域; LBD: 配体结合域

1.2 ROR γ t 生物学功能

ROR γ t 位于经典的 JAK-STAT3 信号通路, 其转录活性会受基因表达调控及泛素化/乙酰化修饰影响。在其转录过程中, 首先酪氨酸激酶(JAKs)接收细胞因子 IL-23 或 IL-6 的信号, 招募并磷酸化转录因子 STAT3, 使其以二聚体形式进入细胞核与 *Rorc* 基因结合, 调控 ROR γ t 蛋白的转录过程(图 2)。翻译生成的 ROR γ t 若被肿瘤坏死因子关联因子 5(TrAF5)、Itchy E3 泛素蛋白连接酶(ITCH)、泛素 E3 蛋白连接酶组分 N 端识别蛋白(UBR5)等 E3 连接酶泛素化识别标记, 进入泛素-蛋白酶体系统(UPS)途径降解, 亦或是在组蛋白去乙酰化酶(HDAC)的作用下去乙酰化, 则无法发挥转录活性^[18]。与之相反, ROR γ t 蛋白若是由组蛋白乙酰化酶 p300 等乙酰化修饰, 则可以稳定结合于 *Il17a* 基因座, 开启 IL-17 的转录过程^[19]。在 IL-17 的转录过程中, 首先由 T 细胞受体接受提呈的抗原, 活化 T 细胞。紧接着干扰素调节因子 4(IRF4)与碱性亮氨酸拉链转录因子(BATF)在 T 细胞活化过程早期打开染色质, 缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)直接结合 ROR γ t, 招募 p300 乙酰化 ROR γ t 蛋白。同时在核因子 κ B 抑制因子 ζ (I κ B ζ)、人类相关转录因子 1(RUNX1)等转录因子的辅助下, ROR γ t 发挥转录活性, 产生 IL-17^[20]。因上述调节过程, ROR γ t 被认为是 Th17 细胞分化和 IL-17 产生过程的重要转录因子。Th17 细胞及其释放的炎性因子 IL-17 在银屑病、类风湿性关节炎及炎性肠病等自身免疫性疾病的发生发展中起到关键性作用^[21-22]。因此抑制 ROR γ t 可降低 Th17 细胞的分化以及 IL-17 的产生, 从而起到治疗自身免疫性疾病的目的, 是当前自身免疫性疾病药物研发的热点领域。

图 2 ROR γ t 的生物学功能

BATF: 碱性亮氨酸拉链转录因子; JAKs: 酪氨酸激酶; HDAC: 组蛋白去乙酰化酶; HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α ; IL: 白介素; IRF4: 干扰素调节因子 4; I κ b ζ : 核因子 κ B 抑制因子 ζ ; RUNX1: 人类相关转录因子 1; STAT3: 信号转导因子和转录激活因子 3; TRAF5: 肿瘤坏死因子关联因子 5; UBR5: 泛素 E3 蛋白连接酶组分 N 端识别蛋白; UPS: 泛素-蛋白酶体系统

2 处于临床研究阶段的 ROR γ t 反向激动剂

ROR γ t 抑制剂的发展过程起源于 T0901317(1) 的发现。该化合物最初被定义为一种有效的肝脏 X 受体 (liver X receptor, LXR) 激动剂, 随后被报道具有 ROR γ 反向激动活性(图 3)^[23]。在 ROR γ Gal4 测试中, T0901317 可作为 ROR γ (IC₅₀ = 1.7 μ mol/L) 和 ROR α (IC₅₀ = 2.0 μ mol/L) 的双重反向激动剂。后续发现的 SR2211(ROR γ Gal4, IC₅₀ = 0.32 μ mol/L) 和 SR1555(ROR γ Gal4, IC₅₀ = 1.5 μ mol/L) 均是没有 LXR 活性的 ROR γ 选择性反向激动剂^[24], 且 SR2211 在小鼠胶原诱导性关节炎(collagen-induced

arthritis, CIA)模型中显示出体内药效^[25]。

此后, 有关 ROR γ t 小分子反向激动剂的专利或文献被大量报道。截至 2023 年 11 月, 共有 3 个候选药物处于临床试验阶段, 其中有 2 个候选药物处于临床 II 期, 1 个候选药物处于临床 I 期, 适应证均为银屑病(表 1)。

表 1 用于自身免疫疾病治疗的 ROR γ t 反向激动剂临床研究现状

药物名称	全球状态	原研公司	适应证
BI730357	临床 II 期	Boehringer Ingelheim	银屑病
AUR-101	临床 II 期	Dr. Reddy's Lab	银屑病
SAR-441 169	临床 I 期	Lead Pharma	银屑病

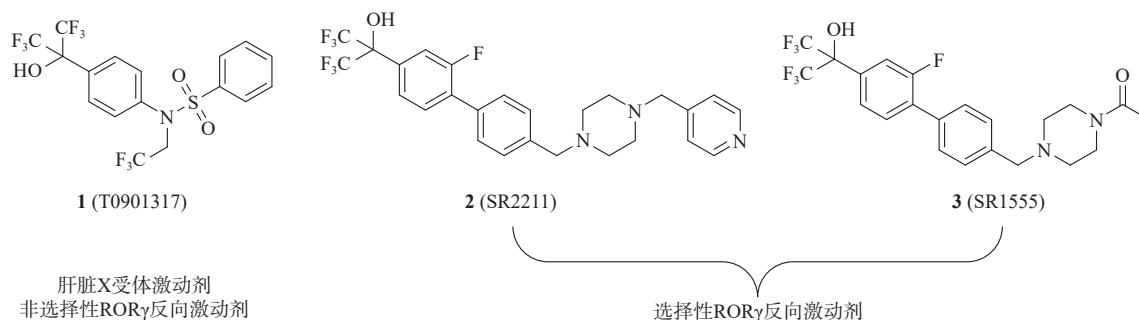


图 3 化合物 1(T0901317)、2(SR2211)和 3(SR1555)的结构

3 临床终止或无进展的 ROR γ t 反向激动剂

除了上述处于临床研究中的 ROR γ t 反向激动剂之外,还有很多化合物因各种原因相继在临床研究阶段宣告终止或暂停研发。JTE-151 是由日本烟草公司(Japan Tobacco)研发的 ROR γ t 抑制剂(图 4)。该化合物早在 2013 年 8 月开始 I 期临床试验,用于治疗超敏反应和自身免疫性疾病,2016 年宣布 I 期临床终止。随后将 JTE-451 推向临床,于 2020 完成了银屑病的 II 期临床研究,但至今未公布任何进展。JTE-761 继而进入 I 期临床,但迄今为止尚无任何研究进展被披露。ESR-114(Escalier Biosciences)从 2018 年 8 月开始,以外用凝胶形式在患者中开展 I/II a 期临床试验,并于 2019 年 6 月完成试验,但至今未更新进展^[26]。

由葛兰素史克公司研发的 GSK 2981278 通过局部用药治疗银屑病(图 4)。尽管其具有很好的临床前效果,但 15 名患者经 19 d I 期治疗后未显示出疗效。推测可能是由于靶部位的药物暴露量不足,治疗区域太小,或者通常需要全身性抑制等。因此, GSK 2981278 的 I 期临床试验已终止。阿斯利康研发的化合物 AZD-0284 在 I a 期单剂量递增(SAD)和多剂量递增(MAD)研究中,实现了高度

的 ROR γ 全身抑制。该药耐受性良好,无安全性问题,支持进一步的临床开发。然而,斑块型银屑病患者(NCT03310320)为期 4 周的 I b 期研究于 2018 年 4 月暂停。PF-06763809 是由辉瑞与 Karo Bio 合作研发的 ROR γ t 反向激动剂。局部应用 PF-06763809 的 I 期研究于 2019 年 3 月完成,共有 17 名参与者。结果发现该药在银屑病患者中具有良好的耐受性和可接受的安全性,但没有减少皮肤浸润厚度或疾病的生物标志物。之后,该化合物没有再公布任何临床研究进展。

VTP-43742(vimirogant)在体外 ROR γ 结合实验(ROR γ IC₅₀ = 3.7 nmol/L)和细胞实验(Gal4 IC₅₀ = 17 nmol/L)中表现出有效抑制作用,对其他 ROR 亚型的选择性超过 1000 倍^[27]。15 mg/kg(*b.i.d., po*)给药时小鼠实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)模型有效。然而,该分子具有高亲脂性(logD 为 7.4, 大于 4),低溶解度(17 μ mol/L)和高人血浆蛋白结合率(游离物仅 0.5%)的缺点。针对银屑病患者患者的 II a 期临床试验显示,治疗 4 周后,该化合物相比于安慰剂组可以减轻银屑病严重程度指数(PASI)。然而,在治疗过程中观察到,700 mg 给药剂量组的患者肝酶水平升高,预示 VTP-43742 存在安全隐患。果不其然,在银屑病患者体内持续 16 周给药,

