

中图分类号: R979.5

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2026)01-0006-08

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.01.002



受体相互作用蛋白激酶 1 小分子抑制剂研究进展*

李赐勤^{1,2}, 杨全军¹, 朱馨婷¹, 韩冷¹, 景凌洁¹, 郭澄^{1,2△}

(1. 上海交通大学医学院附属第六人民医院, 上海 200032; 2. 上海中医药大学药学院, 上海 201203)

摘要:目的 为受体相互作用蛋白激酶 1(RIPK1)抑制剂的开发及作用机制研究提供参考。方法 采用计算机检索 2005 年至 2024 年 PubMed、Web of Science、中国知网等数据库中 RIPK1 抑制剂的相关研究文献,总结 RIPK1 的结构、生物学功能与影响疾病,以及其抑制剂的分类。结果 RIPK1 为包含 671 个氨基酸的多功能蛋白,通过其激酶结构域、调节区域、死亡结构域、受体相互作用蛋白同型相互作用基序(RHIM)结构域在细胞死亡、炎症反应、肿瘤免疫反应中发挥重要作用。RIPK1 与多发性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症等慢性神经退行性疾病,炎症性肠病、银屑病等免疫和自身炎症性疾病,胶质母细胞瘤、黑色素瘤等肿瘤的发生与发展密切相关。基于作用构象和结合位点,RIPK1 可分为 I 型、II 型、III 型三磷酸腺苷竞争性抑制剂;基于化学结构,RIPK1 可分为 Necrostatin-1(Nec-1)及其衍生物类、苯并氧氮杂萘酮类、二氢吡唑类、苯并噻唑类、天然产物类及其衍生物类 RIPK1 抑制剂。结论 RIPK1 抑制剂研究在分子机制、构效关系及药物设计方面取得了显著进展,在基础研究与临床应用中有广阔前景。随着对 RIPK1 生物学功能的深入理解及新一代抑制剂的研发,RIPK1 抑制剂有望为多种疾病提供新的治疗策略。

关键词:受体相互作用蛋白激酶 1; I 型激酶抑制剂; II 型激酶抑制剂; III 型激酶抑制剂

Research Progress of Small Molecule Inhibitors of Receptor – Interacting Protein Kinase 1

LI Ciqin^{1,2}, YANG Quanjun¹, ZHU Xinting¹, HAN Leng¹, JING Lingjie¹, GUO Cheng^{1,2△}

(1. Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200032, China; 2. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract: Objective To provide a reference for the development and mechanism of receptor – interacting protein kinase 1 (RIPK1) inhibitors. **Methods** Researches on RIPK1 inhibitors in the PubMed, Web of Science, and CNKI databases were searched from 2005 to 2024. The structure, the biological functions, effects on diseases, and the classification of RIPK1 inhibitors were summarized. **Results** RIPK1 is a multifunctional protein containing 671 amino acids, which plays an important role in cell death, inflammatory response, and tumor immune response through its kinase domain, regulatory domain, death domain, and receptor – interacting protein kinase homotypic interaction motif (RHIM) domain. RIPK1 is closely related to the occurrence and development of chronic neurodegenerative diseases such as multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis, immune and autoimmune inflammatory diseases such as inflammatory bowel disease and psoriasis, and tumors such as glioblastoma and melanoma. Based on its conformational and binding sites, RIPK1 can be classified into type I, type II, and type III adenosine triphosphate competitive inhibitors. Based on their chemical structures, RIPK1 inhibitors can be classified into Necrostatin – 1 (Nec – 1) and its derivatives, benzodiazepines, dihydropyrazoles, benzothiazoles, natural products and their derivatives. **Conclusion** Researches on RIPK1 inhibitors have made significant progress in molecular mechanisms, structure – activity relationships, and drug design, and RIPK1 inhibitors have broad prospects in basic research and clinical applications. With a deeper understanding of the biological functions of RIPK1 and the development of new generation inhibitors, RIPK1 inhibitors are expected to provide new treatment strategies for various diseases.

Key words: receptor – interacting protein kinase 1; type I kinase inhibitor; type II kinase inhibitor; type III kinase inhibitor

受体相互作用蛋白激酶 1(RIPK1)是一种多功能丝氨酸/苏氨酸激酶蛋白,在调控细胞死亡与存活信号通路中发挥关键作用,并与自身免疫性疾病、炎症性疾病、神经退行性疾病、肿瘤等多种疾病密切相关^[1-3]。RIPK1 具有独特的疏水口袋,可通过变构调节其激酶活性,而该活性对介导坏死至关重要^[4]。自 2005 年首个抑制剂 Necrostatin-1(Nec-1)被发现及 2013 年 RIPK1

晶体结构解析以来,RIPK1 抑制剂研究在分子机制、构效关系(SAR)及药物设计方面取得了显著进展^[5-6],但 RIPK1 小分子抑制剂的临床转化仍面临诸多挑战。目前,可用于临床转化的 RIPK1 抑制剂较少,其调控机制尚未完全阐明,部分抑制剂因疗效局限性而中断了临床研究,且目前尚无选择性 RIPK1 抑制剂获批上市。故研发新的高效 RIPK1 小分子抑制剂对于炎症疾病的临

*基金项目:国家自然科学基金[82274151]。

第一作者:李赐勤,女,博士研究生在读,研究方向为抗肿瘤中药药理学,(电子信箱)lcq2313015722@163.com。

△通信作者:郭澄,男,博士研究生,主任药师,研究方向为抗肿瘤中药药理学,(电子信箱)guopharm@126.com。

床治疗具有重要意义。本研究中采用计算机检索2005年至2024年PubMed、Web of Science、中国知网等数据库中RIPK1抑制剂的相关研究文献,总结了RIPK1的结构、生物学功能与影响疾病及其抑制剂的分类,旨在为开发新型、有效的RIPK1抑制剂提供参考。

