

Új megközelítés egy feltörekvő neurodegenerációs célpont kutatásában

Petró József Levente^{1*}, Hornyánszky Gábor², Éles János¹

¹Richter Gedeon Nyrt., Budapest, Magyarország

²Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Budapest, Magyarország

*Levelező szerző, e-mail: petroj@gedeonrichter.com

Beérkezett: 2025. július 30.; elfogadva: 2026. március 9.

Összefoglalás

A RIPK1 kináz számos központi idegrendszeri megbetegedéssel kapcsolatba hozható, és fontos szerepet játszik a gyulladásos folyamatok szabályozásában. A fehérje gátlásával potenciálisan csökkenthető a gyulladás mértéke. Munkánk során egy referenciavegyületből kiindulva, alapváz-helyettesítéssel új, aktív szerkezeti kört azonosítottunk. Szisztematikus gyógyszerkémiailag optimalizációval, ideális szubsztituensek megválasztásával sikerült egy *in vitro* mérésen aktív, szelektív RIPK1 kináz gátlót szintetizálnunk.

Kulcsszavak: RIPK1, kináz, szelektív, neurodegeneráció, szintézis

Novel approach to research on an emerging neurodegeneration target

József Levente Petró¹, Gábor Hornyánszky², János Éles¹

¹Richter Gedeon Plc., Budapest, Hungary

²Budapest University of Technology and Economics, Budapest, Hungary

Summary

Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1 (RIPK1) plays a critical role in regulating cell death and inflammation, making it an important therapeutic target in various diseases, including neurodegenerative disorders. RIPK1 is a central mediator of both necroptosis (regulated necrosis) and apoptosis, acting as a switch between cell survival and death. RIPK1 is characterized by a unique allosteric pocket that regulates its kinase activity, making it a promising target for selective inhibition. The discovery of small molecules capable of modulating this allosteric site offers the potential for highly specific inhibitors, a key advantage for therapeutic intervention. In particular, the unique kinase-regulating allosteric pocket allows for the development of compounds that can selectively inhibit RIPK1 without interfering with other kinases that share similar structural features.

In our discovery campaign, we initially focused on GSK2982772 as a starting point for the design of RIPK1 inhibitors. We applied scaffold hopping strategy to explore alternative scaffolds that could retain the binding affinity and selectivity for RIPK1 while offering improved pharmacological properties. Through this approach, we successfully identified the malonamide scaffold as a suitable replacement for the well-established serine template found in previous RIPK1 inhibitors. The malonamide scaffold offered a favorable binding profile within the allosteric pocket of RIPK1, presenting an opportunity to enhance the compound's potency and selectivity. This scaffold was further optimized to create a series of analogs, each with variations in their chemical structures designed to improve affinity for RIPK1. Once the analogs were synthesized, we tested the enantiomers of the most promising compound on a panel of 97 different kinases. The goal was to assess the compound's selectivity across a wide range of kinases, ensuring that the active enantiomer would exhibit a high degree of specificity for RIPK1 while avoiding undesirable interactions with other kinases that could lead to side effects. The results of these kinase assays demonstrated that the active enantiomer of the compound was indeed highly selective for RIPK1, confirming the success of the isosteric replacement strategy and the potential of the malonamide scaffold as a platform for developing selective RIPK1 inhibitors. This work highlights the effectiveness of scaffold replacement and structural optimization in the design of selective kinase inhibitors. By focusing on the unique allosteric pocket of RIPK1 and applying a systematic approach to scaffold modification, we were able to develop a highly selective and potent inhibitor of RIPK1.

Keywords: RIPK1, kinase, selective, neurodegeneration, synthesis

Bevezetés

A RIPK1 szerepe és gátlása

A receptor-kölcsönható szerin/treonin kináz (RIPK1) kulcsszerepet játszik számos sejtszintű folyamatban, mint például az apoptózis, a nekroptózis vagy a gyulladásszerű folyamatok szabályozása (Deng et al. 2024; Najjar et al. 2016; Della Torre et al. 2021; Zhang et al. 2019). Egészséges sejtben, nyugalmi állapotban, a RIPK1 ubiquitinált formában egy több fehérjét magában foglaló komplex, az úgynevezett Komplex 1 közvetlenül a TNFR1 intracelluláris részéhez kötődik. Patológias állapotban a TNF α kötődik a TNFR1 extracelluláris doménjéhez, aminek következtében a RIPK1 a 166-os szerinen autofoszforálódik (aktiválódik), az aktivációt követően pedig a RIPK3-mal és az MLKL-lel létrehozza a Komplex 2-t. A komplex létrejötte nekroptózishoz vezet, amelynek során a gyulladás fokozódik. Amennyiben egy RIPK1 inhibitorral megakadályozzuk a RIPK1 autofoszforilációját és ezáltal az aktiválódását, a Komplex 2 létrejötte meghiúsul, így a nekroptózis folyamata sem indul el, és a gyulladás mértéke csökken. Az NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) egy olyan fehérjekomplex, amely transzkripciósfaktorként szabályozza a gyulladást, az immunválaszt, a sejtek túlélését és növekedését. Az NF- κ B szoros kapcsolatban áll a RIPK1-gyel: a RIPK1 segíti az NF- κ B-aktivációt, az NF- κ B-t kontrolláló IKK (I κ B-kináz) viszont gátolja a RIPK1-mediált sejthalált (Mifflin–Ofengeim–Yuan 2020).