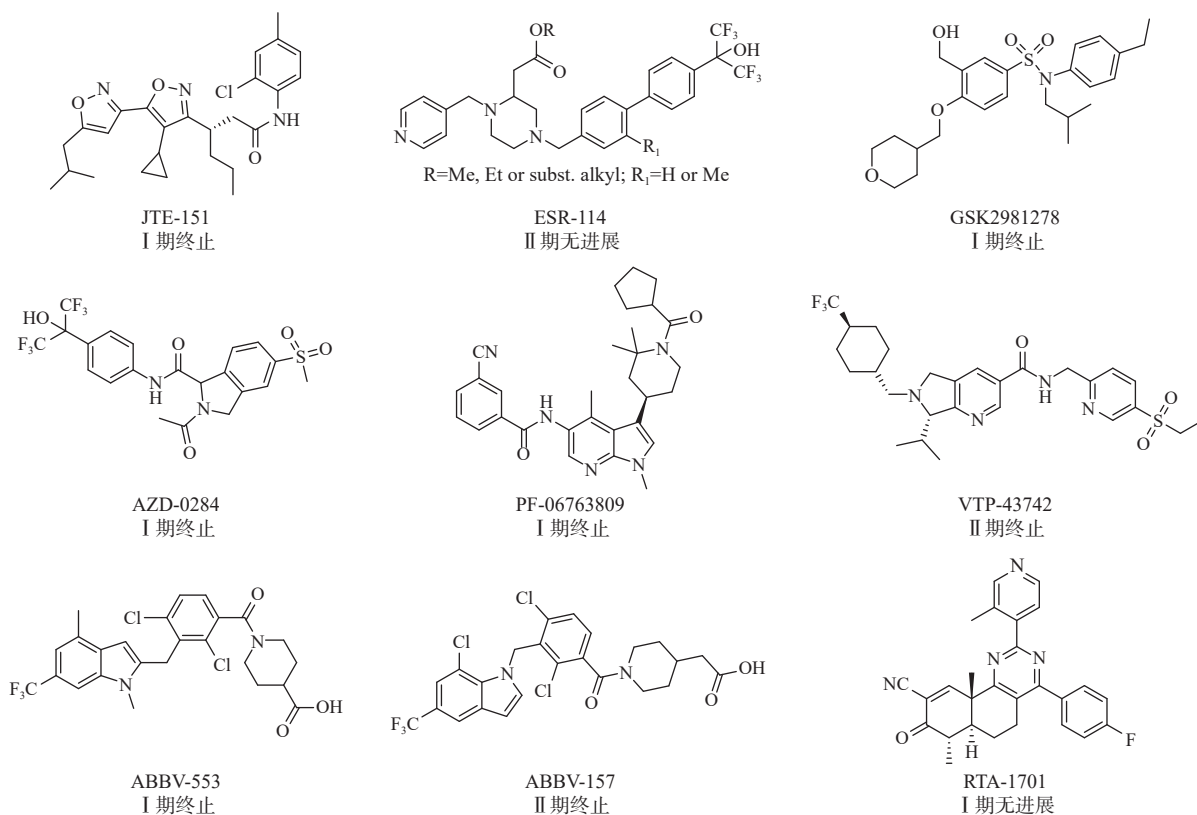


图 4 临床终止或无进展的 ROR γ t 反向激动剂

最终因安全性问题宣布终止 II 期临床研究。艾伯维公司(AbbVie)推上临床的第 1 个 ROR γ t 反向激动剂 ABBV-553 也由于安全性问题于 2017 年 8 月终止。后续的 ABBV-157(cedirogant)在 2021 年 4 月完成了为期 28 d 的斑块型银屑病的 I b 期临床试验。同年 9 月开展 II 期临床研究,但根据一项非临床毒理学研究结果,于 2022 年 10 月宣布终止了该化合物的后续临床研究。由 Reata 制药公司开发的 RTA-1701 是唯一曾进入 I 期临床试验的 ROR γ t 变构反向激动剂,用于治疗自身免疫性和炎症性疾病,在类风湿性关节炎和多发性硬化症动物模型中显示出显著的疗效^[28]。在 2019 年 6 月完成 I 期临床试验后,未公布任何临床研究进展。

4 处于临床前研究阶段的 ROR γ t 反向激动剂

鉴于 ROR γ t 在 Th17 细胞分化中的关键作用, ROR γ t 被认为是 IL-17 介导的自身免疫性疾病潜在的治疗靶点,其小分子抑制剂最近几年已成为学术界乃至国际制药公司研究的热点领域。尽管部分候选化合物终止于临床研究的各个阶段,依然有很多制药公司和研究组对该靶标进行大量的研究工作。目前针对该靶标的抑制剂的开发主要包括正构位点反向激动剂和变构位点反向激动剂。

4.1 正构位点反向激动剂

正构位点是由螺旋 H3、H5、H6、H7、H11 和 H12 组成,之所以被称为正构位点,是因为其也是内源性配体的结合位点。天然产物地高辛和熊果酸是最初文献报道的 ROR γ t 的选择性抑制剂,腹腔给药可以改善小鼠的实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)。随后,越来越多的具有不同骨架结构的小分子 ROR γ t 反向激动剂被发现。

4.1.1 芳基酰胺类 2014 年, GSK 公司通过高通量筛选得到了具有噻唑胺母核的化合物 **4**(图 5)。随后通过对化合物 **4** 中噻唑环上的两个取代基以及右侧极性片段的构效关系研究,发现了具有高活性的噻唑酮酰胺 **4a**[荧光共振能量转移(FRET) pIC₅₀ = 7.8; Th17 pIC₅₀ = 6.7] 和噻吩酮酰胺 **4b**(FRET pIC₅₀ = 7.9; Th17 pIC₅₀ = 7.8)^[29]。化合物 **4a** 经口给药可以明显改善小鼠 EAE 模型和 CIA 模型的症状。在此基础上,进一步优化发现了化合物 **4c**, 其同样表现出优异的 ROR γ t 和 Th17 细胞分化的抑制活性。同时,该化合物具有良好的小鼠肝微粒体稳定性,清除率小于 0.36 mL/(min·g)^[30]。

虽然上述化合物具有很好的 ROR γ t 体外活性,但是由于其结构中的噻唑/噻吩酮结构,导致了它们的口服生物利用度和中枢神经系统(CNS)渗透性较差,进而限制了它们经口治疗多发性硬化症(MS)的药物开发。因此,将化合物 **1** 结构中的噻唑母核替换为苯环,得到了联芳基酰胺类化合物 **5**, ROR γ t 抑制活性提高了一个数量级,并且药物血脑比(B_r/B_i)达到了 2 倍。通过对化合物 **5** 母核中两个苯环的结构修饰以及右侧苯磺酰基片段的优化得到了化合物 **5a** 和 **5b**, 二者表现出相似的 ROR γ t 活性和 CNS 渗透性。化合物 **5b** 的口服生物利用度达到了 100%, 经口给药后可以剂量依赖性地改善 EAE 小鼠的临床指标^[31]。而化合物 **5a** 由于其更出色的体外活性,用作 ROR γ t 生物研究的工具化合物^[32]。基于化合物 **5a**, 本课题组通过对其中间连接基因(linker)部分, 右侧片段和左边片段进行优化, 得到化合物 **6**。该化合物表现出有效的 ROR γ t 抑制活性(FRET IC₅₀ = 63.8 nmol/L; Gal4 IC₅₀ = 85 nmol/L)。此外, 相比于先导化合物 **5a**, 化合物 **6** 的溶解度有显著提升(100 μ g/mL vs 1.25 μ g/mL), 在小鼠银屑病模型上表现出体内药效^[33]。利用化合物 **5a** 与 Takeda 专利的化合物(专利中实施例 14)拼合^[34], 得到了化合物 **7a**, 其表现出中等的抑制活性。进一步对该化合物进行构效关系研究, 发现了活性提高的化合物 **7b**, 在 FRET 实验和小鼠 Th17 细胞分化实验中均具有良好的 ROR γ t 抑制活性, 并且在小鼠肝微粒体中具有一定的代谢稳定性^[35]。

GSK 公司通过对噻唑化合物 **4** 进行系统的结构优化, 发现了新骨架类型的叔胺类 ROR γ t 反向激动剂 **8a**, 其体外抑制 FRET 的 IC₅₀ 为 25 nmol/L, 明显优于化合物 **4**, 同时可以抑制 Th17 细胞的分化(IC₅₀ = 320 nmol/L)^[36](图 6)。进一步, 对化合物 **8a** 的含氨基的 linker 进行 SAR 研究, 得到化合物 **8b**, 其活性与化合物 **8a** 相近。使用刚性的吡啶环代替 **8b** 中的苯胺基团, 得到化合物 **8c**, 其 FRET 和 Th17 分化抑制活性相较于化合物 **8a** 均有明显提升。说明相比于苯环, 吡啶环能更有效地破坏 AF2 结构域。其中, 4-卤代苯环和双卤代苯环取代的化合物活性最高, 化合物 **8d** 抑制 FRET 的 IC₅₀ 为 6 nmol/L, 抑制 Th17 细胞分化的 IC₅₀ 达到 9 nmol/L, 相比于化合物 **8a** 的活性提高了超过 30 倍。

