

# Nowe celowane leki małowcząsteczkowe w leczeniu astmy

## New targeted small molecule drugs in asthma treatment

JAN ROMANTOWSKI, MAREK NIEDOSZYTKO

<sup>1</sup> Klinika Alergologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

### Streszczenie

Astma jest częstą chorobą przewlekłą oskrzeli, stanowiącą istotny problem społeczny na świecie. Pomimo znacznego postępu w terapii wziewnej w ostatnich dekadach, astma ciężka stanowi nadal wyzwanie dla współczesnej medycyny. Heterogenność mechanizmów stojących za nasileniem objawów i oporność na klasyczne leki wziewne znacznie utrudnia poszukiwanie celowanych leków w grupie chorych nie uzyskujących zadowalającej kontroli choroby w oparciu o podstawowe leki. Dotychczasowe badania nad nowymi lekami w ciężkiej astmie koncentrują się głównie na syntezie przeciwciał. Jednak relatywnie duża cząsteczka tych leków nakłada na nie pewne ograniczenia związane z drogą podania i możliwymi punktami uchwytu.

Niniejszy artykuł omawia nowe możliwości terapeutyczne związane z opracowywanymi w ostatnich latach lekami małowcząsteczkowymi o masie poniżej 900 Daltonów.

**Słowa kluczowe:** mała cząsteczka, astma, fenotyp, lek, eozynofil

### Summary

Asthma is a common chronic bronchial disease that is a major social problem in the world. Despite significant advances in inhalation therapy in recent decades, severe asthma remains a challenge for modern medicine. The heterogeneity of the mechanisms behind the severity of symptoms and resistance to classic inhalation drugs significantly impedes the search for targeted drugs in a group of patients with no satisfactory disease control based on basic drugs. To date, research on new drugs in severe asthma has mainly focused on antibody synthesis. However, a relatively large molecule of these drugs imposes some restrictions on the way of their administration and diagnostic targets.

The article discusses new therapeutic options associated with low molecular weight drugs under 900 Dalton being developed in recent years.