1 RIPK1的结构

RIPK1是一种相对分子质量为76 000的多功能蛋白,包含671个氨基酸,通过其激酶结构域、调节区域、死亡结构域和受体相互作用蛋白同型相互作用基序(RHIM)结构域在细胞死亡和炎症反应中发挥核心作用^[7]。RIPK1的N端激酶结构域具有高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶区域,负责其催化活性^[4]。该结构域通过自磷酸化激活,包含关键的三磷酸腺苷(ATP)结合位点,如催化三联体(K45-E63-D156)、P-loop(残基24-31)和loop(残基136-143)^[1-4]。位于激酶结构域和死亡结构域间的调节区域含有DLG序列,这是RIPK1活性的变构调节位点。S161位点在这一区域锁定激酶于非活性构象,同时该区域也参与核因子- κ B(NF- κ B)信号通路的激活,对细胞生存和炎症反应至关重要^[8-9]。RIPK1的C端包含死亡结构域和RHIM结构域,死亡结构域负责与其他含死亡结构域的蛋白形成异源二聚化,RHIM结构域则介导RIPK1与其他含RHIM蛋白的相互作用,这些相互作用对于调控细胞死亡和炎症反应非常关键^[10]。

2 RIPK1的生物学功能与影响疾病

RIPK1凭借其独特的结构特征,成为关键的信号枢纽,能响应多样的细胞应激信号,在细胞死亡、炎症反应和肿瘤免疫反应中发挥重要作用^[11-13]。炎症反应和程序性细胞死亡(包括凋亡和坏死性凋亡)在维持机体稳态中至关重要,其中RIPK1是调控细胞凋亡、坏死性凋亡及炎症反应途径的核心分子。因此,RIPK1与多种疾病的发生、发展密切相关^[14]。

慢性神经退行性疾病:如多发性硬化症(MS)、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)和亨廷顿病(HD),均与坏死性凋亡密切相关。在MS中,RIPK1在小胶质细胞和星形胶质细胞中的激活可驱动神经炎症,促进神经退行性病变^[2,15-16]。在AD中,RIPK1在小胶质细胞中呈高表达,其抑制可显著改善APP/PS1模型小鼠的认知障碍^[17]。在PD中,RIPK1抑制通过稳定线粒体膜电位和抑制过度自噬,促进PC12细胞的存活^[18]。可见,RIPK1是治疗这些神经退行性疾病的潜在靶点。

免疫和自身炎症性疾病:如炎症性肠病(IBD)、银屑病、黑色素瘤转移等,涉及复杂的病理机制^[19]。IBD[包括克罗恩病和溃疡性结肠炎(UC)]以肠道炎症和上

皮细胞损伤为特征,其中肿瘤坏死因子(TNF)- α 诱导蛋白3(FAIP3)/A20是关键调控因子。研究发现,RIPK1抑制剂可防止TNF引发的A20表达肠上皮细胞死亡,并增加自噬相关16样蛋白1(ATG16L1)缺陷型肠器官对TNF诱导的坏死性凋亡的敏感性^[3,20]。

肿瘤:RIPK1在肿瘤细胞中的作用受到遗传、表观遗传和表达变化的调控,与肿瘤的发生、发展、转移和耐药机制密切相关^[20-21]。其在肿瘤中具有双重作用,既可促进也可抑制肿瘤进展,具体取决于肿瘤的类型和微环境。在胶质母细胞瘤、黑色素瘤、肺癌、胰腺导管腺癌(PDAC)、胃癌、胆囊癌等疾病中,RIPK1的水平升高可激活NF- κ B通路,并促进细胞增殖,使其成为RIPK1过表达肿瘤的潜在治疗靶点^[22-25]。

其他:RIPK1作为调控细胞死亡、炎症反应和免疫反应的关键分子,兼具催化和非催化功能。其催化活性主要介导细胞死亡,非催化功能参与炎症反应和生存信号的调控。目前,正在研发RIPK1抑制剂,拟通过调节其活性为炎症性疾病和肿瘤的治疗提供新策略。

3 RIPK1抑制剂的分类

3.1 基于作用构象与结合位点

RIPK1作为治疗坏死相关疾病的关键靶点,具有重要的治疗潜力。其在程序性细胞死亡的上游调控中发挥核心作用,使其成为实现坏死过程选择性抑制的理想靶标^[26]。RIPK1的独特结构特征在于其激活环中的DFG(Asp-Phe-Gly)序列被罕见的Asp-Leu-Gly(DLG)序列取代,使其成为少数具有双重失活DLG-out/Glu-out构象的激酶之一^[27-28]。这种构象在RIPK1活性位点形成一个“L”形口袋,由铰链区关键残基Met92和ATP结合位点后方的疏水变构口袋共同构成^[29]。基于作用构象和结合位点,RIPK1抑制剂可分为I型、II型和III型ATP竞争性抑制剂及其他类型,该分类为研究其SAR、药物代谢动力学(PK)及药物效应动力学(PD)特性提供了重要思路。

I型RIPK1抑制剂:通过靶向ATP结合位点发挥作用,该位点位于激酶N-lobe和C-lobe之间的催化区域,并与活性DFG-in构象结合^[30]。在此构象中,ATP的腺苷部分与铰链区形成氢键,同时与前部疏水区域相互作用。DFG序列中的Asp残基向内定向,与镁离子(Mg^{2+})协同稳定ATP的三磷酸基团,而Phe残基则延伸至激酶结构域两叶间的疏水口袋,阻断该区域^[31]。尽管I型抑制剂是最常见的RIPK1抑制剂类型,通常通过激酶抑制剂库筛选获得,但其特异性较低。尽管应用广泛,但仍需进一步优化其选择性,以减少脱靶效应和副作用^[32]。