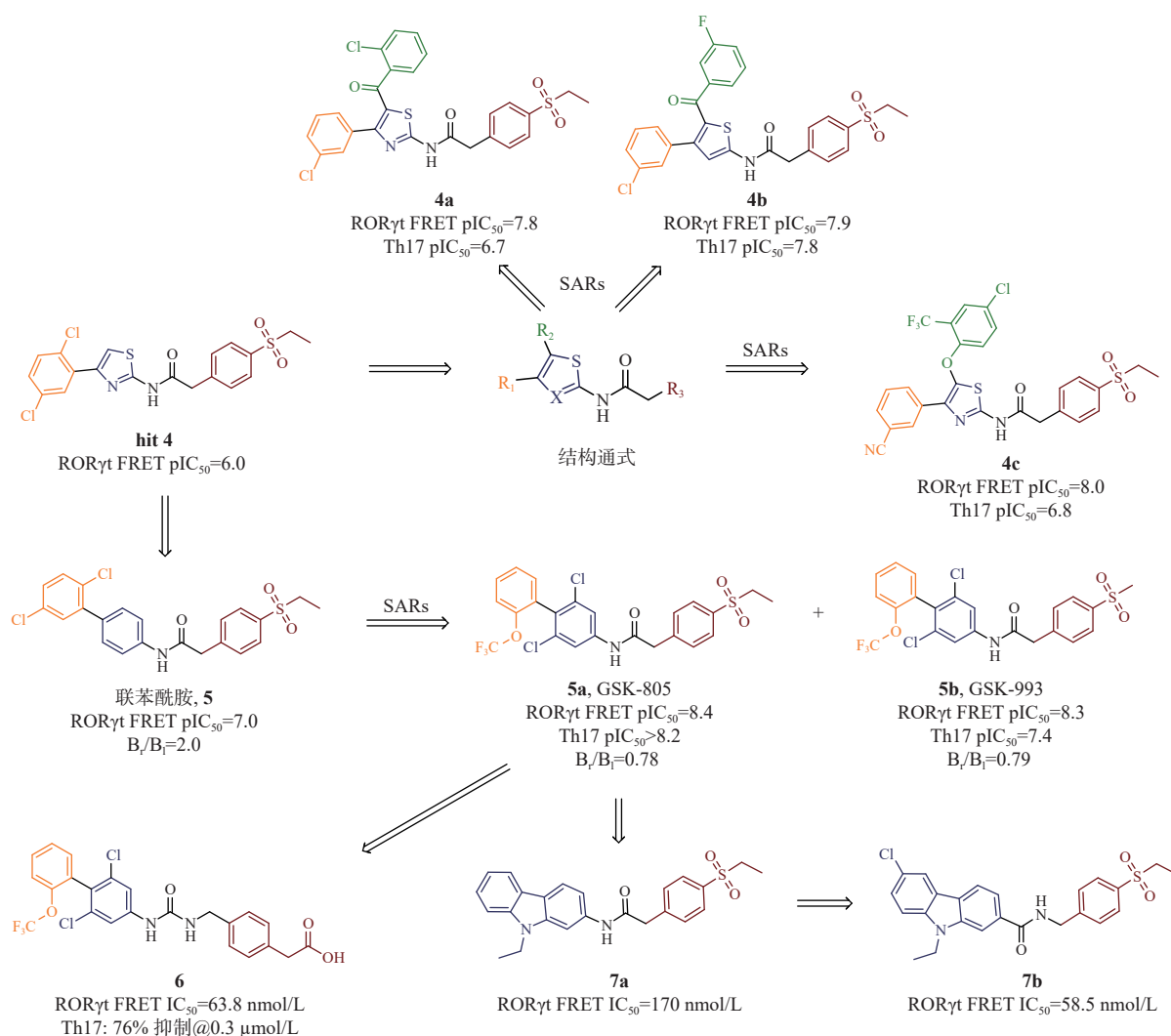
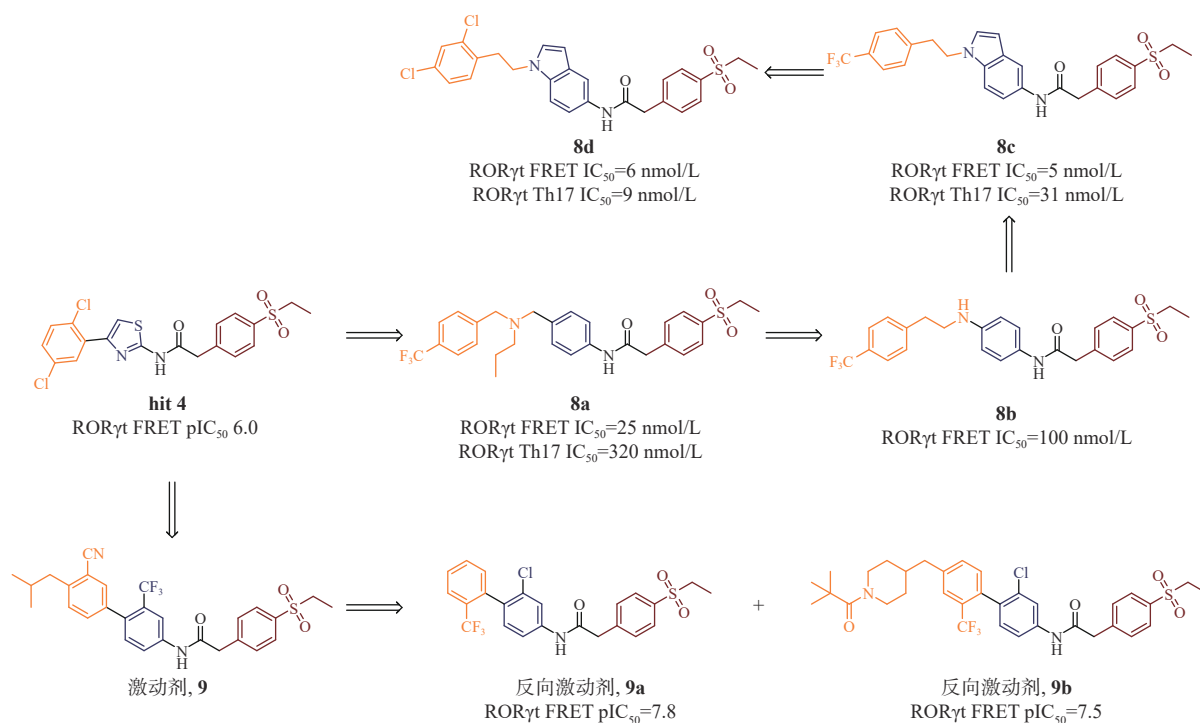
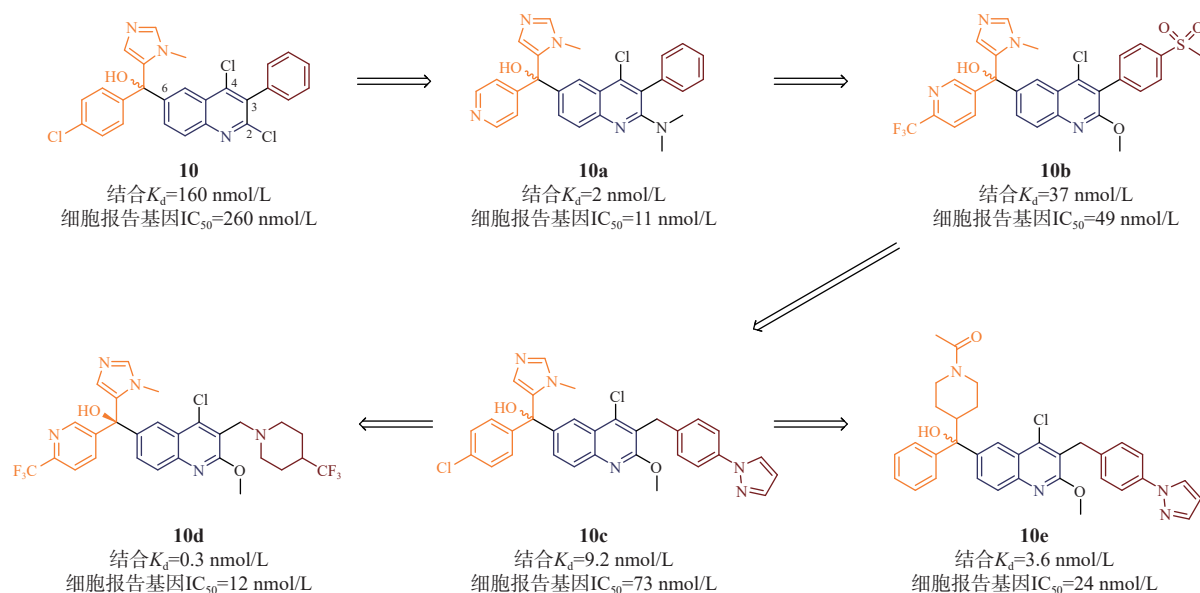


图 5 噻唑/噻吩酰胺、联苯酰胺、联芳基脲和咪唑酰胺类 ROR γ t 反向激动剂的发现及优化过程

同时,在化合物 **4** 的优化过程中意外发现了联芳基酰胺类化合物 **9**, 其表现为 ROR γ t 激动活性^[37]。共晶结构(PDB: 5YP6)分析化合物的结合模式发现, 结构中的磺基可以与 Leu287 和 Arg367 形成氢键作用, 酰胺 linker 的 NH 与 Phe377 形成氢键, 而羰基则通过水分子与 His323 形成氢键作用网络, 同时结构中的 3 个苯环可以与 Phe377、Phe378、Phe388 形成 π - π 堆积作用。结构中的异丁基位于靠近 AF2 的疏水口袋, 起到了稳定 AF2 的作用, 从而发挥激动活性。对化合物 **9** 进行结构改造, 发现的化合物 **9a** 由激动剂变成了“短”反向激动剂, 而化合物 **9b** 由激动剂变成了“长”反向激动剂。这一研究表明, 通过调整化合物在 AF2 口袋附近的官能团大小, 可以实现激动剂和反向激动剂的功能转换, 这为 ROR γ t 调节剂的发现提供了参考。

4.1.2 喹啉、喹唑啉酮和四氢异喹啉类 化合物 **10** 是 Janssen 制药公司通过高通量筛选得到的具有 ROR γ t 抑制活性的苗头化合物, 热荧光法 K_d 为 160 nmol/L^[38](图 7)。随后, 为建立喹啉类母核化合物的 SAR, 对其 C-2、C-3、C-4、C-6 位进行了系统的结构修饰^[38-40]。首先针对 C-2 和 C-4 位的 SAR 研究表明, 保留 C-4 上的氯原子, 用吸电子基团(如三氟甲基)或给电子基团(如甲氧基或二甲氨基)替代 C-2 上的氯原子, 可以提高其完全反向激动活性。由此发现了消旋化合物 **10a**, 其 K_d 为 2 nmol/L, 相较于化合物 **10** 活性提高了 80 倍^[38]。进一步研究喹啉母核的 C-3 取代基, 发现含有 4-(甲基磺酰基)苯基的化合物 **10b** 显示出良好的结合亲和力(K_d = 37 nmol/L)。为了增加与 LBD 的 H10-H12 之间的相互作用, 在喹啉母核 C-3 位苯基的对

图 6 芳基酰胺类、吡唑酰胺类和联芳基酰胺类 ROR γ t 反向激动剂的发现及优化过程图 7 喹啉类 ROR γ t 反向激动剂的发现及优化过程

位引入吡唑-1-基, 得到的化合物 **10c** 在 ROR γ t 细胞实验中表现为有效的反向激动活性, IC₅₀ 为 73 nmol/L^[38]。当化合物 **10c** 的 4-(吡唑-1-基) 苄基替换为饱和的 4-三氟甲基哌啶-1-甲基时, 所得化合物 **10d** 的结合亲和力和 ROR γ t 反向激动活性显著提高, IC₅₀ 分别达到 0.3 nmol/L 和 12 nmol/L^[40]。对于 C-6 位的结构修饰发现, 将咪唑环替换为 1-乙

基-4-哌啶基后, 所得化合物 **10e** 的 ROR γ t 反向激动活性相较于化合物 **10c** 也有一定的提高^[39]。

除了喹啉系列外, 喹啉酮、四氢喹啉以及四氢异喹啉类 ROR γ t 反向激动剂也有报道。化合物 **11a** 属于喹啉酮类 ROR γ t 反向激动剂^[41](图 8)。该化合物的体外活性优异, 口服给药可以降低 EAE 大鼠模型中淋巴结 IL-17a mRNA 的表达水平。基