**Keywords:** small molecule, asthma, phenotype, drug, eosinophil

© *Alergia Astma Immunologia* 2019, 24 (3): 131-136

www.alergia-astma-immunologia.pl



**Adres do korespondencji / Address for correspondence**

Jan Romantowski

Klinika Alergologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

ul. Smoluchowskiego 17, 80-214 Gdańsk

tel. +48 58 584 4300, fax. +48 58 584 4300

e-mail: jromant@gumed.edu.pl

### Wykaz skrótów:

**cAMP** – (ang. *Cyclic adenosine monophosphate*) Cykliczny adenozyno-3',5'-monofosforan

**CCR3** – (ang. *C-C chemokine receptor type 3*) receptor chemokinowy typu 3

**CD** – (ang. *cluster of differentiation*) Antygen różnicowania komórkowego, kompleks różnicowania

**CRTH2** – ang. *chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on Th2 cells*

**FENO** – (ang. *Fractional exhaled nitric oxide*) Badanie poziomu tlenu azotu w wydychanym powietrzu

**FEV1** – (ang. *forced expiratory volume in one second*) natężona objętość pierwszosekundowa

**GATA-3** – czynnik transkrypcyjny typu 3 z rodziny GATA

**GM-CSF** – (ang. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów

**HDAC2** – (ang. *histone deacetylase 2*) deacetylaza histonowa typu 2

**IgE** – Immunoglobulina w klasie E

**IL-3** – Interleukina 3

**IL-4** – Interleukina 4

**IL-4R** – Receptor dla interleukiny 4

**IL-5** – Interleukina 5

**IL-8** – Interleukina 8

**IL-9** – Interleukina 9

**IL-13** – Interleukina 13

**IL-17** – Interleukina 17

**JAK** – (ang. *Janus-activated kinases*) kinaza janusowa

**JNK** – (ang. *c-Jun N-terminal kinase*) kinaza aktywowana stresem, podtyp MAP

**MAP** – (ang. *mitogen-activated protein kinase*) kinaza aktywowana mitogenami

**PDE4** – fosfodieasteraza typu 4

**PI3KD** – (ang. *phosphoinositide 3-kinase  $\delta$  subunit*) kinaza 3 fosfatydyloinozytolu, podjednostka  $\delta$

**POChP** – przewlekła obturacyjna choroba płuc

**SGRQ** – (ang. *St. George's Respiratory Questionnaire*)  
Kwestionariusz Szpitala św. Jerzego

**STAT6** – (ang. *Signal transducer and activator of transcription 6*) czynnik transkrypcyjny przekazujący sygnały

## WSTĘP

Astma jest przewlekłą chorobą zapalną oskrzeli, charakteryzującą się zmienną w czasie obturacją i nadreaktywnością oskrzeli. Częstość występowania na świecie określa się na 4,3% (5,4% w Polsce), natomiast stwierdza się znaczne różnice między krajami: od 0,2% w Chinach do 21% w Australii, które nie mogą być w pełni wytłumaczone dostępnością opieki medycznej [1, 2]. Dzięki postępowi, jaki dokonał się w ostatnich dekadach w terapii wziewnej astmy, śmiertelność jest relatywnie niska i wynosi poniżej 1%. Jednak objawy astmy stanowią istotny problem społeczny. W Stanach Zjednoczonych w 2008 roku połowa astmatyków miała przynajmniej jeden napad astmy z czterema absencjami w szkole i pięcioma – w pracy [3]. Wydaje się, iż leczenie pozwalające na dobrą kontrolę choroby może prawie całkowicie zapobiec napadom astmy a tym samym zmniejszyć koszty społeczne choroby [4].

Astma jest chorobą heterogenną. U jej podłoża leżą różne szlaki metaboliczne i prozapalne, jednak zazwyczaj są powiązane z eozynofilią, zwiększoną aktywnością limfocytów Th2, alergenowo-swoistymi przeciwciałami IgE, a także podwyższonym stężeniem charakterystycznych cytokin (IL-4, IL-5, IL-13) [5-7]. Mechanizmy te są obecne w różnym stopniu u pacjentów, co przekłada się na znaczne zróżnicowanie kliniczne, toteż od kilku lat wyróżnia się fenotypy astmy, do których planuje się dopasować indywidualne leczenie. Takie podejście jak dotąd w praktyce klinicznej znalazło odzwierciedlenie jedynie w przypadku decyzji o wyborze leczenia biologicznego ciężkiej astmy (omalizumab w astmie IgE-zależnej vs. mepilizumab, benralizumab w astmie eozynofilowej) [4].

Jak dotychczas, znakomita większość leków stosowanych w terapii celowanej chorób przewlekłych (w tym astmy) jest przeciwciałami. W ostatnich latach pojawiła się koncepcja stworzenia leków małowcząsteczkowych o działaniu celowanym na konkretny mechanizm układu immunologicznego. Leki małowcząsteczkowe to substancje o wielkości poniżej 900 Daltonów, co warunkuje wysoką biodostępność – cząsteczka może dość łatwo przenikać błony komórkowe. Przeciwciała będące relatywnie dużymi białkami nie mają tej właściwości. W farmakologii większość leków doustnych jest małymi cząsteczkami działającymi w wielu szlakach metabolicznych, jednak koncepcja celowanej terapii małą cząsteczką jest stosunkowo nowym podejściem. Nowe możliwości pozwalają na wewnątrzkomórkowe punkty uchwytu leku, niedostępne dla przeciwciał. Dodatkowo wysoka biodostępność może pozwolić na dość dowolną drogę podania w odróżnieniu do zazwyczaj podskórnej w przypadku przeciwciał [8-11]. Niniejszy artykuł koncentruje się na nowych lekach małowcząsteczkowych będących na różnych etapach badań naukowych i klinicznych.

## CZĄSTECZKI ANTYSSENSOWNE

Wśród leków małowcząsteczkowych interesującą grupą są cząsteczki antysensowne. Obejmują cztery główne typy: jednoniciowe oligonukleotydy DNA, siRNA

Th2 – subpopulacja limfocytów T

**TNF- $\alpha$**  – (ang. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ) czynnik martwicy nowotworów, cytokina prozapalna

(ang. *small interfering RNA*), rybozomy i DNAazy. Ich głównym celem jest produkt transkrypcji genów: mRNA. Wiążąc się z nim blokują jego udział w translacji, a tym samym syntezę konkretnych białek. Jest to zatem działanie niezwykle specyficzne w odniesieniu do konkretnych szlaków metabolicznych. Jak się okazuje, leki te potrafią także zmieniać strukturę mRNA prowadząc do produkcji białka podobnego do wyjściowego, ale o nieco innej orientacji przestrzennej i tym samym zmienionej funkcji [12].