A RIPK1-gyel összefüggésbe hozható betegségek

A RIPK1 működése az emberi szervezet számos betegségével hozható összefüggésbe. Ezek között mind perifériás, mind központi idegrendszeri megbetegedések megtalálhatók; az utóbbiak közül kiemelendők a szklerózis multiplex (MS) (Ofengeim et al. 2015), az amiotrófiás laterálszklerózis (ALS) (Ito et al. 2016), az Alzheimer-kór (AD) (Caccamo et al. 2017), a Parkinson-kór (PD) (Iannielli et al. 2018), a Huntington-kór (Zhu et al. 2011), az agyi érkatasztrófa (Zhang et al. 2016), az aneurizmaeredetű subarachnoidealis vérzés (Chen et al. 2018) és a traumás agysérülés (TBI) (Hu et al. 2022).

A RIPK1-gátlók típusai

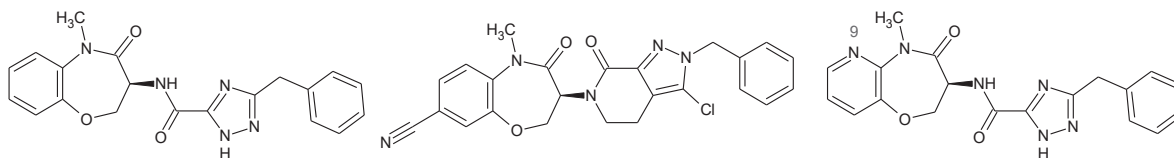
A kinázgátlókat biokémiai hatásmechanizmusuk alapján hét csoportba sorolhatjuk (Lee et al. 2023); ez a csoportosítás a RIPK1 inhibitorokra is igaz – azzal a különbséggel, hogy a RIPK1 esetében DLG aminosav hármáról beszélünk (Martens et al. 2020), míg a többi kináz esetében ezt a szerepet DFG aminosav hármás tölti be. Az I-es típusú inhibitorok az ATP-kötőhelyen kötődnek, aktív konformációban, amelyet úgynevezett DLG-befelé állapotnak is neveznek. A katalitikus hurkon lévő aszpa-

raginsav–leucin–glicin aminosav hármás (DLG) magnéziumionokon keresztül kölcsönhatásba lép az ATP γ -foszfát csoportjával, ezáltal stabilizálva az aktív állapotot. Az I-es típusú inhibitorok utánozzák az ATP adeninyűrűje és a *hinge* régió közötti hidrogénkötéseket. Tekintettel arra, hogy a legtöbb kináz ATP-kötőhelyével kölcsönhatásba léphetnek, szelektivitási problémák tapasztalhatók. A II-es típusú inhibitorok szintén kölcsönhatásba lépnek az ATP-kötőhellyel, viszont megakadályozzák a fehérje aktív állapotba jutását, hatásukra stabilizálódik a DLG-kifelé konformáció. Kiemelendő, hogy az inhibitor további kölcsönhatásba lép egy hidrofób zsebbel is, amelyet allosztérikus zsebnek is neveznek. Ez a hidrofób zseb csak az inaktív konformációban hozzáférhető. A III-as típusú inhibitorok – amelyek nem ATP-kompetitív kinázgátlók – egy lipofil allosztérikus kötőhelyhez kötődnek az ATP-kötőhelyen belül, ezáltal szabályozzák az ATP kötődését. Ugyanakkor nem alakítanak ki kölcsönhatást a *hinge* régióval, hiszen az adott kinázra jellemző helyen kötődnek, így kitűnő szelektivitás érhető el (Chen et al. 2022).

A legfontosabb referenciavegyületek

A publikációs és szabadalmi trendeket követve megállapítható, hogy a RIPK1 inhibitorok kutatásának fő iránya a III-as típusú inhibitorok kutatása (Bai et al. 2024; Farenc et al. 2025; Harris et al. 2017; Harris et al. 2019; Yoshikawa et al. 2018). A kötőmódnak köszönhetően nincs kötődés a *hinge* régióhoz, ehelyett egy lipofil allosztérikus zsebbel történik kölcsönhatás. Így nagy fokú kinázszelektivitás érhető el.