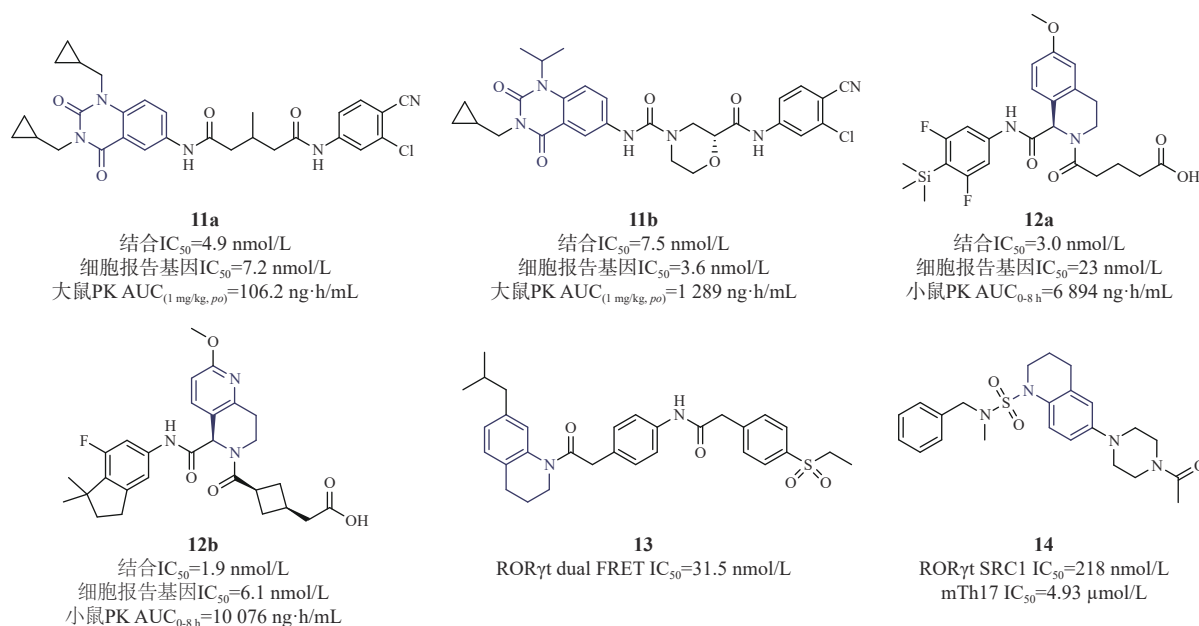


图 8 唑啉酮、四氢唑啉及四氢异唑啉类 RORγt 反向激动剂结构

于该化合物进行构象限制及结构优化,得到抑制活性保持的化合物 **11b**(*R* 构型)^[42]。相比于化合物 **11a**, **11b** 经 1 mg/kg 灌胃给药后大鼠体内的暴露量提高 10 倍以上,达到了 1289 ng·h/mL。30 mg/kg 灌胃给药后可显著降低 IL-17a mRNA 的表达水平(相比于对照组降低 59%)。化合物 **12a** 属于四氢异唑啉类衍生物,其具有优异的 RORγt 反向激动活性和良好 PK 性质^[43]。在 IL-23 诱导的基因表达实验中,灌胃给药后可剂量依赖性地抑制 IL-17A 的产生。为降低化合物 **12a** 的 LogD, 替换掉结构中的三甲基硅基,再经优化得到的化合物 **12b**,表现出提高的体外 RORγt 抑制活性和 PK 性质,可有效改善小鼠 EAE 模型的临床症状^[44]。化合物 **13** 是课题组发现的四氢唑啉类 RORγt 反向激动剂,其抑制 RORγt 的 IC_{50} 为 31.5 nmol/L^[45]。化合物 **14** 是复旦大学付伟教授课题组发现的一类 *N*-磺酰胺四氢唑啉类 RORγt 反向激动剂^[46]。虽然该化合物的体外抑制活性不强,但在 IMQ 诱导的小鼠银屑病模型上具有体内药效和安全性。

4.1.3 三环类 化合物 **15** 是百时美施贵宝(BMS)发现的先导化合物,其口服生物利用度达到 100%,并在 IL-23 诱导的棘皮炎小鼠模型上表现出优异的药效,但缺点是其 RORγt 抑制活性偏弱, RORγt Gal4 IC_{50} 为 119 nmol/L^[47](图 9)。利用构象限制策略,得到了三环类化合物 **15a**,其不仅在 RORγt

Gal4 和 IL-17 hWB 实验中体现出很好的活性, IC_{50} 分别为 7 nmol/L 和 19 nmol/L,同时其在多个种属的肝微粒体中的代谢稳定性均大于 120 min^[48]。进一步对羧酸部分进行优化,得到的化合物 **15b** 具有与化合物 **15a** 相似的体外活性、代谢稳定性及更优异的 PK 性质,在 IL-23 诱导的银屑病模型上具有优异的体内药效。对化合物 **15b** 进行改造,得到化合物 **15c**,其活性和代谢稳定性基本保持^[49]。通过对化合物 **15a** 的结构优化,得到了 BMS 公司的第 1 个 RORγt 反向激动剂类临床候药物 BMS-986251 (**15d**),化合物 **15d** 在小鼠自身免疫性疾病模型(如 IL-23 诱导的棘皮炎和 IMQ 诱导的银屑病模型)上均体现出显著体内药效^[50]。

通过对 BMS-986251 进行构效关系研究,得到的化合物 **15e** 是一个有效的、选择性的 RORγt 反向激动剂,但该化合物水溶性较差^[51]。为改善水溶性,通过侧链中的羟基,制备了化合物 **15e** 的磷酸盐前药。该前药具有良好的溶解性和体内暴露量,并在小鼠银屑病模型中表现出显著的疗效。BMS-986313(**15f**)作为 BMS-986251 的衍生物,在小鼠自身免疫性疾病模型上表现出与化合物 **15d** 相当的体内药效^[52]。

4.1.4 磺酰胺类 化合物 **16** 是通过高通量筛选得到的 RORγ 反向激动剂,分子中含有磺酰胺结构。该化合物在 RORγ 放射性结合实验(监测 [^3H]-25-

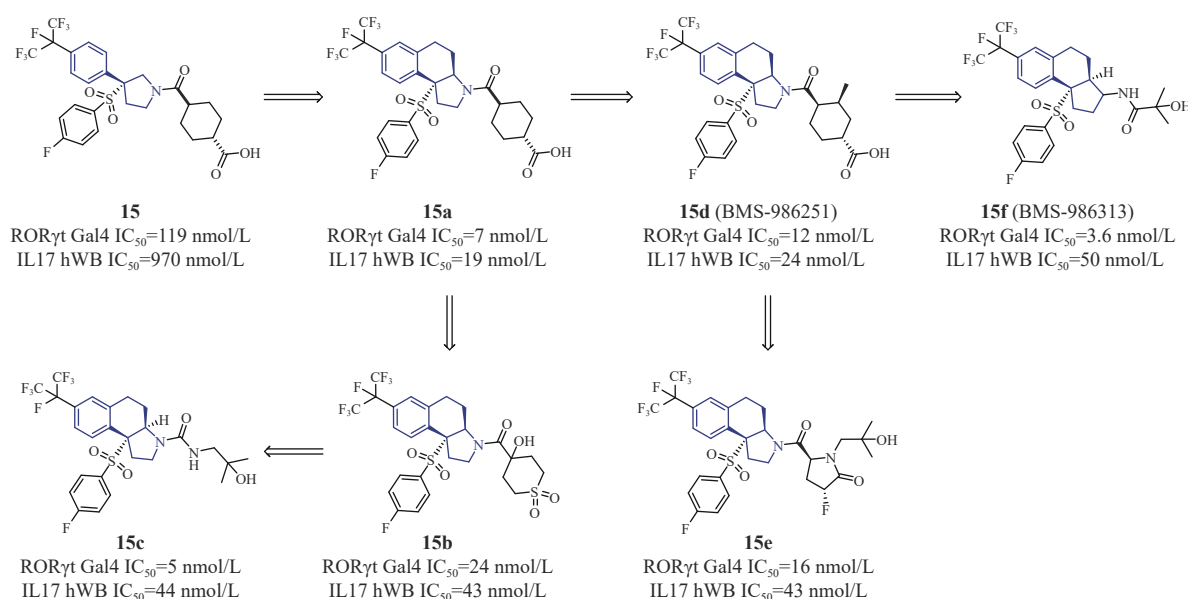


图 9 三环类 ROR γ t 反向激动剂的发现及优化过程

羟基胆固醇)和 ROR γ SRC-1 测试实验中的 IC₅₀ 分别为 370 和 360 nmol/L,具有一定的 ROR γ 抑制活性,但该化合物对 LXR 有激动作用^[53]。通过对该化合物的噻吩环和磺酰氨基部分进行结构优化,得到化合物 **16a** 和 **16b**,二者的 ROR γ 抑制活性均得到显著提高(图 10)。化合物 **16a** 对 LXR 仅有 5 倍选择性(ROR γ Gal4 IC₅₀ = 0.45 μ mol/L vs LXR Gal4 IC₅₀ = 2.3 μ mol/L),化合物 **16b** 的选择性更好,其抑制 LXR 的 IC₅₀ 大于 10 μ mol/L^[53]。将化合物 **16a** 结构中的磺酰胺基进行“倒置”,得到化合物 **16e**,其抑制 ROR γ 的 IC₅₀ 为 160 nmol/L。对化合物 **16e** 进行结构优化,得到体外活性显著提高的化合物 **16f**,其抑制 Gal4 细胞的 IC₅₀ 达到 7 nmol/L^[54]。