## SB010

GATA-3 jest głównym czynnikiem transkrypcyjnym w dojrzewaniu naiwnych limfocytów do Th2. Jego obecność zwiększa stężenia charakterystycznych cytokin: IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, co ma związek z rozwojem i podtrzymaniem zapalenia astmatycznego [13]. W badaniu na 19 noworodkach zaobserwowano związek wyższego stężenia GATA-3 w krwi pępowinowej z rozwojem astmy u dziecka w późniejszych latach [14]. SB010 jest aktywnym enzymatycznie o cechach DNAzy pojedynczym oligonukleotydem DNA, specyficznym do mRNA GATA-3. Jego podanie drogą wziewną powoduje obniżenie stężenia GATA-3, co przekłada się na zmniejszenie aktywacji układu Th2, obniżenie eozynofilii w płwocinie i stężenia IL-5 przy prowokacji alergenowej. W dotychczasowych badaniach wykazano dobrą tolerancję leku [15]. Greulich i wsp. w kontrolowanym placebo randomizowanym badaniu na 23 pacjentach obciążonych POChP po 28 dniach stosowania leku stwierdzili zmniejszenie eozynofilii w płwocinie bez istotnego statystycznie wpływu na objawy i wyniki badań czynnościowych płuc. W badaniu wykazano co prawda poprawę wyniku SGRQ i FENO, jednak dla uzyskania istotności statystycznej może być konieczna ocena większej populacji badanej [16].

## TPI ASM8

TPI ASM8 jest lekiem łączonym, złożonym z dwóch oligonukleotydów: TOP004 i TOP005 podawanym wziewnie w nebulizacji. TOP004 jest skierowany przeciwko mRNA dla podjednostki  $\beta_c$  receptora IL-3, IL-5 i GM-CSF. IL-5 wydzielana przez limfocyty Th2 stymuluje produkcję eozynofilów. IL-3 i GM-CSF działają podobnie stymulując większość linii komórkowych krwi ze szczególnym uwzględnieniem bazoofilów i eozynofilów. Celem TOP005 jest natomiast receptor chemokinowy CCR3. Receptor ten wiąże eotaksynę – silny atraktant dla eozynofilów. Wobec tego, TPI ASM8 ogranicza rolę eozynofilów na różnych etapach: produkcji i rekrutacji (IL-5, IL-3 i GM-CSF) a także akumulacji (eotaksynę). Gauverau i wsp. w 2 badaniach wykazali, iż TPI ASM8 zmniejsza przyrost i całkowitą liczbę eozynofilii w płwocinie po prowokacji alergenem wziewnym. Lek zmniejszał także spadek FEV1 po prowokacji swoistej i nieswoistej metacholiną. Imaoka i wsp. osiągając podobne wyniki badania płwociny zaobserwowali dodatkowo spadek liczby komórek progenitorowych dla eozynofilów u pacjentów leczonych TPI ASM8 (CD34<sup>+</sup>IL-5R $\alpha$ <sup>+</sup> i CD34<sup>+</sup>CCR3<sup>+</sup>). Powyż-

Tabela I. Podsumowanie leków małowcząsteczkowych ukierunkowanych na astmę w aktualnych badaniach. Propozycja fenotypu astmy została określona przez autorów na podstawie mechanizmu działania i populacji w dotychczasowych badaniach