A GSK kutatói DNS-kódolt molekulakönyvtárak – ennek lényege, hogy a DNS-t vonalkódként alkalmazzuk a könyvtárat alkotó vegyületek jelölésére – szűrése során bukkantak a GSK481 kódjelű anyagra, amely hiperaktív-nak bizonyult. Szuboptimális farmakokinetikai tulajdonságai és magas lipofilitása miatt inkább volt tekinthető vezérmolekulának, amely optimalizációra szorult. A vegyület minden részét alaposan optimalizálva jutottak a GSK2982772 nevű inhibitorhoz (1. ábra). Sikertől tovább növelni az aktivitást, a vegyület jó farmakokinetikai profillal rendelkezett, és a TNF α indukálta *in vivo* hipotermia-vizsgálatokon is megfelelő eredményt ért el. Két fluoratom beépítésével, a héttagú gyűrűben található oxigénatom szénatomra történő cseréjével és a laktám N-metilcsoportjának elhagyásával kapták a GSK3145095 vegyületet (Harris et al. 2017; Harris et al. 2019). A GSK2982772 feltehetően alacsony lipofilitása és a triazolgyűrű NH-ja miatt rossz agyi penetrációval rendelkezik. Erre nyújtott megoldást a Takeda Pharmaceuticals vegyülete (1. ábra), amelyben a GSK2982772 amidkötését és triazolgyűrűjét egy biciklusba zárták. Így kettővel tudták csökkenteni a hidrogénkötés-donorok számát, ami fontos szerepet játszhat a megfelelő agyi penetrációban. A Takeda-vegyület nagyon potens, orálisan aktív, jó agyi penetrációval és kitűnő farmakokinetikai profillal



1. ábra | GSK2982772 (balra), a Takeda Pharmaceuticals vegyülete (középen) és az *eclitasertib*
 Forrás: Harris et al. 2017; Harris et al. 2019; Yoshikawa et al. 2018; Farenc et al. 2025

rendelkezik (Yoshikawa et al. 2018). A Denali kutatói a biciklus 9-es pozíciójába építettek be nitrogént (Farenc et al. 2025). A szabadalmi bejelentés példái közül az egyik legígéretesebb a DNL-758 kódjelű származék volt (1. ábra), amely később az *eclitasertib* nevet kapta.

Vizsgálati anyag és módszer

Célunk olyan új, szabadalmaztatható RIPK1 inhibitorok azonosítása és szintézise volt, amelyek megfelelő szelektivitással rendelkeznek. Munkánk alapját preparatív szerves kémiai munka képezte. A megfelelő mennyiségben és minőségben előállított végtermékeket ezután *in vitro* vizsgáltuk. A vegyületek kiválasztási kaszkádba kerültek, ahol a vegyület akkor léphetett a következő lépcsőfokra, ha megfelelt az adott szint kritériumainak. Az optimalizációs munka során fontos mérőszámaink voltak a nem sejtes gátlási értékek, a humán és egér sejtvonalon mért gátlási értékek, illetve a metabolikus stabilitás. A kapott *in vitro* eredmények függvényében tudtunk további vegyületeket tervezni és szintetizálni, hogy javíthassunk a kérdéses paraméteren. A kísérletes munka, az előállított vegyületek jellemzése, assay-leírások és *in vitro* eredmények elérhetők a KDP keretében már megvalósult publikáció mellékleteként (Petró et al. 2024).

Vizsgálati eredmények

Munkánkat a szakirodalom és a referenciamolekulák átfogó tanulmányozásával kezdtük (Bai et al. 2024; Farenc et al. 2025; Harris et al. 2017; Harris et al. 2019; Yoshikawa et al. 2018). Megállapítottuk, hogy a jellemzően perifériás indikációkra fejlesztett (aza)benzoxazepinonvázis referenciavegyületek (GSK2982772, *eclitasertib*) közös kulcsmotívuma a benzil végcsoport mellett a megfelelő térállású, biciklusba foglalt szerin építőelem (L-konfigurációjú aminosavból kiindulva). Egyértelmű volt számunkra, hogy ennek az aminosavnak a lecserélésével szabadalmilag nem védett kémiai térhez juthatunk, amelyben kiterjedt lehetőségünk van gyógyszerkémiai optimalizációra azzal a céllal, hogy egy megfelelő agyi penetrációval rendelkező klinikai jelöltet azonosítsunk. Ezt figyelembe véve elsődleges célunk az amidkötés átalakítása volt. Utána többlépcsős, multiparaméteres optimalizációval kívántunk eljutni a vezérmolekulától egy potenciális klinikai kandidátusig.