II型抑制剂:通过与RIPK1的Glu-in/DLG-out

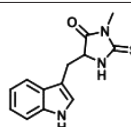
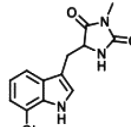
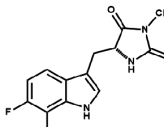
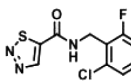
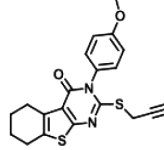
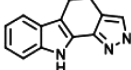
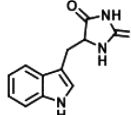
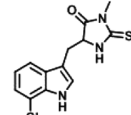
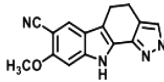
构象结合发挥作用,靶向ATP口袋及开放的后袋残基。在此构象中,DFG序列的Asp残基向外定向,导致疏水性后袋开启,而Phe残基的位移使ATP三磷酸部分不稳定,进而抑制激酶活性^[5,33]。与I型抑制剂相比,II型抑制剂倾向于结合非活性激酶构象,具有更高的激酶特异性^[34]。其结构特征通常包括含芳脲(或酰胺)基团的疏水部分,该基团与铰链区结合,并通过Asp主链NH与 α -C螺旋中保守谷氨酸侧链形成额外氢键,进一步增强其选择性。这种结构设计为开发高选择性RIPK1抑制剂提供了重要基础^[31]。

III型抑制剂:通过结合RIPK1结构域N端与C端之间的疏水性口袋,将其稳定在非活性的 α -C-Glu-out/DFG-out构象^[8]。该构象涉及DFG基序的非活性形式及 α -C螺旋的向外移位(α -C-out)。RIPK1中独特的DLG基序柔性特征形成变构口袋,当其呈现非活性DLG-out构象且 α -C螺旋外移时,口袋易于接近,同时失去催化必需的Glu-Lys离子对^[8]。这种结合模式与RIPK1的特殊动力学特性共同作用,赋予III型抑制剂更高的激酶选择性。相较于II型抑制剂,III型抑制剂对RIPK1的精准靶向能力更强,可减少脱靶效应及潜在不良反应,在开发针对RIPK1的精准治疗策略中有重要潜力。

3.2 基于化学结构

Nec-1及其衍生物类PIPK1抑制剂:2005年,DEGTEREV等^[5]通过细胞筛选发现了吡啶-乙内酰胺类化合物“necrostatin”,其中Nec-1作为首个RIPK1抑制剂,其半数抑制浓度(IC_{50})为2 $\mu\text{mol/L}$,半数有效浓度(EC_{50})为490 nmol/L ^[5]。但代谢稳定性较差[在小鼠肝脏微粒体中的半衰期($t_{1/2}$) < 5 min],其对映体Nec-1s通过在吡啶环引入氯原子,并将硫羰基替换为羰基,显著提高了其活性和稳定性(EC_{50} 为210 nmol/L , $t_{1/2} \approx 60$ min),同时提高了口服生物利用度,在小鼠脑和血浆中的浓度分别为0.74,0.31 $\mu\text{mol/L}$ [静脉注射给药30 min后,血药浓度为0.16 $\text{mg}/(\text{mL}\cdot\text{kg})$],且能稳定RIPK1的非活性构象,被广泛用于坏死性凋亡研究^[28]。Nec-1最初作为吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO)抑制剂被发现,但其脱靶效应限制了其在RIPK1调控中的应用^[35]。2016年,专利WO2016094846报道了Nec-1s的6位氟化衍生物R-6-F-7-Cl-O-Nec,其 EC_{50} 为26.75 nmol/L ,提出其在坏死性细胞疾病和炎症治疗中较Nec-1s具有更好的活性^[36]。后续研究聚焦于优化Nec-1s的吡啶取代基及水杨酸环中氮原子的取代,以进一步提升其疗效和选择性,为临床应用奠定了基础^[37]。Nec-1及其衍生物类PIPK1抑制剂的化学结构与抑制活性见表1。

表1 Nec-1及其衍生物类PIPK1抑制剂的化学结构与抑制活性

Nec-1及其衍生物	化学结构	抑制活性	类型
Nec-1		EC_{50} (Jurkat T cell) = 490 nmol/L	III型
Nec-1s		EC_{50} (Jurkat T cell) = 210 nmol/L	I型
R-6-F-7-Cl-O-Nec		EC_{50} (Jurkat T cell) = 26.75 nmol/L	III型
Nec-4		EC_{50} (Jurkat T cell) = 160 nmol/L	III型
Nec-5		EC_{50} (Jurkat T cell) = 240 nmol/L	-
Nec-21		EC_{50} (Jurkat T cell) = 500 nmol/L	III型
Compound 47		EC_{50} (Jurkat T cell) > 10 $\mu\text{mol/L}$	III型
Compound 48		EC_{50} (Jurkat T cell) = 180 nmol/L	III型
Compound 49		EC_{50} (Jurkat T cell) = 14 nmol/L	III型

注: - 指该抑制剂无具体抑制剂类型和相关半数有效浓度(EC_{50})或半数抑制浓度(IC_{50})。表2至表5同。

Note: - refers to the inhibitor does not have a specific inhibitor type, or related EC_{50} / IC_{50} (for Tab. 1 - 5).