Nazwa/ symbol leku	Droga podania	Punkt działania	Badane wskazania	Ewentualny fenotyp astmy/ cel kliniczny
SB010	wziewna	GATA-3	POChP	Astma eozynofilowa
TPI ASM8	wziewna	IL-3, IL-5, GM-CSF, CCR3	Astma	Astma eozynofilowa
PM-43I	wziewna, donosowa	IL-4, IL13	Astma	b/d
BI-671800	doustna, donosowa	CRTH2	Astma, Atopowe zapalenie skóry	b/d
Ligustrazyna	doustna	Nieznany/ plejotropowe	Astma	Astma neutrofilowa
SP600125	b/d	JNK	Astma	Astma atopowa, <i>remodeling</i>
GSK-2190915	doustna	FLAP	Astma	Astma aspirynowa, eozynofilowa
GSK256066	wziewna	PDE4	Astma	b/d
CHF6001	wziewna	PDE4	Astma	b/d
RPL554	wziewna	PDE3 i PDE4	Astma	Astma neutrofilowa
Nemiralisib	Wziewna	PI3KD/HDAC2	Astma, POChP	Steroidooporność
artezunat	Doustna	PI3KD	Astma	Steroidooporność
Andragrafolid	b/d	PI3KD/HDAC2	b/d	Steroidooporność

b/d – brak danych

sze badania były przeprowadzone na zaledwie kilkunastu pacjentach i tylko jedno z nich było zaślepienie, toteż konieczne są randomizowane kontrolowane placebo badania TPI ASM8 na większej grupie chorych [17-19].

### INHIBITORY FOSFODIESTERAZY

Mechanizmem działania tej grupy leków jest hamowanie fosfodiesterazy, co zwiększa wewnątrzkomórkowe stężenia cAMP modulując aktywność komórki. Wśród 11 rodzin enzymów, typ 4 (PDE4) jest obecny głównie na komórkach zapalnych [20]. PDE4 hamuje zapalenie w wielu komórkach, np. eozynofilach, makrofagach, mastocytach, bazofilach, neutrofilach, limfocytach T i B [21]. Inhibitor PDE4, roflumilast jest lekiem zarejestrowanym w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc, natomiast kolejne cząsteczki są w fazie badań klinicznych w chorobach obturacyjnych: GSK256066, CHF6001 i RPL554. Roflumilast jest lekiem doustnym, a jego podanie w astmie zmniejsza przyrost eozynofilii i neutrofilii w odpowiedzi na prowoka-

cję alergenową [22]. Dotychczas lek nie został zarejestrowany w astmie. Możliwe, że konieczna jest wziewna droga podania, będąca skuteczniejszą w tej grupie leków, ponieważ pozwala na uzyskanie większych efektów w tkance docelowej [23]. Singh i wsp. wykazali, iż GSK256066 i CHF6001 zmniejszały istotnie obturację oskrzeli u pacjentów z atopową astmą przy prowokacji alergenowej. Nie wykazano natomiast wpływu na prowokację niespecyficzne metacholiną [24, 25]. RPL554 jest inhibitorem PDE3 i PDE4. W badaniu klinicznym Franciosi i wsp. wykazano jego działanie bronchodylatacyjne. Podanie leku zmniejszało także obturację oskrzeli we wziewnej niespecyficznej prowokacji metacholiną. Dodatkowo RPL554 zmniejsza całkowitą cytozę w płwocinie u zdrowych ochotników po podaniu *in vitro* lipopolisacharydu co prawdopodobnie jest jego głównym efektem przeciwwzapalnym. Nie stwierdzono natomiast, wbrew oczekiwaniom, spadku procentowego udziału neutrofilii [26].

## LEKI CELOWANE NA PI3KD I HDAC

Celem leków tej grupy jest odwrócenie steroidooporności wywołanej między innymi paleniem tytoniu, stresem oksydacyjnym czy ciągłą ekspozycją alergenową. Leki zwiększają stężenie HDAC2, który odgrywa istotną rolę w zależnym od sterydów zmniejszeniu ekspresji genów prozapalnych [27]. W badaniach klinicznych inhibitor PI3KD, nemiralisib (GSK2269557), powodował zmniejszenie stężenia prozapalnych cytokin IL-6 i IL-8 w oskrzelach chorych na POChP [28]. W badaniu klinicznym na pacjentach obciążonych astmą stwierdzono co prawda obniżenie prozapalnych cytokin IL-5, IL-6, IL-8, IL-13, jednak nie towarzyszyła mu poprawa kliniczna, czy wartości spirometrycznych [29]. Andrografolid, lek ziołowy stosowany w tradycyjnej „medycynie chińskiej”, wykazywał podobną aktywność supresyjną w stosunku do PI3KD. W badaniu na mysich liniach komórkowych odwracał spadek HDAC2 wywołany ekspozycją lipopolisacharydową – prozapalną. Autorzy sugerowali, że ten lek może mieć zastosowanie w leczeniu astmy, jednak konieczne są badania *in vivo* [30].