A már említett amidkötés átalakítását elsőként bioizoszter-helyettesítéssel hajtottuk végre. Az irodalomban számos amidhelyettesítő ismert, amelyek közül többet is alkalmaztunk. Általánosságban kijelenthető, hogy a csere – meglepetésünkre – egy kivétellel mindig inaktív származékokat eredményezett. Ennek hatására kutatásunk következő láncszemeként az amidkötés megfordításával malonsav-származékokat szintetizáltunk. A szakirodalom az utóbbi megközelítéssel előállított amid bioizosztereket nem meglepő módon *retroamidok*knak hívja. A GSK2982772 referenciaanyagból kiindulva, az amidkötés formális megfordításával és a héttagú gyűrűben található oxigén elhagyásával, 3-mas típusú alapváz-helyettesítéssel módszerrel jutottunk az **1** vegyülethez (2. ábra), amely kémiaileg instablnak bizonyult, így *in vitro* sem tudtuk mérni (Petró et al. 2024). Feltételeztük, hogy a kémiai instabilitás okozója az amino-triazol építőelem, ezért ezt igyekeztünk lecserélni.

Optimalizációs munkánk első körében a triazolgyűrűt cseréltük le (Petró et al. 2024), tizenkét különböző öttagú aromás heterociklust kipróbálva (zöld nyíl a 2. ábrán). Feltételezésünk helyes volt, a módosítás kémiaileg stabil vegyületeket eredményezett. A központi heterociklusnak kulcsszerepe van a kötődés szempontjából: egyrészt elősegíti hidrogénkötés kialakulását az inhibitorban található amid karbonilcsoportja és a kötőhelyen található Asp156 kódjelű aminosav NH-ja között, ezenfelül rögzíti a benzil végcsoportot az ATP-kötőhelyen található lipofil zsebbe (3. ábra). Mindkét kölcsönhatás szükséges, ha potens RIPK1-gátlókat szeretnénk előállítani. Jellemeztük a másik két triazol izomert (**2** és **3**), és a vegyületek a nem sejtes *in vitro*, illetve a humán sejtvonalon végzett méréseken is aktívnak bizonyultak. Egy újabb nitrogén beépítésével sikerült tovább növelni az aktivitást: a **4** tetrazol potens inhibitornak bizonyult. Előállítottunk különböző diazol-származékokat is, amelyek közül az **5** és **6** pirazolok esetében az aktivitás romlását tapasztaltuk; a vegyületek már a tesztsorozat legelső lépcsőjén kiszűrésre kerültek. Fontos mérföldkő volt a **7** imidazol-származék, amelyet vezérmolekulának választottunk. Az eredmények alapján egyértelmű, hogy kulcsfontosságú a nitrogénatomok lokációja. Metilcsoport beépítésével is kísérleteztünk (**8**-as és **9**-es vegyületek), azonban gyenge aktivitásuk alapján kijelenthető, hogy a szubsztitúció kedvezőtlenül befolyásolja az inhibíciót. A nitrogéntartalmú heterociklusok után megvizsgáltuk a különböző kalkogén elemeket is tartalmazó

heterociklusokat. A hasonló mintázatú oxazolt (**10**) és tiazolt (**11**) összehasonlítva megállapítható, hogy az oxigénatom kénatomra történő cseréje kedvezően befolyásolja a benzilcsoport orientációját. A változtatás jobb illeszkedést tesz lehetővé az allostérikus lipofil zsebbe, aminek hatására százszoros hatásvnövekedés tapasztalható. A tiazolok összehasonlítása újabb bizonyíték a benzilcsoport vektorának kiemelkedő szerepére. Amennyiben a benzilcsoport a nitrogénatom mellett volt (**12**), a vegyület gyenge aktivitással rendelkezett, ha viszont a kénatom mellett (**11**), akkor a molekulacsalád egyik legaktívabb vegyületét eredményezte. A központi gyűrűben három heteroatomot tartalmazó származék (**13**) fennakadt a tesztorozat első lépcsőjén.

Az optimalizációs munka következő szakaszában megvizsgáltuk a benzilcsoport aktivitásra gyakorolt hatását (sárga nyíl a 2. ábrán); ennek során különböző poláris és apoláris végcsoportokat is teszteltünk (Petró et al. 2024). A **14** és **15** piridil-származékok kevésbé bizonyultak aktívak, függetlenül a nitrogénatom nem kötő elektronpárjának vektorától, míg két fluoratom beépítésével a várakozásoknak megfelelően potensebb származékhoz (**16**) jutottunk. Megfigyeléseink megfelelnek az irodalmi tapasztalatoknak, poláris csoportok nem toleráltak ebben az allostérikus apoláris kötőzsebben.