苯并氧氮杂萘酮类PIPK1抑制剂:2016年至2017年,英国葛兰素史克公司(GSK Plc)通过DNA编码文库筛选,结合荧光偏振和ADP-Glo激酶实验鉴定出高效的RIPK1抑制剂苯并[b][1,4]-氧氮杂萘-4-酮^[38]。构效关系研究表明,R构型化合物活性丧失,而S构型在细胞活性、激酶活性及生物利用度方面表现优异,成为潜在先导化合物。通过在苯并氧氮杂萘酮氮原子上引入甲基,得到化合物GSK'481,其生物活性较前体提高

3~10倍^[39]。GSK'481在口服剂量为2 mg/kg大鼠模型中的生物利用度仅为0.38 μg·h/mL,清除率为69 mL/(min·kg),分布容积为8.5 L/kg。GSKPlt通过生物电子等排策略,将异噻唑环替换为三氮唑环,开发出临床候选药物GSK'772^[40]。GSK'772作为全球首个进入临床的RIPK1抑制剂,曾用于治疗外周免疫性疾病、类风湿关节炎和溃疡性结肠炎的II期临床试验,但在GSK'772治疗组中有2例严重不良事件^[41]。1例发生于治疗的第66天,出现严重的视网膜静脉血栓形成;另1例发生于治疗的第49天,出现严重脱发(斑秃)及鼻咽炎、头痛等其他不良反应,目前已暂停临床试验^[42]。苯并氧氮杂萘酮类PIPK1抑制剂的化学结构与抑制活性见表2。

二氢吡唑类RIPK1抑制剂:2015年,BERGER等^[41]通过高通量筛选GSK化合物库发现了高效的RIPK1抑制剂GSK'963。在TNF和Z-VAD诱导的小鼠模型中,腹腔注射2 mg/kg GSK'963可完全防止体温降低^[42],但其在小鼠模型中表现出高清除率和低口服暴露率,限制了其进一步研发。为改善PK特性,研究者对GSK'963进行结构优化,得到高选择性RIPK1抑制剂GSK'547。与GSK'963相比,GSK'547在小鼠中的口服暴露量提高了400倍,并在胰腺癌动物模型中生存期显著延长,显示出治疗胰腺导管腺癌潜力。但由于GSK'547的II期临床试验中出现胃肠道反应,如恶心、呕吐、腹泻等,具体发生率和严重程度尚不明确,最终该试验被终止^[43]。可见,GSK'963和GSK'547在体外和动物模型中均有良好的活性,但其临床转化面临PK和安全性挑战,为未来RIPK1抑制剂的开发提供了重要参考,特别是在优化PK和成药性方面。二氢吡唑类RIPK1抑制剂的化学结构与抑制活性见表3。

苯并噻唑类RIPK1抑制剂:2019年,HOU等^[44]从240种激酶抑制剂中筛选出化合物PK6,其可有效抑制TNF诱导的细胞坏死(EC_{50} 为1.2 μmol/L),并在人类白血病U937细胞和小鼠细胞模型中表现出保护作用(EC_{50} 分别为0.95,0.76 μmol/L)。为改善PK6的毒性和溶解性,研究人员通过生物电子等排策略开发出PK67和PK68,其 EC_{50} 显著降低(分别为250,130,23,13 nmol/L)。PK68在全身炎症反应综合征(SIRS)模型中显示出显著的保护效果,并能抑制肿瘤细胞转移,口服生物利用度达61%^[45]。

宁夏医科大学张万年课题组基于配体药物设计方法,从TAK-632改造得到双靶点抑制剂SZM-594,并进一步优化获得高活性、高选择性化合物53^[45]。2021年,该课题组通过基因锚定策略开发出化合物54,其在葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的UC模型中的疗效显著。GUO等^[46]结合化合物53和54的优势,设计合成了SZM-1209,

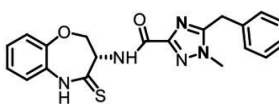
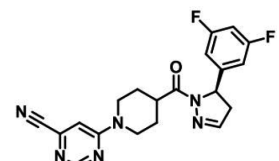
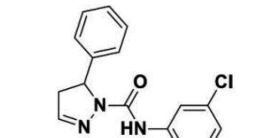
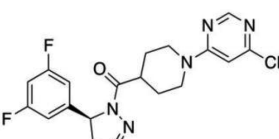
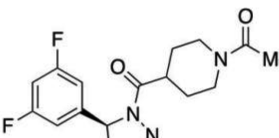
表2 苯并氧氮杂萘酮类PIPK1抑制剂的化学结构与抑制活性
Tab.2 Chemical structures and inhibition activities of benzoxazolinone PIPK1 inhibitors

苯并氧氮杂萘酮类	结构	抑制活性	类型
Compound 50		IC_{50} (FP, RIPK1) = (32.0 ± 5.8) nmol/L, IC_{50} (ADP-Glo, RIPK1) = (16 ± 14) nmol/L, IC_{50} (U937 cell) = (200 ± 7) nmol/L, R: IC_{50} (RIPK1) > 10 000 nmol/L, IC_{50} (U937 cell) > 10 000 nmol/L	III型
GSK'481		IC_{50} (FP, RIPK1) = (10.0 ± 4.8) nmol/L, IC_{50} (ADP-Glo, RIPK1) = (1.6 ± 1.1) nmol/L, IC_{50} (U937 cell) = (200 ± 7) nmol/L	III型
Compound'772		IC_{50} (FP, RIPK1) = 6.3 nmol/L, IC_{50} (ADP-Glo, RIPK1) = 1.0 nmol/L, IC_{50} (U937 cell) = 6.3 nmol/L	III型
GEN-684		EC_{50} (HT-29 cell) = 14 nmol/L, EC_{50} (1929 cell) = 81 nmol/L, EC_{50} (H9C2 cell) = 154 nmol/L	III型
Compound 46		-	-
Compound 51		-	III型
Thio-GSK'772		EC_{50} (HT-29 cell) = (2.8 ± 0.2) nmol/L	III型
Compound 52		EC_{50} (HT-29 cell) = (2.5 ± 0.3) nmol/L	III型