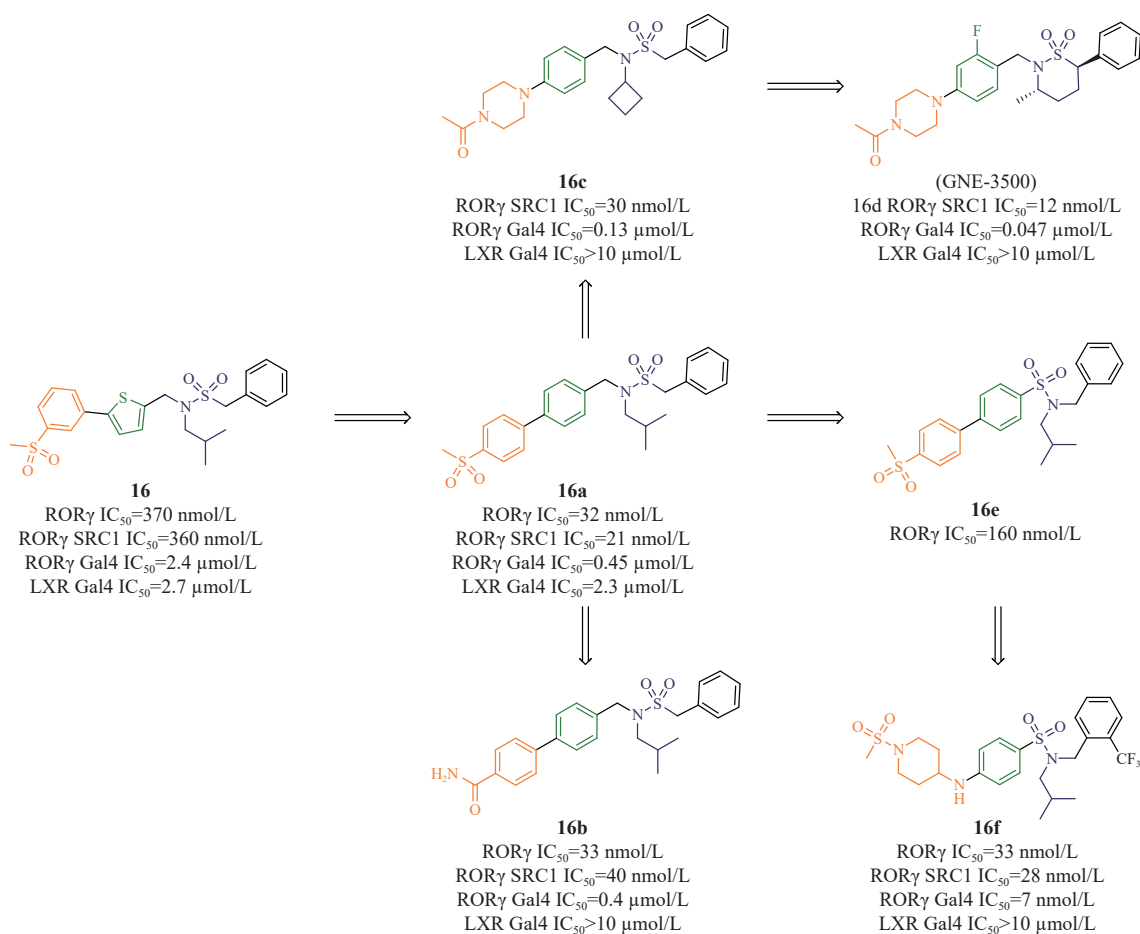
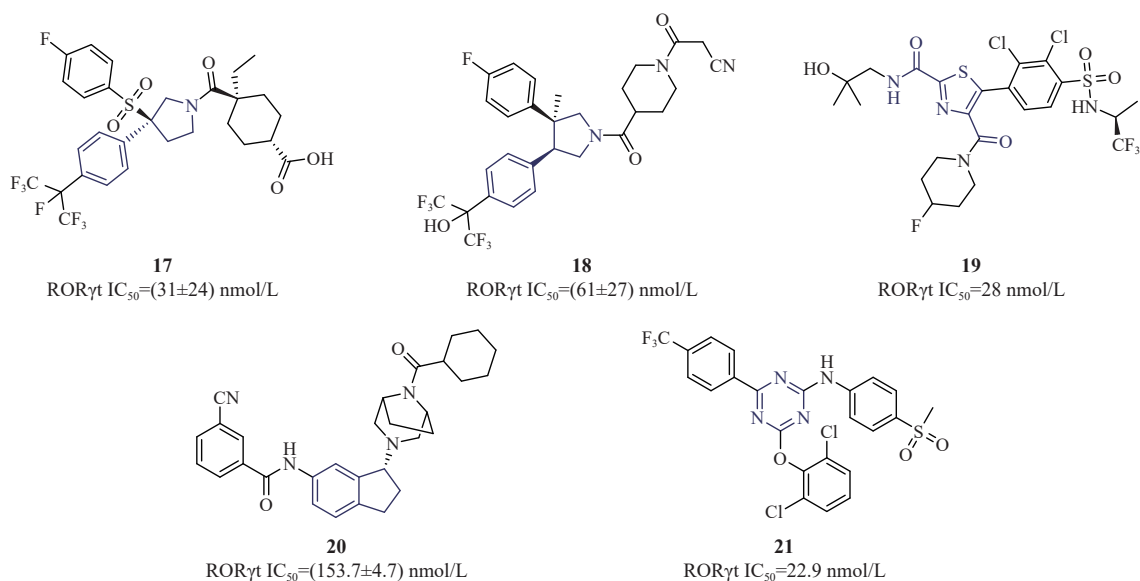
与此同时,为了降低该系列化合物的亲脂性,提高化合物的溶解性,利用生物电子等排原理将化合物 **16a** 的联芳基末端苯环替换为哌嗪环,得到化合物 **16c**^[55],其抑制 ROR γ SRC1 的 IC₅₀ 与化合物 **16a** 相当,但完全丧失对 LXR 受体的结合活性。在 pH 7.4 的条件下,化合物 **16c** 的水溶性达到了 37 μ mol/L(pH 7.4),远高于化合物 **16a**(同等条件下溶解度小于 1 μ mol/L)。但该化合物在大鼠和人肝微粒体上的清除率很高,原因是环丁基容易脱落,哌嗪环容易被氧化。基于 MetID 数据,为改变环丁基结构,设计了系列环磺酰胺类化合物^[56]。其中化合物 **16d** 在蛋白水平和细胞水平的活性均优于化合物 **16c**,相较于 ROR 家族对 ROR γ 有大于 75 倍

的选择性,相比于其他核受体家族有大于 200 倍的选择性。该化合物也表现出良好的体外 ADME 和体内 PK 性质,口服生物利用度达到 55%,并能剂量依赖性地抑制小鼠体内 IL-17 的生成^[56]。

除上述几个大类外,还有苯基吡咯烷类^[57-58]、噻唑双酰胺类^[59]、二氢茛环酰胺类^[60]、三嗪类^[61]等(图 11)。

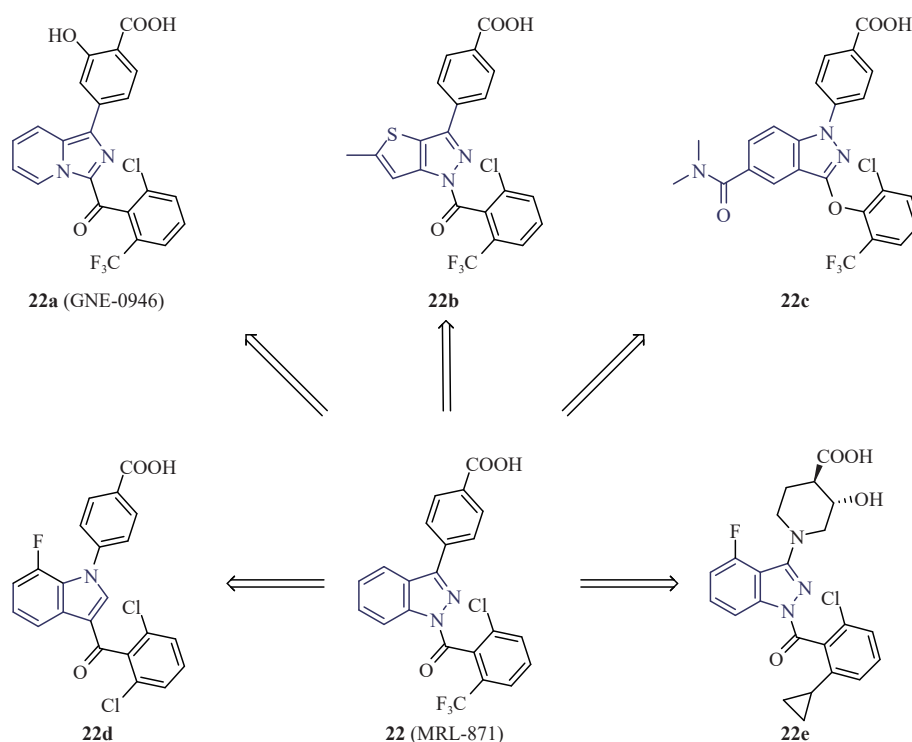
4.2 变构位点反向激动剂

ROR γ t 变构位点是近年来才发现的结合位点,由螺旋 H3、H4、H5、H11 和 H12 组成,该位点比正构位点小,但是更靠近 H12。迄今为止,大部分临床研究的 ROR γ t 反向激动剂都与正构位点结合,通过变构结合模式起作用的反向激动剂较少。2015 年, Scheepstra 等^[62]首次发现酰基吡唑类 ROR γ t 反向激动剂 MRL-871(**22**,图 12),通过作用在 ROR γ t-LBD 的变构结合口袋发挥作用,且其抑制 ROR γ t 的 IC₅₀ 达到 7 nmol/L。化合物 MRL-871 主要通过氢键作用和疏水作用与变构口袋结合,羧酸部分与 Ala497 和 Phe498(H12)的主链酰胺及 Gln329 的侧链(H3)之间产生关键的氢键作用,直接破坏了 His479 和 Tyr 502 之间的氢键网络,同时 2,6-二取代基使苯环位置偏移与 Phe506 形成 π - π 堆积作用。随着第一类 ROR γ t 变构反向激动剂的发现,许多公司 and 研究小组对这些化合物进行了后续研究,发现系列 ROR γ t 变构反向激动剂^[63]。按母核结构类型可将其分为吡唑及其衍生物类、异噻唑类及三环嘧啶类。

图 10 磺酰胺类 ROR γ t 反向激动剂的发现及优化过程图 11 其他结构类型的 ROR γ t 反向激动剂

4.2.1 吡唑及其衍生物类 Genentech 公司围绕 MRL-871 系列化合物进行了广泛的构效关系研究^[64]

(图 12)。研究发现 MRL-871 虽然对 ROR γ t 的抑制活性很强,但对于 PPAR γ 的亲和力也较强(EC₅₀=

图 12 吡唑及其衍生物类 ROR γ t 变构反向激动剂

130 nmol/L), 为提高化合物对 ROR γ t 的选择性, 通过骨架跃迁, 得到化合物 **22a**(GNE-0946)。化合物 **22a** 具有优异的 ROR γ t 抑制活性(ROR γ t Gal4 IC₅₀ = 4 nmol/L; IL-17 PBMC IC₅₀ = 17 nmol/L), 对 ROR γ 的选择性比其他 ROR 家族成员、PPAR γ 和 NR 高 300 倍以上, 同时其在大鼠体内的口服生物利用度达到 40%。