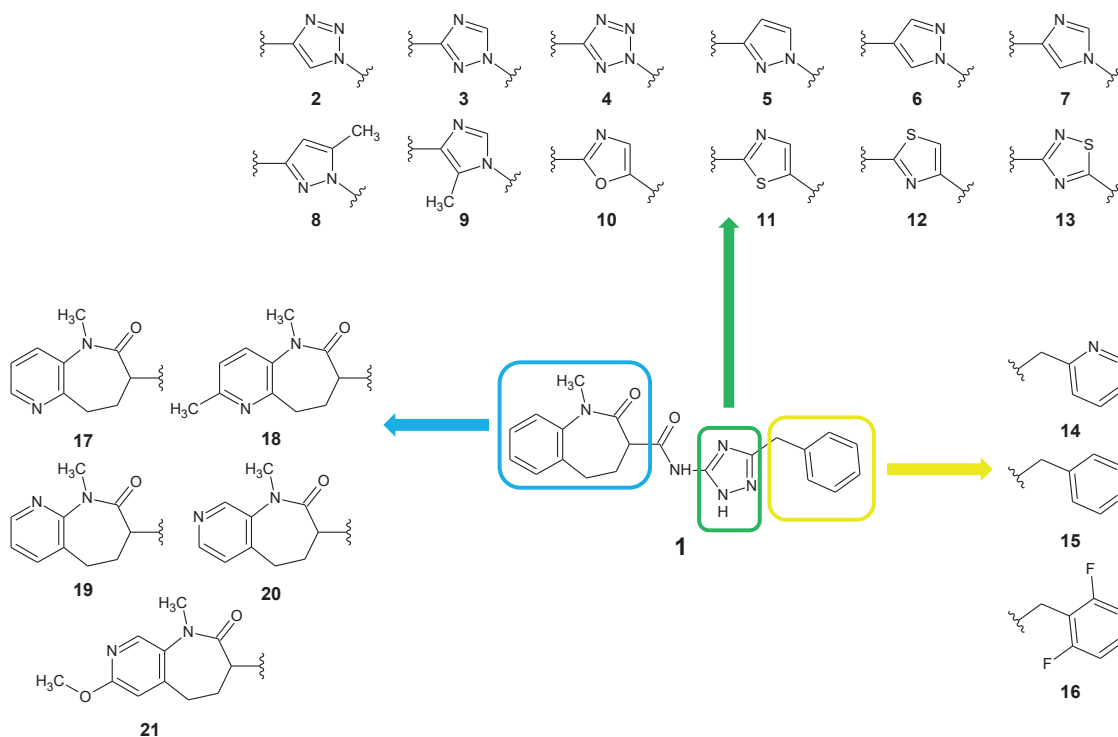
A projekt következő lépése a biciklusos építőelem vizsgálata volt (kék nyíl a 2. ábrán) (Petró et al. 2024). Tekintettel arra, hogy a biciklus fenilcsoportja nem kapcsolódik a *hinge* régióhoz, lecserélhető különböző piridingyűrűkre az aktivitás csökkenésével párhuzamosan.

Az aktivitás szempontjából ismét kulcsfontosságú a nitrogénatom pozíciója. A nitrogénatom ideális helyzete az alkilcsoporthoz képest parahelyzetben található (**20**), viszont az aktivitást sikerült tovább növelni egy metoxycsoport beépítésével (**21**). A biciklust érintő optimalizációs munkánk során megállapítottuk, hogy az aktivitás valóban csökken a fenilcsoport bioizoszter helyettesítésével, piridingyűrű beépítésével, de a változtatás előnyösen befolyásolja a vegyületek lipofilitását. A 7-azaszármazék szintetikus hozzáférhetetlennek bizonyult.

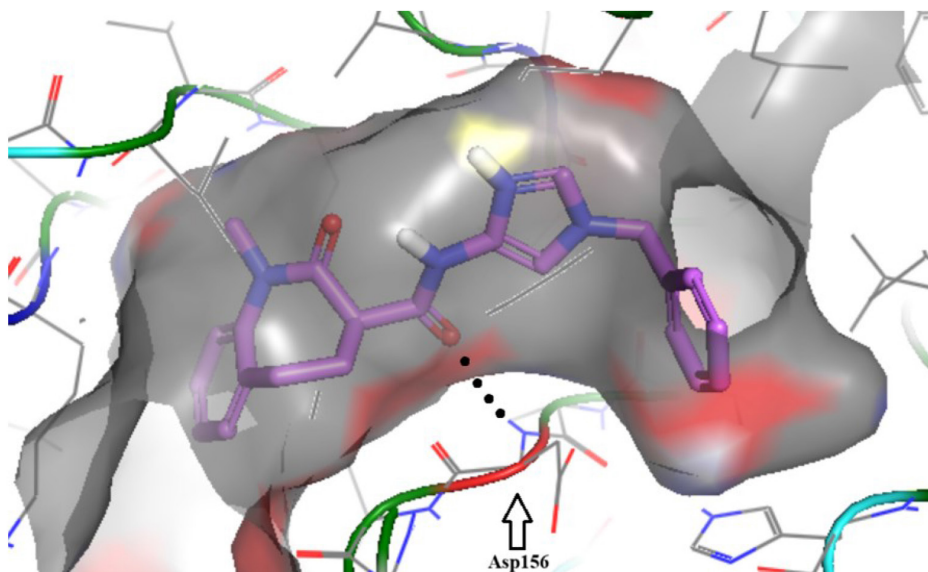
Az optimalizációs munka a molekula összes szerkezeti elemére kiterjedt, sikerült a vegyület különböző részeire