该化合物在多种模型中展现出了抗坏死和抗炎活性,并在4-(甲基亚硝胺)-1-(3-吡啶)-1-丁酮(NNK)诱导的急性肺损伤(ALI)小鼠模型中表现出了

表3 二氢吡唑类 RIPK1 抑制剂的化学结构与抑制活性

Tab. 3 Chemical structures and inhibition activities of dihydropyrazole RIPK1 inhibitors

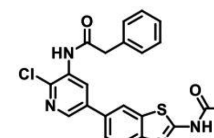
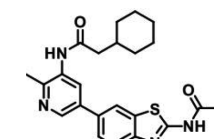
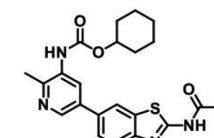
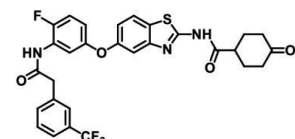
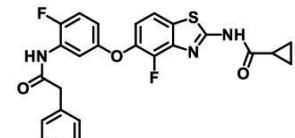
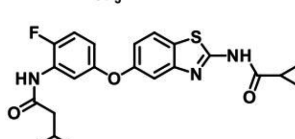
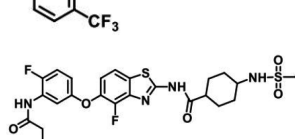
二氢吡唑类 RIPK1 抑制剂	化学结构	抑制活性	类型
GSK'963		IC_{50} = (FP, RIPK1) = 16 nmol/L, IC_{50} (U937 cell) = 4 nmol/L, IC_{50} (L929 cell) = 11 nmol/L	Ⅲ型
GSK'547		IC_{50} = (FP, RIPK1) = 1 nmol/L, IC_{50} (U937 cell) = 4 nmol/L	Ⅲ型
Compound 11		IC_{50} = (FP, RIPK1) = 67 nmol/L	-
Compound 76		IC_{50} = (FP, RIPK1) = 11 nmol/L	-
Compound 77		-	-

治疗潜力,为ALI/急性呼吸窘迫综合征(ARDS)治疗提供了新的候选药物。这些研究为RIPK1抑制剂的开发及炎症疾病的治疗开辟了新方向。苯并噻唑类RIPK1抑制剂的化学结构与抑制活性见表4。

天然产物类及其衍生物类PIPK1抑制剂:天然产物及其衍生物在药物开发中具有显著优势,因其通常避免了全合成化合物的合成设计局限性、PK特性不佳、药物相似性低等问题。研究表明,含有2-氨基咪唑或2-氨基苯并咪唑基团的海洋代谢物能调节多种激酶的活性^[47]。BENCHEKROUN等^[48]研究发现,简化的苯并噻唑结构(如benzosceptrin B)对RIPK1具有抑制作用,并开发出新型benzosceptrin B衍生的坏死性凋亡抑制剂。其中,2-氨基苯并咪唑化合物AV123可显著抑制TNF- α 诱导的坏死性凋亡,表明苯并噻唑的核心是设计RIPK1抑制剂的关键结构。基于此,化合物MBM105显示出最高抑制效力(EC_{50} 为4.70 μ mol/L),且毒性较低^[6]。WANG等^[49]筛选天然产物和类天然衍生物库发现,齐墩果酸衍生物CDDO及其衍生物可抑制RIPK1和RIP3磷酸化,并靶向热休克蛋白90(HSP90)。通过羧基取代优化获得CDDO-Me, CDDO-EA, RTA-408

表4 苯并噻唑类 RIPK1 抑制剂的化学结构与抑制活性

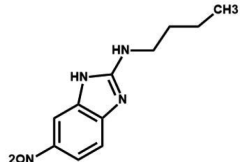
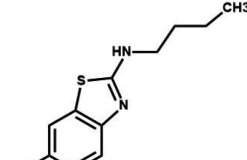
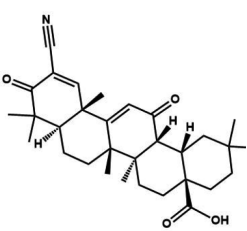
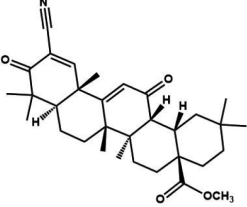
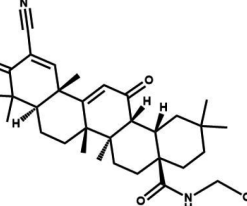
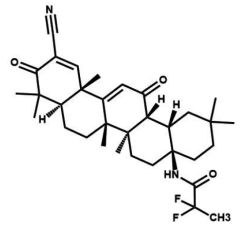
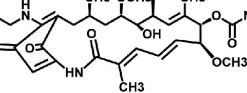
Tab. 4 Chemical structures and inhibition activities of benzothiazole RIPK1 inhibitors

苯并噻唑类 RIPK1 抑制剂	化学结构	抑制活性	类型
PK6		EC_{50} (HT-29 cell) = (22 000 \pm 53) nmol/L	-
PK67		EC_{50} (HT-29 cell) = 230 nmol/L	-
PK68		EC_{50} (HT-29 cell) = 23 nmol/L	-
Compound 53		EC_{50} (HT-29 cell) = (50 \pm 2) nmol/L	-
Compound 54		EC_{50} (HT-29 cell) = (8 \pm 1) nmol/L	-
SZM-594		EC_{50} (HT-29 cell) = (170 \pm 30) nmol/L	-
SZM-1209		EC_{50} (HT-29 cell) = 22.4 nmol/L	-