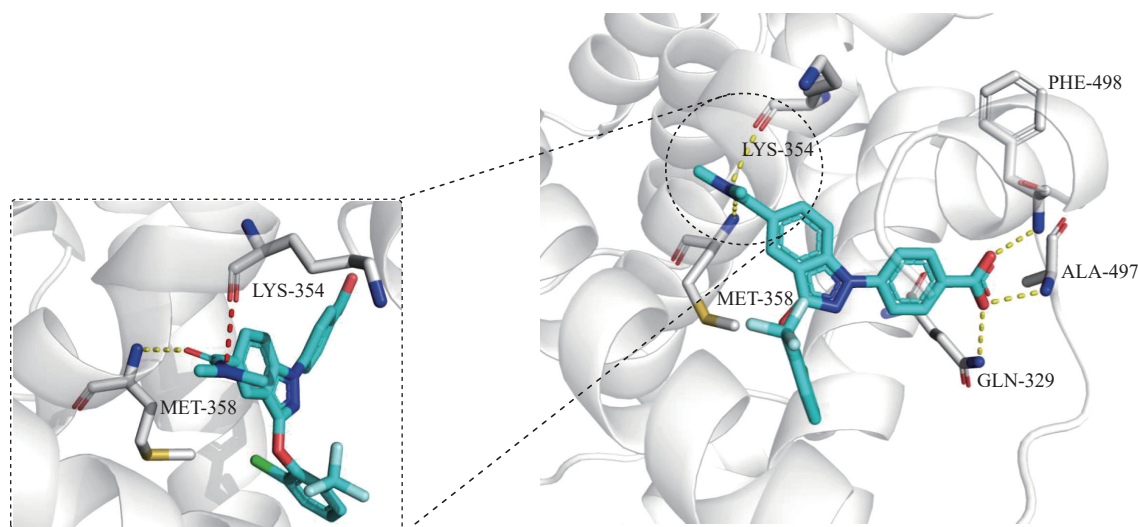
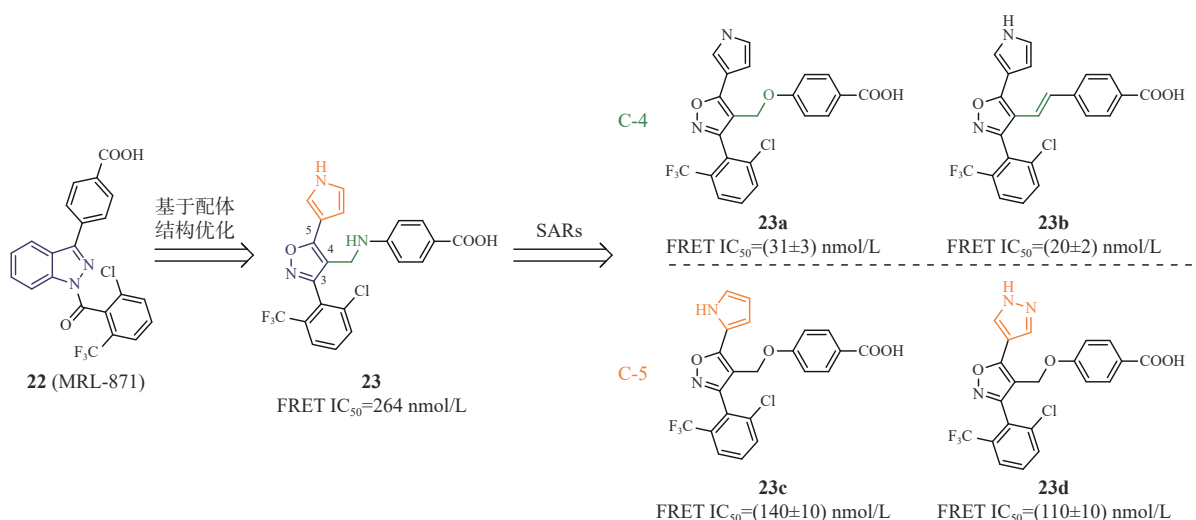
Glenmark 公司以 MRL-871 为先导化合物, 通过骨架跃迁, 发现具有噻吩并吡唑类化合物 **22b**, 相较于 MRL-871 表现出显著降低的体外 ROR γ t 抑制活性(FRET IC₅₀ = 425 nmol/L)。解析化合物-蛋白晶体复合物结构发现, 该化合物与 MRL-871 具有类似的结合模式, 保留了相同的氢键作用, 不同的是噻吩环的甲基取代基使得化合物朝向 H4 的空间位阻增大^[65]。这一结果表明, 增大 H4 附近的位阻不利于提高化合物对 ROR γ t 的亲和力。

Galderma R&D 公司通过改变 MRL-871 结构中杂环酰胺的 linker, 发现了一系列新的 ROR γ t 变构抑制剂, 期望改善 MRL 系列化合物的代谢稳定性^[66]。化合物 **22c** 表现出优异的 ROR γ t 抑制活性(ROR γ t Gal4 IC₅₀ = 31 nmol/L)和选择性。通过共晶结构(PDB: 5LWP)分析其结合模式发现, 羧基与 Ala497、Phe498 和 Gln329 产生关键的氢键作用, 这

一点与 MRL-871 的结合模式一致。此外, 二甲氨基甲酰基中的羰基可以与 Met358 的 NH 形成氢键(图 13)。尽管该化合物与 ROR γ t 蛋白口袋形成的氢键更多, 但这一优势并没有体现在活性的提高上, 这同样意味着朝向 H4 的大空间位阻不利于活性。

化合物 **22d**(ROR γ t Gal4 IC₅₀ = 12 nmol/L) 含有吡唑母核^[67], 化合物 **22e**(ROR γ t Gal4 IC₅₀ = 49 nmol/L)吡唑的 3 位取代基为哌啶环^[68]。通过分析该系列化合物的构效关系可知, 结构中的羧基对于活性的维持至关重要, 2,6-双取代基有利于活性的提升, 吡唑中芳基上的取代基(朝向 H4)不利于提高化合物对 ROR γ t 的亲和力。

4.2.2 异噻唑类 Meijer 等^[69] 于 2020 年报道了系列异噻唑类 ROR γ t 变构反向激动剂(图 14)。基于 MRL-871 结构, 通过 *in silico* 药效团筛选方法及基于结构的药物化学优化手段, 发现了化合物 **23**, 其体外活性为 264 nmol/L。共晶结构发现该化合物与 MRL-871 结合位点相同, 差别在于吡咯环的 NH 可以与 Leu353 和 Lys354 残基的羰基形成氢键, 但是同样由于吡咯环朝向 H4 的空间位阻导致该化合物的 ROR γ t 抑制活性远低于 MRL-871。随后, 该课题组对化合物 **23** 进行了 SAR 研究, 侧重于对 C-

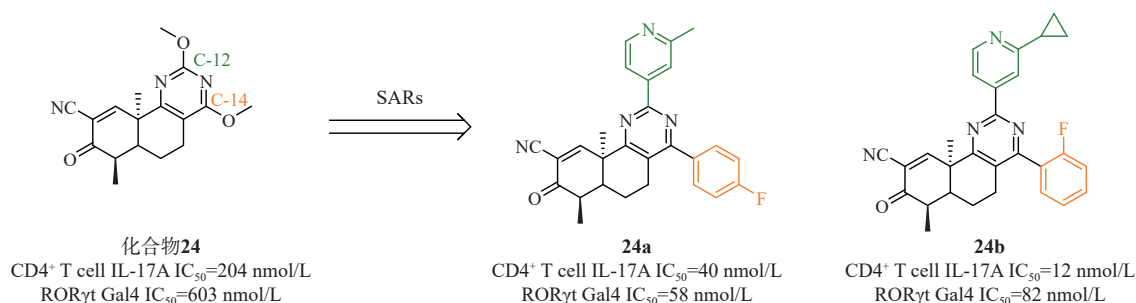
图 13 化合物 22c 与 ROR γ t 蛋白结合模式 (PDB code: 5LWP)图 14 异噁唑类 ROR γ t 变构反向激动剂

4 位的 linker 和 C-5 位取代基的优化^[70]。对于 C-4 位, 含醚键连接臂的化合物 **23a** 和含反式烯烃连接臂的化合物 **23b** 的活性明显得到提升, IC_{50} 分别为 (31 ± 3) nmol/L 和 (20 ± 2) nmol/L。对于 C-5 位, 含有吡咯-2-基的化合物 **23c** 的活性降低, IC_{50} 为 (140 ± 10) nmol/L, 但其通过 ROR γ t 口袋中的水分子形成另一氢键相互作用网络。值得一提的是, 含有吡唑-3-基的化合物 **23d** 相比于 **23a** 表现出良好的 I 相代谢稳定性 [CL_{int} : 8.8 μ L/(min·mg) vs 57.8 μ L/(min·mg)] 和血浆稳定性 (100% vs 74.2%)。

4.2.3 三环嘧啶类 Reata 制药公司披露了一系列具有三环嘧啶结构的 ROR γ t 反向激动剂^[71] (图 15)。利用 ROR γ t Gal4 报告基因检测方法筛选该公司的化合物库, 发现具有中等 ROR γ t 抑制活性的三环嘧

啶类化合物 **24** ($IC_{50} = 603$ nmol/L)。随后的构效关系研究发现化合物 **24a** 和 **24b** 具有良好的体外活性, 它们抑制 ROR γ t Gal4 的 IC_{50} 分别为 58 和 82 nmol/L, 在人 CD4⁺ T 细胞 IL-17A 表型实验中的 IC_{50} 分别为 40 和 12 nmol/L。此外, 它们对 ROR α 和 ROR β 以及其他 NR 家族表现出良好的 ROR 亚型选择性。化合物 **24a** 能有效抑制 Th17 分化 ($IC_{50} = 28$ nmol/L), 并显著降低 Th17 关键特征基因 *IL-17A*, *IL-17F*, *IL-26* 和 C-C 基序趋化因子配体 20 (*CCL20*) 的表达。尤为重要的是, 在小鼠胶原诱导的类风湿性关节炎模型上, 化合物 **24a** 通过灌胃给药后 (3 mg/kg) 相比于对照组表现出显著的药效。

进一步 SAR 研究表明, Michael 受体对生物活性至关重要^[71]。当 Michael 受体中的双键替换为单

图 15 三环嘧啶类 ROR γ t 变构反向激动剂

键时,所有类似物的活性均显著降低。通过氨基酸位点定向诱变和分子动力学模拟研究发现,该类化合物的结合位点与之前描述的 ROR γ t 变构位点不同,其特异性地与 ROR γ t-LBD 的 H11 上 Cys476 发生共价结合。