1. táblázat | A 22 enantiomerjének jellemzése

| Vegyület | Enantiomer | ADP-Glo inhibitor potenciál (%) | ADP-Glo pK _i | U937 pIC ₅₀ | Kináz-szelektivitás |
|-----------|------------|---------------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------|
| 22 | racém | 88 | 7,28±0,19 | 7,24±0,02 | – |
| 23 | S | 33 | 5,84±0,07 | – | ✗ |
| 24 | R | 100 | 7,66±0,11 | 7,20±0,01 | ✓ |



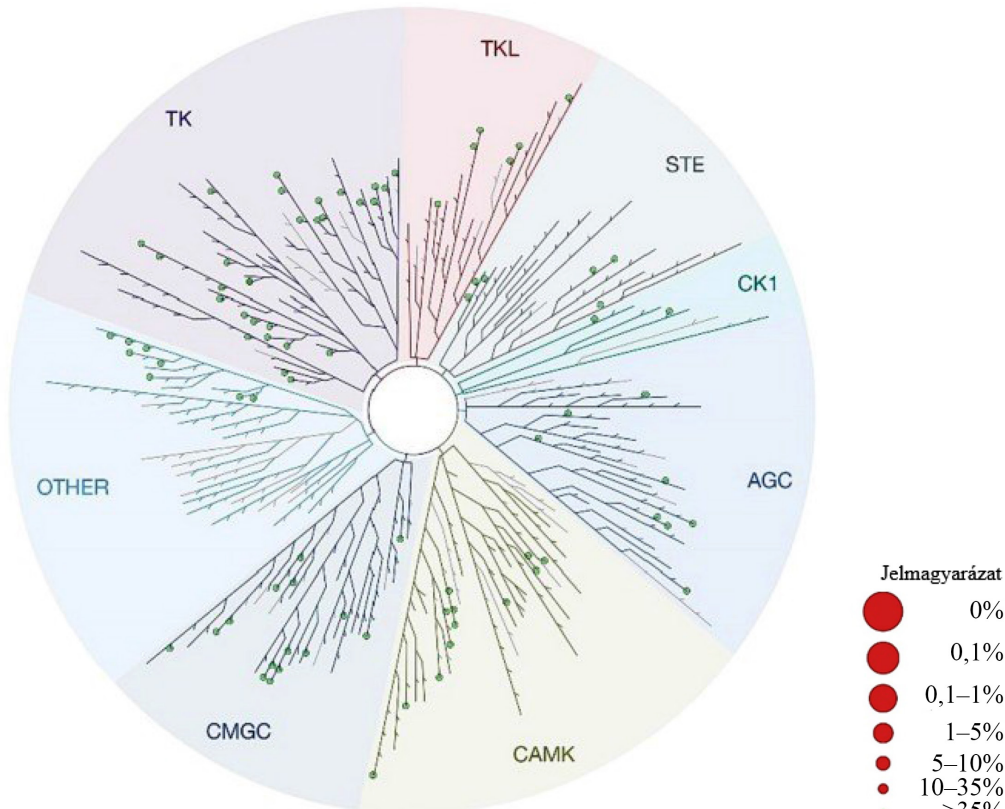
2. ábra | Optimalizációs munka. Világoskék: biciklus optimalizációja, sárga: benzilcsoport optimalizációja, zöld: központi aromás heterociklus optimalizációja.
Forrás: saját szerkesztés



3. ábra | 7 és Asp156 közötti hidrogénkötés (fekete pöttyök), illetve a benzilcsoport az apoláris zsebben (dokkolt vegyület)
 Forrás: saját szerkesztés

optimális szerkezeti elemet azonosítani (Petró *et al.* 2024). A megszerzett tudást egyidejűleg felhasználva, a metoxi-piridiles biciklust és a benzilcsoportot egy optimális vektorú tiazol heterociklussal összekötve kaptuk a 22 származékot (1. táblázat). Várakozásaink alapján ezzel egy megfelelő aktivitású anyaghoz jutottunk.

A 22 enantiomerjeit királis HPLC-n választottuk el, majd az enantiomerek abszolút konfigurációját elektronikus cirkuláris dikroizmus (ECD) mérésekkel határoztuk meg (Petró *et al.* 2024). Az (*R*)- és (*S*)-izomerek *in vitro* mérési eredményeit, kinázszelektivitási értékeit az 1. táblázatban foglaltuk össze. A receptor egyértelmű



4. ábra | (*R*)-enantiomer kináz szelektivitási eredményei
 Forrás: saját szerkesztés

(*R*)-antipód preferenciát mutat, ami összhangban van az irodalmi adatokkal. Kiemelendő, hogy a GSK2982772 (*S*)-konfigurációjú, azonban ez az eltérés a Cahn–Ingold–Prelog-szabály (CIP-szabály) rangsorolási elveiből adódik. 3D-ben megvizsgálva az amidkötés a héttagú gyűrű síkjához képest a sík fölött helyezkedik el (vastag kötéssel jelölendő).