等类似物,其中反转酰胺结构的化合物在人和小鼠细胞中均表现出良好的活性。引入2-吡啶基或3-吡啶基进一步提高了对RIPK1和RIP3磷酸化的抑制作用,显著增强了抗坏死作用。化合物87在小鼠模型中表现出最高效力,可减轻TNF诱导的SIRS和脑缺血再灌注(I/R)损伤,并与其他坏死抑制剂协同作用,具有成为先导化合物的潜力。此外,HSP90抑制剂17-AAG通过抑制RIPK1-RIP3-混合谱系激酶结构域蛋白(MLKL)通路而被激活,间接调控RIPK1活性^[50]。可见,天然产物及其衍生物为开发新型RIPK1抑制剂提供了新思路,为炎症疾病及神经系统疾病的治疗提出了新

策略。天然产物及其衍生物类 RIPK1 抑制剂的化学结构与抑制活性见表 5。

表 5 天然产物及其衍生物类 RIPK1 抑制剂的化学结构与抑制活性

天然产物及其衍生物	化学结构	抑制活性	类型
AV123		EC_{50} (Jurkat T cell) = 1.7 $\mu\text{mol/L}$, IC_{50} (RIPK1) = 12.0 $\mu\text{mol/L}$	-
MBM105		EC_{50} (Jurkat T cell) = 4.70 $\mu\text{mol/L}$, IC_{50} (RIPK1) = 2.89 $\mu\text{mol/L}$	-
CDDO		EC_{50} (HT-29 cell) = (1.30 \pm 0.38) $\mu\text{mol/L}$, EC_{50} (L929 cells) > 10.00 $\mu\text{mol/L}$	-
CDDO - Me		EC_{50} (HT-29 cell) = (4.34 \pm 1.00) $\mu\text{mol/L}$, EC_{50} (L929 cells) > 10.00 $\mu\text{mol/L}$	-
CDDO - EA		EC_{50} (HT-29 cell) = (1.38 \pm 0.10) $\mu\text{mol/L}$, EC_{50} (L929 cells) = (4.15 \pm 0.35) $\mu\text{mol/L}$	-
RTA - 408		EC_{50} (HT-29 cell) = (1.41 \pm 0.16) $\mu\text{mol/L}$, EC_{50} (L929 cells) = (5.25 \pm 0.56) $\mu\text{mol/L}$	-
17 - AAG		-	-

4 挑战与展望

RIPK1 作为调控程序性细胞死亡(如坏死性凋亡)和炎症反应的关键分子,已成为治疗多种疾病的重要

靶点。近年来, RIPK1 抑制剂的研究取得了显著进展,多个小分子抑制剂已进入临床开发阶段,表现出广泛的应用前景。在临床前研究中, RIPK1 抑制剂通过抑制坏死性凋亡和炎症信号通路,在神经退行性疾病(如 AD 和 ALS)、自身免疫性疾病(如类风湿关节炎、溃疡性结肠炎)、肿瘤等疾病的治疗中有较好潜力。如 GSK2982772 作为首个进入临床的 RIPK1 抑制剂,已在自身免疫性疾病中验证了其安全性和有效性。GFH - 312 和 SAR443820 则通过优化 PK 特性,特别是中枢神经系统渗透能力,为神经系统疾病的治疗提供了新方向。

但 RIPK1 抑制剂的临床转化仍面临诸多挑战,主要体现在以下 4 个方面。1) PK 与安全问题。现有 RIPK1 抑制剂普遍存在脑 - 血暴露窗口狭窄的问题,临床开发中多次因毒性问题受阻。如 DNL747(针对 ALS / AD)因肝毒性和神经毒性已终止开发; DNL104(针对 MS)因超过 30% 受试者出现肝酶升高而停止研发; 目前处于 I 期临床试验的 DNL788, R552 等候选药物仍需解决脑渗透性与系统毒性间的平衡难题。2) 靶点选择性与作用机制复杂性。RIPK1 在生理和病理状态下具有双重功能(促生存与促死亡),这对抑制剂的选择性和调控精度提出了极高要求。现有临床候选化合物(如 GSK2982772, SIR1 - 365, GFH - 312 等)大多靶向 III 型疏水 / DFG - out 结合口袋,导致其对 TRKA / B / C、LIM 结构域激酶 2(LIMK2)等多个激酶仍保持 10 ~ 100 nmol / L 水平的抑制活性,这可能增加心血管和胃肠道不良反应风险。3) 当前抑制剂仅靶向 RIPK1 激酶活性。在 RIPK3 主导的炎症场景[如转化生长因子 - β 活化蛋白激酶 1(TAK1)缺失或 Z 型脱氧核糖核酸结合蛋白 1(ZBP1)激活]中的疗效有限。4) 新型 RIPK1 抑制剂开发中遇到种属差异问题。现有双靶点分子对人源和鼠源 RIPK3 的抑制活性存在显著差异(活性下降 95% ~ 98%),需通过结构生物学指导进行“人 - 鼠同效”改造。

为突破上述瓶颈,可考虑从以下 4 个方面进行优化。1) 分子设计层面。利用计算机辅助药物设计(CADD)和 AIDD 结合活性位点与变构位点,通过高通量筛选和 DNA 编码文库开发高选择性、高亲和力的新型 RIPK1 抑制剂。2) 双靶策略。鉴于 RIPK1 非依赖、RIPK3 主导的炎症场景疗效不足,可构建 RIPK1 / 3 双靶分子,并通过晶体结构指导“人 - 鼠同效”改造。3) 递送系统革新。开发纳米颗粒剂型,以改善 PK 特性(脑渗透率、口服生物利用度与代谢稳定性),如 RVG29 修饰的埃洛石纳米管或 CRT - PEG - PLGA 纳米粒,可作为“智能弹头”精准穿越血脑屏障,靶向病灶微环境,显著提升中枢神经系统药物的暴露。4) 临床前转化。采用

CRISPR / Cas9 等技术敲除代偿通路关键基因,建立多疾病共患动物模型,模拟真实临床场景,系统评估抑制剂在复杂病理环境下的作用机制、长期安全性、耐药性及疗效变化。