5 总结与展望

Th17 细胞及其分泌的炎症因子 IL-17 对慢性炎症和自身免疫性疾病的发生发展至关重要。而 ROR γ t 作为 Th17 细胞的重要转录因子,能够促使 Th17 细胞分化并分泌 IL-17。因此,针对自身免疫性疾病的 ROR γ t 反向激动剂的研发受到了越来越多的关注。随着第 1 个 ROR γ 反向激动剂 T0901317 的发现,许多不同骨架类型的 ROR γ t 反向激动剂应运而生并推向临床,包括正构位点反向激动剂和变构位点反向激动剂。

然而,迄今为止,ROR γ t 反向激动剂尚未得到广泛的临床应用,大多数临床化合物因疗效差或安全性问题被迫终止临床试验。例如,在 ROR γ t 反向激动剂的结构优化中,发现其可能激活孕烷 X 受体 (PXR) 导致细胞色素 P450 酶的自诱导,从而降低化合物在体内的暴露量和药效。另外,部分 ROR γ t 反向激动剂表现出潜在的胸腺副作用,如胸腺淋巴细胞增多、胸腺淋巴瘤和胸腺畸变。因此,为了获得安全有效的 ROR γ t 反向激动剂,后续的研发方向应该集中在提高疗效和选择性或降低毒性上。

同时,之前大多数 ROR γ t 反向激动剂的临床适应证主要集中在银屑病,因此研究 ROR γ t 对 IL-17 介导的炎症的影响,探索 ROR γ t 反向激动剂在更多炎症性疾病中的应用可能是未来发展的另一个方向。

References

[1] Li H, Tsokos GC. IL-23/IL-17 axis in inflammatory rheumatic diseases[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2021, **60**(1): 31-45.

[2] Armstrong AW, Read C. Pathophysiology, clinical presentation, and treatment of psoriasis: a review[J]. *JAMA*, 2020, **323**(19): 1945-1960.

[3] Blauvelt A. Safety of secukinumab in the treatment of psoriasis[J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2016, **15**(10): 1413-1420.

[4] Craig S, Warren RB. Ixekizumab for the treatment of psoriasis: up-to-date[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2020, **20**(6): 549-557.

[5] Beck KM, Koo J. Brodalumab for the treatment of plaque psoriasis: up-to-date[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2019, **19**(4): 287-292.

[6] Reis J, Vender R, Torres T. Bimekizumab: the first dual inhibitor of interleukin (IL)-17A and IL-17F for the treatment of psoriatic disease and ankylosing spondylitis[J]. *BioDrugs*, 2019, **33**(4): 391-399.

[7] Weikum ER, Liu X, Ortlund EA. The nuclear receptor superfamily: a structural perspective[J]. *Protein Sci*, 2018, **27**(11): 1876-1892.

[8] Oh SK, Kim D, Kim K, et al. ROR α is crucial for attenuated inflammatory response to maintain intestinal homeostasis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, **116**(42): 21140-21149.

[9] Lee IK, Song H, Kim H, et al. ROR α regulates cholesterol metabolism of CD8⁺ T cells for anticancer immunity[J]. *Cancers*, 2020, **12**(7): 1733.

[10] Choi WS, Lee G, Song WH, et al. The CH25H-CYP7B1-ROR α axis of cholesterol metabolism regulates osteoarthritis[J]. *Nature*, 2019, **566**(7743): 254-258.

[11] Byun H, Lee HL, Liu H, et al. Ror β regulates selective axon-target innervation in the mammalian midbrain[J]. *Development*, 2019, **146**(14): dev171926.

[12] Liu H, Aramaki M, Fu YL, et al. Retinoid-related orphan receptor β and transcriptional control of neuronal differentiation[J]. *Curr Top Dev Biol*, 2017, **125**: 227-255.

[13] Kumar R, Theiss AL, Venuprasad K. ROR γ t protein modifications and IL-17-mediated inflammation[J]. *Trends Immunol*, 2021, **42**(11): 1037-1050.

[14] Zeng JP, Li MX, Zhao QY, et al. Small molecule inhibitors of ROR γ t for Th17 regulation in inflammatory and autoimmune diseases[J]. *J Pharm Anal*, 2023, **13**(6): 545-562.

- [15] Sun NN, Xie Q, Dang YJ, *et al.* Agonist lock touched and untouched retinoic acid receptor-related orphan receptor- γ t (ROR γ t) inverse agonists: classification based on the molecular mechanisms of action[J]. *J Med Chem*, 2021, **64**(15): 10519-10536.
- [16] Lavery DN, McEwan IJ. Structure and function of steroid receptor AF1 transactivation domains: induction of active conformations[J]. *Biochem J*, 2005, 391(Pt 3): 449-464.
- [17] Zhang JJ, Chen BY, Zhang C, *et al.* Modes of action insights from the crystallographic structures of retinoic acid receptor-related orphan receptor- γ t (ROR γ t)[J]. *Eur J Med Chem*, 2023, **247**: 115039.
- [18] Singh AK, Khare P, Obaid A, *et al.* SUMOylation of ROR- γ t inhibits IL-17 expression and inflammation via HDAC2[J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 4515.
- [19] Chen Y, Wang DX, Zhao Y, *et al.* p300 promotes differentiation of Th17 cells via positive regulation of the nuclear transcription factor ROR γ t in acute respiratory distress syndrome[J]. *Immunol Lett*, 2018, **202**: 8-15.
- [20] Ciofani M, Madar A, Galan C, *et al.* A validated regulatory network for Th17 cell specification[J]. *Cell*, 2012, **151**(2): 289-303.
- [21] Yasuda K, Takeuchi Y, Hirota K. The pathogenicity of Th17 cells in autoimmune diseases[J]. *Semin Immunopathol*, 2019, **41**(3): 283-297.
- [22] Stadhouders R, Lubberts E, Hendriks RW. A cellular and molecular view of T helper 17 cell plasticity in autoimmunity[J]. *J Autoimmun*, 2018, **87**: 1-15.
- [23] Kumar N, Solt LA, Konkright JJ, *et al.* The benzenesulfoamide T0901317[N-(2, 2, 2-trifluoroethyl)-N-[4-[2, 2, 2-trifluoro-1-hydroxy-1-(trifluoromethyl)ethyl]phenyl]-benzenesulfonamide] is a novel retinoic acid receptor-related orphan receptor- α /gamma inverse agonist[J]. *Mol Pharmacol*, 2010, **77**(2): 228-236.
- [24] Kumar N, Lyda B, Chang MR, *et al.* Identification of SR2211: a potent synthetic ROR γ -selective modulator[J]. *ACS Chem Biol*, 2012, **7**(4): 672-677.
- [25] Solt LA, Kumar N, He YJ, *et al.* Identification of a selective ROR γ ligand that suppresses T(H)₁₇ cells and stimulates T regulatory cells[J]. *ACS Chem Biol*, 2012, **7**(9): 1515-1519.
- [26] Gege C. Retinoic acid-related orphan receptor gamma t (ROR γ t) inverse agonists/antagonists for the treatment of inflammatory diseases - where are we presently [J]? *Expert Opin Drug Discov*, 2021, 16(12): 1517-1535.
- [27] Pandya VB, Kumar S, Sachchidanand, *et al.* Combating autoimmune diseases with retinoic acid receptor-related orphan receptor- γ (ROR γ or ROR ϵ) inhibitors: hits and misses[J]. *J Med Chem*, 2018, **61**(24): 10976-10995.
- [28] Reisman SA, Lee CY I, Proksch JW, *et al.* RTA 1701 is an oral ROR γ t inhibitor that suppresses the IL-17A response in non-human Primates[J]. *J Immunol*, 2018, **200**(1_Supplement): 175.22.
- [29] Wang YH, Cai W, Zhang GF, *et al.* Discovery of novel N-(5-(arylcabonyl)thiazol-2-yl)amides and N-(5-(arylcabonyl)thiophen-2-yl)amides as potent ROR γ t inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, **22**(2): 692-702.
- [30] Wang YH, Yang T, Liu Q, *et al.* Discovery of N-(4-aryl-5-aryloxy-thiazol-2-yl)-amides as potent ROR γ t inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, **23**(17): 5293-5302.
- [31] Wang YH, Cai W, Cheng YB, *et al.* Discovery of biaryl amides as potent, orally bioavailable, and CNS penetrant ROR γ t inhibitors[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2015, **6**(7): 787-792.
- [32] Xiao S, Yosef N, Yang JF, *et al.* Small-molecule ROR γ t antagonists inhibit T helper 17 cell transcriptional network by divergent mechanisms[J]. *Immunity*, 2014, **40**(4): 477-489.
- [33] Sun NN, Huang YF, Yu MC, *et al.* Discovery of carboxyl-containing biaryl ureas as potent ROR γ t inverse agonists[J]. *Eur J Med Chem*, 2020, **202**: 112536.
- [34] Takeda pharmaceutical company limited. Preparation of indole and carbazole derivatives as inhibitors of retinoid-related orphan receptor γ t (ROR γ t): WO2013/042782[P]. 2013-03-28.
- [35] Huang YF, Yu MC, Sun NN, *et al.* Discovery of carbazole carboxamides as novel ROR γ t inverse agonists[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, **148**: 465-476.
- [36] Yang T, Liu Q, Cheng YB, *et al.* Discovery of tertiary amine and indole derivatives as potent ROR γ t inverse agonists[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, **5**(1): 65-68.
- [37] Wang YH, Cai W, Tang T, *et al.* From ROR γ t agonist to two types of ROR γ t inverse agonists[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2018, **9**(2): 120-124.
- [38] Kummer DA, Cummings MD, Abad M, *et al.* Identification and structure activity relationships of quinoline tertiary alcohol modulators of ROR γ t[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, **27**(9): 2047-2057.
- [39] Barbay JK, Cummings MD, Abad M, *et al.* 6-Substituted quinolines as ROR γ t inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, **27**(23): 5277-5283.
- [40] Tanis VM, Venkatesan H, Cummings MD, *et al.* 3-Substituted quinolines as ROR γ t inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, **29**(12): 1463-1470.
- [41] Fukase Y, Sato A, Tomata Y, *et al.* Identification of novel quinazolinone derivatives as ROR γ t inverse agonist[J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, **26**(3): 721-736.
- [42] Sato A, Fukase Y, Kono M, *et al.* Design and synthesis of conformationally constrained ROR γ t inverse agonists[J]. *ChemMedChem*, 2019, **14**(22): 1917-1932.
- [43] Kono M, Oda T, Tawada M, *et al.* Discovery of orally efficacious ROR γ t inverse agonists. Part 2: design, synthesis, and biological evaluation of novel tetrahydroisoquinoline derivatives[J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, **26**(2): 470-482.