Az enantiomerek további jellemzését az Eurofins Discovery úgynevezett KINOMEscan™ mérésekkel végezték. A tesztek során 97 különböző, a humán kinomra reprezentatív kinázon végeztek gátlási vizsgálatokat. Az eredményeket a 4. ábrán látható kinázfán ábráztuk. A vegyület a 97 vizsgált kináz egyikén sem fejtett ki gátló hatást a vizsgált koncentrációban. Az eredmények alapján kijelenthető, hogy sikerült egy rendkívül potens, szelektív RIPK1-gátlót szintetizálnunk (Petró et al. 2024).

A vizsgálati eredmények értékelése, megvitatása, összefoglalása és következtetések levonása

A GSK2982772 referenciavegyületet kiindulópontként használva új malonamid-származékokat azonosítottunk, amelyek RIP1 kináz gátlók. A szubsztituensek szisztematikus módosítása során ideális szubsztitúciós mintákat sikerült találni, amelyek gyógyszereszerű termékeket eredményeztek. Az enantiomerek szétválasztása után ECD spektroszkópiával igazoltuk az aktív enantiomer abszolút konfigurációját. Az enantiomereket egy 97 kinázt tartalmazó kinázszelektivitási panelen vizsgáltuk. Az (*R*)-enantiomer kiváló gátló potenciált mutatott az összes vizsgált sejtvonalon, kiváló kinázszelektivitással együtt. A fenti eredmények alapján kijelenthető, hogy az előállított malonamid-származékok ígéretes jelölteknek tekinthetők a RIPK1 inhibitorok további fejlesztéséhez (Petró et al. 2024).

Köszönetnyilvánítás

A projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a KDP-2020 pályázati program finanszírozásában valósult meg.



AZ NKFI ALAPBÓL
MEGVALÓSULÓ PROGRAM

Irodalomjegyzék

- Bai, Y., Qiao, Y., Li, M., Yang, W., Chen, H., Wu, Y. & Zhang, H. (2024) RIPK1 inhibitors: A key to unlocking the potential of necroptosis in drug development. *European Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 265. Article No. 116123. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2024.116123>
- Caccamo, A., Branca, C., Piras, I. S., Ferreira, E., Huentelman, M. J., Liang, W. S. ... & Oddo, S. (2017) Necroptosis activation in Alzheimer's disease. *Nature Neuroscience*, Vol. 20. No. 9. pp. 1236–1246. <https://doi.org/10.1038/nn.4608>
- Chen, L., Zhang, X., Ou, Y., Liu, M., Yu, D., Song, Z. ... & Shi, J. (2022) Advances in RIPK1 kinase inhibitors. *Frontiers in Pharmacology*, Vol. 13. Article No. 976435. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.976435>
- Chen, T., Pan, H., Li, J., Xu, H., Jin, H., Qian, C. ... & Chen, G. (2018) Inhibiting of RIPK3 attenuates early brain injury following subarachnoid hemorrhage: Possibly through alleviating necroptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Vol. 107. pp. 563–570. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.056>
- Della Torre, L., Nebbioso, A., Stunnenberg, H. G., Martens, J. H. A., Carafa, V. & Altucci L. (2021) The Role of Necroptosis: Biological Relevance and Its Involvement in Cancer. *Cancers (Basel)*, Vol. 13. No. 4. Article No. 684. <https://doi.org/10.3390/cancers13040684>
- Deng, X., Wang, L., Zhai, Y., Liu, Q., Du, F., Zhang, Y. ... & Wang, H. (2024) RIPK1 plays a crucial role in maintaining regulatory T-Cell homeostasis by inhibiting both RIPK3- and FADD-mediated cell death. *Cellular & Molecular Immunology*, Vol. 21. No. 1. pp. 80–90. <https://doi.org/10.1038/s41423-023-01113-x>
- Farenc, C., Clot, P.-F., Badalamenti, S., Kruger, A. J., Pomponio, R. J., Krahnke, T. ... & Lin, Y. (2025) A Randomized Phase I Trial Evaluating Safety and Pharmacokinetics of Single and Multiple Ascending Doses of Eclitastertib, a RIPK1 Inhibitor, in Healthy Participants. *Advances in Therapy*, Vol. 42. No. 8. pp. 3993–4012. <https://doi.org/10.1007/s12325-025-03255-y>
- Harris, P. A., Berger, S. B., Jeong, J. U., Nagilla, R., Bandyopadhyay, D., Campobasso, N. ... & Bertin, J. (2017) Discovery of a First-in-Class Receptor Interacting Protein 1 (RIP1) Kinase Specific Clinical Candidate (GSK2982772) for the Treatment of Inflammatory Diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 60. No. 4. pp. 1247–1261. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01751>
- Harris, P. A., Marinis, J. M., Lich, J. D., Berger, S. B., Chirala, A., Cox, J. A. ... & Marquis, W. (2019) Identification of a RIP1 Kinase Inhibitor Clinical Candidate (GSK3145095) for the Treatment of Pancreatic Cancer. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 10. No. 6. pp. 857–862. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.9b00108>
- Hu, X., Zhang, H., Li, Y., Wang, X., Xu, C., Ni, W. & Zhou, K. (2022) Role of necroptosis in traumatic brain and spinal cord injuries. *Journal of Advanced Research*, Vol. 40. pp. 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.12.002>
- Iannielli, A., Bido, S., Folladori, L., Segnali, A., Cancellieri, C., Maresca, A. ... & Broccoli, V. (2018) Pharmacological Inhibition of Necroptosis Protects from Dopaminergic Neuronal Cell Death in Parkinson's Disease Models. *Cell Reports*, Vol. 22. No. 8. pp. 2066–2079. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.01.089>
- Ito, Y., Ofengeim, D., Najafov, A., Das, S., Saberi, S., Li, Y. ... & Yuan, J. (2016) RIPK1 mediates axonal degeneration by promoting inflammation and necroptosis in ALS. *Science*, Vol. 353. No. 6299. pp. 603–608. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6803>
- Lee, P. Y., Yeoh, Y. & Low, T. Y. (2023) A recent update on small-molecule kinase inhibitors for targeted cancer therapy and their therapeutic insights from mass spectrometry-based proteomic analysis. *The FEBS Journal*, Vol. 290. No. 11. pp. 2845–2864. <https://doi.org/10.1111/febs.16442>
- Martens, S., Hofmans, S., Declercq, W., Augustyns, K. & Vandebecle, P. (2020) Inhibitors Targeting RIPK1/RIPK3: Old and