Co ciekawe, lekiem zwiększającym stężenie HDAC2 a tym samym zmniejszającym steroidooporność jest również teofilina, jednak efekt ten przy stosowaniu nietoksycznych dawek jest stosunkowo niewielki [31]. Luo i wsp. wykazali, iż lek przeciwmalaryczny: artesunat zmniejsza opory oskrzelowe u myszy. U myszy eksponowanych na dym tytoniowy dodatek artesunatu do deksametazonu pozwalał zmniejszyć ilość komórek zapalnych uzyskanych w płukaniu oskrzelikowo-pęcherzykowym. Lek obniżał także stężenie prozapalnych cytokin: IL-4, IL-8, IL-13, oraz TNF- $\alpha$ . Możliwym mechanizmem działania jest zapobieganie fosforylacji HDAC2 a tym samym utrzymaniu jego aktywności [32].

## INNE LEKI

### PM-431

Celem terapeutycznym PM-431 jest podjednostka receptora IL-4R $\alpha$ . Odpowiada on za przekazywanie sygnałów z zewnątrzkomórkowych IL-4 i IL-13 poprzez kinazy tyrozynowe JAK1 i JAK3 do wewnątrzkomórkowego czynnika transkrypcyjnego STAT6 umożliwiając jego translokację jądrową a tym samym uruchomienie ekspresji genów. We wcześniejszych badaniach wykazano rolę zarówno STAT6 jak i IL-4 i IL-13 w patogenezie zapalenia oskrzeli w astmie, natomiast dotychczasowe badania skupiały się na zewnątrzkomórkowej blokadzie cytokin lub receptora. PM-431 podany w nebulizacji modelowym myszom obciążonym alergiczną astmą i uczuleniem na *Aspergillus* powodował zmniejszenie nadreaktywności oskrzeli. Nie stwierdzono wpływu na eozynofilię oskrzelową. Lek charakteryzował się dobrym profilem bezpieczeństwa w podaniu wziewnym i donosowym [33-35].

### BI-671800

BI-671800 jest antagonistą receptora CRTH2 obecnego na komórkach Th2. W modelu zwierzęcym obciążonym atopowym zapaleniem skóry i astmą donosowe podanie leku powodowało zmniejszenie stężenia licznych cytokin, w tym IL-4, a także zmniejszenie nadreaktywności oskrzeli prowokowanej alergenem. W randomizowanym, kontrolowanym placebo badaniu na 108 pacjentach ze źle kontrolowaną astmą, doustne dodanie BI-671800 do flutykazonu

nie pozwoliło uzyskać statystycznie lepszej kontroli w porównaniu do placebo. Autorzy argumentowali, iż blokada receptora mogła nie być wystarczająca i konieczne są kolejne badania *in vivo* z weryfikacją podawanych dawek leku [36-38].

## Ligustrazyna (2,3,5,6-tetrametylperazyna)

W odróżnieniu od pozostałych leków małocząsteczkowych omawianych w niniejszym opracowaniu jest to substancja naturalna otrzymywana z Ligustru (łac. *Ligusticum Walichii*), stosowana szeroko w „medycynie chińskiej”. Mechanizm działania tego leku jest prawdopodobnie wielopoziomowy i jest badany w kontekście wielu chorób (np. wątroby, ośrodkowego układu nerwowego) [39]. Wang i wsp. wykazali, iż podanie leku szczurom obciążonym astmą powoduje zmniejszenie niespecyficznego nadreaktywności oskrzeli (w teście z metacholiną) a także zmniejsza mobilizację limfocytów i eozynofili. Dodatkowo, zaobserwowano zmniejszenie ekspresji IL-5 i IL-13 w tkance płucnej. Dalsze badania wykazały także pozytywny wpływ na układ krążenia i działanie przeciwpłytkowe ligustrazyny. Interesujące badania na myszach obciążonych neutrofilową astmą opublikowali Liu i wsp. Wykazali, iż podanie leku powodowało zmniejszenie niespecyficznego nadreaktywności, jak również zmniejszenie eozynofili i neutrofilii oskrzelowej jak również ekspresji IL-17 u badanych zwierząt. Co ciekawe, efekt ten był większy niż w przypadku deksametazonu. Należy zauważyć, iż byłby to jeden z pierwszych leków kierowanych w stronę astmy neutrofilowej, skoro większość kierunków badań dotyczy eozynofilowego fenotypu [40, 41].