- [44] Kono M, Ochida A, Oda T, *et al.* Discovery of [*cis*-3-((5*R*)-5-[(7-fluoro-1, 1-dimethyl-2, 3-dihydro-1*H*-inden-5-yl)carbonyl]-2-methoxy-7, 8-dihydro-1, 6-naphthyridin-6(5*H*)-yl)carbonyl]cyclobutyl]acetic acid (TAK-828F) as a potent, selective, and orally available novel retinoic acid receptor-related orphan receptor γ t inverse agonist[J]. *J Med Chem*, 2018, **61**(7): 2973-2988.
- [45] Xia YH, Yu MC, Zhao YP, *et al.* Discovery of tetrahydroquinolines and benzomorpholines as novel potent ROR γ t agonists[J]. *Eur J Med Chem*, 2021, **211**: 113013.
- [46] Sun NN, Ma XJ, Zhou KF, *et al.* Discovery of novel N-sulfonamide-tetrahydroquinolines as potent retinoic acid receptor-related orphan receptor γ t inverse agonists for the treatment of autoimmune diseases[J]. *Eur J Med Chem*, 2020, **187**: 111984.
- [47] Duan JJW, Lu ZH, Jiang B, *et al.* Structure-based discovery of phenyl (3-phenylpyrrolidin-3-yl)sulfones as selective, orally active ROR γ t inverse agonists[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2019, **10**(3): 367-373.
- [48] Marcoux D, Duan JJW, Shi Q, *et al.* Rationally designed, conformationally constrained inverse agonists of ROR γ t-identification of a potent, selective series with biologic-like *in vivo* efficacy[J]. *J Med Chem*, 2019, **62**(21): 9931-9946.
- [49] Marcoux D, Bertrand MB, Weigelt CA, *et al.* Annulation reaction enables the identification of an exocyclic amide tricyclic chemotype as retinoic acid receptor-related orphan receptor gamma (ROR γ /RORc) inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, **30**(19): 127466.
- [50] Cherney RJ, Cornelius LAM, Srivastava A, *et al.* Discovery of BMS-986251: a clinically viable, potent, and selective ROR γ t inverse agonist[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2020, **11**(6): 1221-1227.
- [51] Liu QJ, Batt DG, Weigelt CA, *et al.* Novel tricyclic pyroglutamide derivatives as potent ROR γ t inverse agonists identified using a virtual screening approach[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2020, **11**(12): 2510-2518.
- [52] Yang MG, Beaudoin-Bertrand M, Xiao ZL, *et al.* Tricyclic-carbocyclic ROR γ t inverse agonists-discovery of BMS-986313[J]. *J Med Chem*, 2021, **64**(5): 2714-2724.
- [53] Fauber BP, René O, Burton B, *et al.* Identification of tertiary sulfonamides as RORc inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, **24**(9): 2182-2187.
- [54] van Niel MB, Fauber BP, Cartwright M, *et al.* A reversed sulfonamide series of selective RORc inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, **24**(24): 5769-5776.
- [55] Fauber BP, René O, de Leon Boenig G, *et al.* Reduction in lipophilicity improved the solubility, plasma-protein binding, and permeability of tertiary sulfonamide RORc inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, **24**(16): 3891-3897.
- [56] Fauber BP, René O, Deng YZ, *et al.* Discovery of 1-[4-[3-fluoro-4-((3*S*, 6*R*)-3-methyl-1, 1-dioxo-6-phenyl-[1, 2]thiazinan-2-ylmethyl)-phenyl]-piperazin-1-yl]-ethanone (GNE-3500): a potent, selective, and orally bioavailable retinoic acid receptor-related orphan receptor C (RORc or ROR γ) inverse agonist[J]. *J Med Chem*, 2015, **58**(13): 5308-5322.
- [57] Lu ZH, Duan JJW, Xiao HY, *et al.* Identification of potent, selective and orally bioavailable phenyl ((*R*)-3-phenylpyrrolidin-3-yl)sulfone analogues as ROR γ t inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, **29**(16): 2265-2269.
- [58] Jiang B, Duan JJW, Stachura S, *et al.* Discovery of (3*S*, 4*S*)-3-methyl-3-(4-fluorophenyl)-4-(4-(1, 1, 3, 3, 3-hexafluoro-2-hydroxyprop-2-yl)phenyl)pyrrolidines as novel ROR γ t inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, **30**(17): 127392.
- [59] Gege C, Albers M, Kinzel O, *et al.* Optimization and biological evaluation of thiazole-bis-amide inverse agonists of ROR γ t[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, **30**(12): 127205.
- [60] Tian JL, Sun NN, Yu MC, *et al.* Discovery of *N*-indanyl benzamides as potent ROR γ t inverse agonists[J]. *Eur J Med Chem*, 2019, **167**: 37-48.
- [61] Lu LX, Chen S, Yu MC, *et al.* Discovery of novel triazine derivatives as potent retinoic acid receptor-related orphan receptor γ t (ROR γ t) inverse agonists[J]. *Eur J Med Chem*, 2023, **256**: 115424.
- [62] Scheepstra M, Leysen S, van Almen GC, *et al.* Identification of an allosteric binding site for ROR γ t inhibition[J]. *Nat Commun*, 2015, **6**: 8833.
- [63] Lu LX, Sun NN, Wang YH. Development and therapeutic potential of allosteric retinoic acid receptor-related orphan receptor γ t (ROR γ t) inverse agonists for autoimmune diseases[J]. *Eur J Med Chem*, 2023, **258**: 115574.
- [64] Fauber BP, Gobbi A, Robarge K, *et al.* Discovery of imidazo[1, 5-*a*]pyridines and-pyrimidines as potent and selective RORc inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, **25**(15): 2907-2912.
- [65] de Vries RMJM, Doveston RG, Meijer FA, *et al.* Elucidation of an allosteric mode of action for a thienopyrazole ROR γ t inverse agonist[J]. *ChemMedChem*, 2020, **15**(7): 561-565.
- [66] Ouvry G, Bouix-Peter C, Ciesielski F, *et al.* Discovery of phenoxyindazoles and phenylthioindazoles as ROR γ inverse agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, **26**(23): 5802-5808.
- [67] Shaikh NS, Iyer JP, Munot YS, *et al.* Discovery and pharmacological evaluation of indole derivatives as potent and selective ROR γ t inverse agonist for multiple autoimmune conditions[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, **29**(16): 2208-2217.
- [68] Zhang HJ, Lapointe BT, Anthony N, *et al.* Discovery of *N*-(indazol-3-yl)piperidine-4-carboxylic acids as ROR γ t allosteric inhibitors for autoimmune diseases[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2020, **11**(2): 114-119.
- [69] Meijer FA, Doveston RG, de Vries RMJM, *et al.* Ligand-based

- design of allosteric retinoic acid receptor-related orphan receptor γ t (ROR γ t) inverse agonists[J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(1): 241-259.
- [70] Meijer FA, Saris AOWM, Doveston RG, *et al.* Structure-activity relationship studies of trisubstituted isoxazoles as selective allosteric ligands for the retinoic-acid-receptor-related orphan receptor γ t[J]. *J Med Chem*, 2021, **64**(13): 9238-9258.
- [71] Jiang X, Dulubova I, Reisman SA, *et al.* A novel series of cysteine-dependent, allosteric inverse agonists of the nuclear receptor ROR γ t[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, **30**(6): 126967.



【专家介绍】王永辉,男,复旦大学讲座教授,励维医药联合创始人兼首席科学家。2014–2022 年任复旦大学特聘教授、博士生导师,兼任上海药物创制产业化开发中心化学部主任;2001–2013 年任葛兰素史克制药公司(GSK)研究员和药物化学部副总监。研究工作聚焦于自身免疫与肿瘤免疫小分子药物发现。先后主持和参与了国家、上海市和多个药企 20 个以上新药研发项目,研发出多个先导化合物和药物候选物,其中 4 个化合物进入了临床研究阶段。曾获 GSK 科学卓越奖,是第二批上海“千人计划”(创新长期)入选者。申请中国发明专利 42 项、PCT 国际专利 37 项,其中 26 项专利已授权。在 *Immunity*, *Angew Chem*, *JACS*, *JMC*, *EJMC*, *JOC*, *ACS Med Chem Lett* 等学术期刊上发表 SCI 论文 74 篇。

· 校园信息 ·

中国药科大学与南京市鼓楼区人民政府共建转化医学研究院

2024 年 2 月 19 日,中国药科与南京市鼓楼区人民政府合作共建转化医学研究院揭牌仪式在南京市鼓楼大厦二楼机关礼堂召开。鼓楼区委书记王安伟,鼓楼区委副书记、区长方靖,我校校长郝海平出席揭牌仪式。我校副校长杨勇、校长助理邬瑞斌、科学技术研究院常务副院长李志裕和鼓楼区相关单位负责同志参加仪式。仪式由鼓楼区委副书记、区长方靖主持。

会上,鼓楼区委书记王安伟代表区委、区政府向出席揭牌仪式的我校领导表示祝贺。校长郝海平代表我校向鼓楼区对转化医学研究院建设的支持表示感谢。他指出,根据《南京市鼓楼区人民政府与中国药科大学关于深化校地融合战略合作协议》,本着“深化合作、优势互补、携手发展、互利共赢”的原则,双方共建“中国药科大学转化医学研究院”(简称转化院)。转化院将立足鼓楼区政府在健康经济方面的产业布局和创新发展方向需求,依托中国药科大学在生物医药基础研究、新药转化、人才引进和培养等方面的综合优势,共同推进创新药物(Best-In-Class, First-In-Class)研究,加速科技成果转化,孵育一批具有自主知识产权和国内外领先的创新药物,孵化一批创新型企业。

据悉,转化院将在 5 年内着力从平台建设、人才培养和药物研发三个方面开展工作。构建“药物研发平台”“公共转化平台”和“临床研究平台”3 大技术平台,预计推动 5~8 个一类新药进入临床研究,10 个以上一类新药候选化合物和生物药物完成非临床研究,发现一大批具有深入研究价值的新药先导化合物和候选化合物。把引进和培养相结合,在研究实践中培养领军科学家、青年学科带头人和科技管理专家,形成一支技术先进、结构合理、朝气蓬勃的专业人才队伍。

(新药安全评价研究中心)