综上所述,本研究中基于 RIPK1 的结构特征和生物学功能,总结了其小分子抑制剂的研究进展,涵盖了其活性、结构优化及临床应用现状。为 RIPK1 生物学功能的深入解析和新一代 RIPK1 抑制剂的开发提供了重要的理论依据,并为相关疾病的精准治疗提供了创新性策略,推动转化医学的进一步发展。

参考文献

- [1] OFENGEIM D, YUAN JY. Regulation of RIP1 kinase signalling at the crossroads of inflammation and cell death [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(11):727 – 736.
- [2] JAYARAMAN A, HTIKE TT, JAMES R, et al. TNF – mediated neuroinflammation is linked to neuronal necroptosis in Alzheimer’s disease hippocampus [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2021, 9(1):159.
- [3] SULTAN M, ADAWI M, KOL N, et al. RIPK1 mutations causing infantile – onset IBD with inflammatory and fistulizing features[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1041315.
- [4] XIE T, PENG W, LIU YX, et al. Structural basis of RIP1 inhibition by necrostatins[J]. *Structure*, 2013, 21(3):493 – 499.
- [5] DEGTEREV A, HUANG ZH, BOYCE M, et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury[J]. *Nat Chem Biol*, 2005, 1(2):112 – 119.
- [6] BHARATE SB, SAWANT SD, SINGH PP, et al. Kinase inhibitors of marine origin[J]. *Chem Rev*, 2013, 113(8):6761 – 6815.
- [7] MIFFLIN L, OFENGEIM D, YUAN J. Receptor – interacting protein kinase 1 (RIPK1) as a therapeutic target [J]. *Nat Rev Drug Discovery*, 2020, 19(8):553 – 571.
- [8] VANDENABEELE P, GALLUZZI L, VANDEN BERGHET, et al. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(10):700 – 714.
- [9] LIU YP, LIU T, LEI TT, et al. RIP1 / RIP3 – regulated necroptosis as a target for multifaceted disease therapy (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(3):771 – 786.
- [10] DELANGHE T, DONDELINGER Y, BERTRAND MJM. RIPK1 Kinase – Dependent Death: A Symphony of Phosphorylation Events [J]. *Trends Cell Biol*, 2020, 30(3):189 – 200.
- [11] CLUCAS J, MEIER P. Roles of RIPK1 as a stress sentinel coordinating cell survival and immunogenic cell death [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(11):835 – 852.
- [12] LI WJ, YUAN JY. Targeting RIPK1 kinase for modulating inflammation in human diseases [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1159743.
- [13] 卢凡, 孙凯, 祝文涛. RIPK1 – RIPK3 信号通路在骨关节炎中的研究进展 [J]. *骨科*, 2024, 15(2):182 – 186.
- [14] CHRISTOFFERSON DE, LI Y, YUAN JY. Control of life – or – death decisions by RIP1 kinase [J]. *Annu Rev Physiol*, 2014, 76:129 – 150.
- [15] NEEL DV, BASU H, GUNNER G, et al. Catching a killer: Mechanisms of programmed cell death and immune activation in Amyotrophic Lateral Sclerosis [J]. *Immunol Rev*, 2022, 311(1):130 – 150.
- [16] DIONÍSIO PA, AMARAL JD, RODRIGUES CMP. Oxidative stress and regulated cell death in Parkinson’s disease [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 67:101263.
- [17] XU C, WU JL, WU YQ, et al. TNF – α – dependent neuronal necroptosis regulated in Alzheimer’s disease by coordination of RIPK1 – p62 complex with autophagic UVRAG [J]. *Theranostics*, 2021, 11(19):9452 – 9469.
- [18] WU JR, WANG J, ZHOU SK, et al. Necrostatin – 1 protection of dopaminergic neurons [J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(7):1120 – 1124.
- [19] BRYAN MC, RAJAPAKSA NS. Rajapaksa, Kinase Inhibitors for the Treatment of Immunological Disorders: Recent Advances [J]. *J Med Chem*, 2018, 61(20):9030 – 9058.
- [20] DUAN PY, MA Y, LI XN, et al. Author Correction: Inhibition of RIPK1 – dependent regulated acinar cell necrosis provides protection against acute pancreatitis via the RIPK1 / NF – κ B / AQP8 pathway [J]. *Exp Mol Med*, 2024, 56(2):491 – 493.
- [21] HSIN IF, MONTANO E, SEKI E. Finding a new role for NEMO: A key player in preventing hepatocyte apoptosis and liver tumorigenesis by inhibiting RIPK1 [J]. *Hepatology*, 2016, 64(1):295 – 297.
- [22] 石亭亭, 曲燕, 王娟如, 等. 乳腺癌中 RIPK1 的表达及其与阿霉素化疗耐药的相关性 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2024, 40(11):1148 – 1153.
- [23] YANG MM, WEI YJ, HE X, et al. The deubiquitinating protein OTUD6B promotes lung adenocarcinoma progression by stabilizing RIPK1 [J]. *Bio Direct*, 2024, 19(1):46.
- [24] CUCOLO L, CHEN QZ, QIU JY, et al. The interferon – stimulated gene RIPK1 regulates cancer cell intrinsic and extrinsic resistance to immune checkpoint blockade [J]. *Immunity*, 2022, 55(4):671 – 685. e10.
- [25] ZHU GW, CHEN X, WANG XQ, et al. Expression of the RIP – 1 gene and its role in growth and invasion of human gallbladder carcinoma [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 34(4):1152 – 1165.
- [26] DEGTEREV A, HITOMI J, GERMSCHIED M, et al. Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(5):313 – 321.
- [27] NAJJAR M, SUEBSUWONG C, RAY SS, et al. Structure guided design of potent and selective ponatinib – based hybrid inhibitors for RIPK1 [J]. *Cell Rep*, 2015, 10(11):1850 – 1860.
- [28] SEONG D, JEONG M, SEO J, et al. Identification of MYC as an antinecrotic protein that stifles RIPK1 – RIPK3 com-