## SP600125

SP600125 jest inhibitorem kinazy JNK, należących do rodziny kinaz MAP. JNK odpowiada za infiltrację komórek zapalnych i uważa się, że pełni istotną rolę w zapaleniu alergicznym a szczególnie w *remodelingu* w astmie. Brak JNK chroni przed *remodelingiem*. W badaniu przeprowadzonym na myszach obciążonych alergiczną astmą SP600125 podany dootrzewnowo powodował zmniejszenie ilości komórek w zapalnych w oskrzelach: eozynofili, neutrofilii, limfocytów i monocytów. Zmniejszał także ekspresję IL-10, całkowite stężenie IgE i produkcję śluzu. W innym badaniu Chung i wsp. Wykazali iż SP600125 zmniejsza *remodeling* u myszy obciążonych astmą [42-45].

## GSK-2190915

Celem terapeutycznym GSK-2190915 jest szlak przemian kwasu arachidonowego. Lek blokuje białko aktywujące 5-lipooksygenazę a tym samym hamuje powstawanie leukotrienów, których rola w patogenezie astmy została dobrze opisana a leki blokujące ich receptor są stosowane rutynowo [4, 46]. Doustne podanie GSK-2190915 powodowało zmniejszenie stężenia leukotrienów LTB4 w płwocinie i LTE4 moczu a także zmniejszenie odpowiedzi astmatycznej w prowokacji alergenowej. Jakkolwiek w badaniach laboratoryjnych potwierdzono działanie leku a *in vivo* był on dobrze tolerowany, nie zaobserwowano klinicznej poprawy kontroli astmy u leczonych pacjentów. Warto zauważyć, iż lek mógłby być obiecujący w kontekście astmy aspirynowej ze względu na ścisły związek z mechanizmem przemian kwasu arachidonowego [47-49].



## PODSUMOWANIE

Jak wynika z powyższego opracowania, poza przeciwciałami istnieją liczne kierunki badań nowych leków małowcząsteczkowych w leczeniu astmy. Mogą one w przyszłości zrewolucjonizować leczenie astmy oferując nowe, zindywidualizowane, w tym wewnątrzkomórkowe punkty

uchwyty cząsteczki jednocześnie dysponując elastyczną drogą podania. Te zalety mogą pozwolić na zaproponowanie istotnej alternatywy dla obecnej terapii ciężkiej i trudnej astmy opartej na przeciwciałach, czy leczeniu ogólnoustrojowymi kortykosteroidami.