- New Drugs. Trends in Pharmacological Sciences, Vol. 41. No. 3. pp. 209–224. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.01.002>
- Mifflin, L., Ofengeim, D. & Yuan, J. (2020) Receptor-interacting protein kinase 1 (RIPK1) as a therapeutic target. *Nature Reviews: Drug Discovery*, Vol. 19. No. 8. pp. 553–571. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0071-y&>
- Najjar, M., Saleh, D., Zelic, M., Nogusa, S., Shah, S., Tai, A. ... & Degterev, A. (2016) RIPK1 and RIPK3 Kinases Promote Cell-Death-Independent Inflammation by Toll-like Receptor 4. *Immunity*, Vol. 45. No. 1. pp. 46–59. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.06.007>
- Ofengeim, D., Ito, Y., Najafov, A., Zhang, Y., Shan, B., DeWitt, J. P. ... & Yuan, J. (2015) Activation of necroptosis in multiple sclerosis. *Cell Reports*, Vol. 10. No. 11. pp. 1836–1849. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.02.051>
- Petró, J. L., Bényei, Gy., Bana, P., Linke, N., Horti, F., Szabó, J. E. ... & Éles, J. (2024) Design, synthesis and biological evaluation of novel cyclic malonamide derivatives as selective RIPK1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 100. Article No. 129643. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2024.129643>
- Yoshikawa, M., Saitoh, M., Katoh, T., Seki, T., Bigi, S. V., Shimizu, Y. ... & Yogo, T. (2018) Discovery of 7-Oxo-2,4,5,7-tetrahydro-6H-pyrazolo[3,4-c]pyridine Derivatives as Potent, Orally Available, and Brain-Penetrating Receptor Interacting Protein 1 (RIP1) Kinase Inhibitors: Analysis of Structure–Kinetic Relationships. *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 61. No. 6. pp. 2384–2409. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01647>
- Zhang, S., Wang, Y., Li, D., Wu, J., Si, W. & Wu, Y. (2016) Necrostatin-1 Attenuates Inflammatory Response and Improves Cognitive Function in Chronic Ischemic Stroke Mice. *Medicines (Basel)*, Vol. 3. No. 3. Article No. 16. <https://doi.org/10.3390/medicines3030016>
- Zhang, X., Dowling, J. P. & Zhang, J. (2019) RIPK1 can mediate apoptosis in addition to necroptosis during embryonic development. *Cell Death & Disease*, Vol. 10. No. 3. Article No. 245. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1490-8>
- Zhu, S., Zhang, Y., Bai, G. & Li, H. (2011) Necrostatin-1 ameliorates symptoms in R6/2 transgenic mouse model of Huntington's disease. *Cell Death & Disease*, Vol. 2. No. 1. Article No. e115. <https://doi.org/10.1038/cddis.2010.94>