- plex formation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(33): 19982 – 19993.
- [29] MÜLLER S, CHAIKUAD A, GRAY NS, et al. The ins and outs of selective kinase inhibitor development[J]. Nat Chem Biol, 2015, 11(11): 818 – 821.
- [30] LIU Y, GRAY NS. Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations[J]. Nat Chem Biol, 2006, 2(7): 358 – 364.
- [31] MARTENS S, HOFMANS S, DECLERCQ W, et al. Inhibitors Targeting RIPK1 / RIPK3: Old and New Drugs [J]. Trends Pharmacol Sci, 2020, 41(3): 209 – 224.
- [32] HARRIS PA, BANDYOPADHYAY D, BERGER SB, et al. Discovery of Small Molecule RIP1 Kinase Inhibitors for the Treatment of Pathologies Associated with Necroptosis [J]. ACS Med Chem Lett, 2013, 4(12): 1238 – 1243.
- [33] ZHUANG CL, CHEN FN. Small – Molecule Inhibitors of Necroptosis: Current Status and Perspectives [J]. J Med Chem, 2020, 63(4): 1490 – 1510.
- [34] DEGTEREV A, MAKI JL, YUAN J. Activity and specificity of necrostatin – 1, small – molecule inhibitor of RIP1 kinase [J]. Cell Death Differ, 2013, 20(2): 366.
- [35] JAGTAP PG, DEGTEREV A, CHOI S, et al. Structure – activity relationship study of tricyclic necroptosis inhibitors [J]. J Med Chem, 2007, 50(8): 1886 – 1895.
- [36] Vertex Pharmaceuticals Inc. Necroptosis inhibitors and uses thereof: WO 2016094846A1 [P]. 2016 – 06 – 23.
- [37] HARRIS PA, KING BW, BANDYOPADHYAY D, et al. DNA – Encoded Library Screening Identifies Benzo [b] [1, 4] oxazepin – 4 – ones as Highly Potent and Monoselective Receptor Interacting Protein 1 Kinase Inhibitors [J]. J Med Chem, 2016, 59(5): 2163 – 2178.
- [38] HARRIS PA, BERGER SB, JEONG JU, et al. Discovery of a First – in – Class Receptor Interacting Protein 1 (RIP1) Kinase Specific Clinical Candidate (GSK2982772) for the Treatment of Inflammatory Diseases [J]. J Med Chem, 2017, 60(4): 1247 – 1261.
- [39] YANG XB, LU HM, XIE H, et al. Potent and Selective RIPK1 Inhibitors Targeting Dual – Pockets for the Treatment of Systemic Inflammatory Response Syndrome and Sepsis [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2022, 61(5): e202114922.
- [40] XIA CN, YAO ZG, XU LJ, et al. Structure – based bioisosterism design of thio – benzoxazepinones as novel necroptosis inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2021, 220: 113484.
- [41] BERGER SB, HARRIS P, NAGILLA R, et al. Characterization of GSK'963: a structurally distinct, potent and selective inhibitor of RIP1 kinase [J]. Cell Death Discov, 2015, 1: 15009.
- [42] WEISEL K, BERGER S, THORN K, et al. A randomized, placebo – controlled experimental medicine study of RIPK1 inhibitor GSK2982772 in patients with moderate to severe rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2021, 23(1): 85.
- [43] LI ZH, HAO YJ, YANG CK, et al. Design, synthesis, and evaluation of potent RIPK1 inhibitors with *in vivo* anti – inflammatory activity [J]. Eur J Med Chem, 2022, 228: 114036.
- [44] HOU J, JU J, ZHANG ZL, et al. Discovery of potent necroptosis inhibitors targeting RIPK1 kinase activity for the treatment of inflammatory disorder and cancer metastasis [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(7): 493.
- [45] XU LJ, TU Y, LI J, et al. Structure – based optimizations of a necroptosis inhibitor (SZM594) as novel protective agents of acute lung injury [J]. Chinese Chemical Letters, 2022, 33(5): 2545 – 2549.
- [46] GUO Y, ZHOU J, WANG YQ, et al. Cell type – specific molecular mechanisms and implications of necroptosis in inflammatory respiratory diseases [J]. Immunol Rev, 2024, 321(1): 52 – 70.
- [47] WANG SZ, DONG GQ, SHENG CQ. Structural Simplification of Natural Products [J]. Chem Rev, 2019, 119(6): 4180 – 4220.
- [48] BENCHEKROUN M, ERMOLENKO L, TRAN MQ, et al. Discovery of simplified benzazole fragments derived from the marine benzosceptrin B as necroptosis inhibitors involving the receptor interacting protein Kinase – 1 [J]. Eur J Med Chem, 2020, 201: 112337.
- [49] WANG YY, MA H, HUANG JX, et al. Discovery of bardoxolone derivatives as novel orally active necroptosis inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2021, 212: 113030.
- [50] MARUNOUCHI T, NISHIUMI C, IINUMA S, et al. Effects of Hsp90 inhibitor on the RIP1 – RIP3 – MLKL pathway during the development of heart failure in mice [J]. Eur J Pharmacol, 2021, 898: 173987.

(收稿日期: 2025 – 03 – 19; 修回日期: 2025 – 09 – 28)

中国科技核心期刊 中国科技论文统计源期刊

《中国药业》杂志 欢迎投稿! 欢迎订阅!

邮发代号: 78 – 130, 各地邮局均可订阅; 补订、破月订可向本刊办理。电话兼传真: (023) 86592565

网上投稿: <http://www.zhongguoyaoye023.com> 或中国药业在线投稿系统