## Piśmiennictwo

- Gajewski P. Interna Szczeklika - Podręcznik chorób wewnętrznych 2018. 2018.
- To T, Stanojevic S, Moores G, et al. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey. *BMC Public Health* 2012; 12: 204. doi:10.1186/1471-2458-12-204.
- Prevention C for DC and. Asthma in the US: Growing every year. *CDC Vital Signs* 2011.
- Asthma GI for. Gina Main Report. 2019.
- Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 193.
- Iwasaki A, Foxman EF, Molony RD. Early local immune defences in the respiratory tract. *Nat Rev Immunol* 2016; 17: 7.
- Fahy J V. Type 2 inflammation in asthma - present in most, absent in many. *Nat Rev Immunol* 2014; 15: 57.
- Dougherty, Thomas J., Pucci MJ. *Antibiotic Discovery and Development*. Springer US; 2012.
- Arkin MR, Wells JA. Small-molecule inhibitors of protein-protein interactions: progressing towards the dream. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3: 301-17. doi:10.1038/nrd1343.
- Veber DF, Johnson SR, Cheng H-Y, et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem* 2002; 45: 2615-23. doi:10.1021/jm020017n.
- Roberts CGRS. *Introduction to Biological and Small Molecule Drug Research and Development*. New York: Elsevier; 2013.
- Potaczek DP, Garn H, Unger SD, Renz H. Antisense molecules: A new class of drugs. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137: 1334-46. doi:10.1016/j.jaci.2015.12.1344.
- Sasaki T, Onodera A, Hosokawa H, et al. Genome-Wide Gene Expression Profiling Revealed a Critical Role for GATA3 in the Maintenance of the Th2 Cell Identity. *PLoS One* 2013; 8: e66468. doi:10.1371/journal.pone.0066468.
- Abelius MS, Janefjord C, Ernerudh J, et al. The Placental Immune Milieu is Characterized by a Th2- and Anti-Inflammatory Transcription Profile, Regardless of Maternal Allergy, and Associates with Neonatal Immunity. *Am J Reprod Immunol* 2015; 73: 445-59. doi:10.1111/aji.12350.
- Homburg U, Renz H, Timmer W, et al. Safety and tolerability of a novel inhaled GATA3 mRNA targeting DNAzyme in patients with TH2-driven asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136: 797-800.
- Greulich T, Hohlfeld JM, Neuser P, Lueer K, Klemmer A, Schade-Brittinger C, et al. A GATA3-specific DNAzyme attenuates sputum eosinophilia in eosinophilic COPD patients: a feasibility randomized clinical trial. *Respir Res* 2018; 19: 55. doi:10.1186/s12931-018-0751-x.
- Gauvreau GM, Boulet LP, Cockcroft DW, et al. Antisense therapy against CCR3 and the common beta chain attenuates allergen-induced eosinophilic responses. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177: 952-8.
- Gauvreau GM, Pageau R, Seguin R, et al. Dose-response effects of TPI ASM8 in asthmatics after allergen. *Allergy* 2011; 66: 1242-8.
- Imaoka H, Campbell H, Babirad I, Watson RM, Mistry M, Sehmi R, et al. TPI ASM8 reduces eosinophil progenitors in sputum after allergen challenge. *Clin Exp Allergy* 2011; 41: 1740-6.
- Torphy TJ. Phosphodiesterase isozymes: molecular targets for novel antiasthma agents. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 351-70.
- Lipworth BJ. Phosphodiesterase-4 inhibitors for asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 2005; 365: 167-75. doi:10.1016/S0140-6736(05)17708-3.
- Gauvreau GM, Boulet L-P, Schmid-Wirlitsch C, et al. Roflumilast attenuates allergen-induced inflammation in mild asthmatic subjects. *Respir Res* 2011; 12: 140. doi:10.1186/1465-9921-12-140.
- Nials AT, Tralau-Stewart CJ, Gascoigne MH, et al. In vivo characterization of GSK256066, a high-affinity inhaled phosphodiesterase 4 inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 337: 137-44. doi:10.1124/jpet.110.173641.
- Singh D, Petavy F, Macdonald AJ, Lazaar AL, O'Connor BJ. The inhaled phosphodiesterase 4 inhibitor GSK256066 reduces allergen challenge responses in asthma. *Respir Res* 2010; 11: 26. doi:10.1186/1465-9921-11-26.
- Singh D, Leaker BR, Boyce M, et al. The effect of the inhaled PDE4 inhibitor CHF6001 on allergen-induced inflammation in asthmatic subjects. C31. *Inflamm Mediat Mech ASTHMA*, American Thoracic Society; 2014: A4175-A4175.
- Franciosi LG, Diamant Z, Banner KH, et al. Efficacy and safety of RPL554, a dual PDE3 and PDE4 inhibitor, in healthy volunteers and in patients with asthma or chronic obstructive pulmonary disease: findings from four clinical trials. *Lancet Respir Med* 2013; 1: 714-27. doi:10.1016/S2213-2600(13)70187-5.
- Barnes PJ. Corticosteroid resistance in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131: 636-45. doi:10.1016/j.jaci.2012.12.1564.
- Cahn A, Hamblin JN, Begg M, et al. Safety, pharmacokinetics and dose-response characteristics of GSK2269557, an inhaled PI3Kdelta inhibitor under development for the treatment of COPD. *Pulm Pharmacol Ther* 2017; 46: 69-77. doi:10.1016/j.pupt.2017.08.008.
- Khindri S, Cahn A, Begg M, et al. A Multicentre, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Study To Investigate the Efficacy, Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of Repeat Doses of Inhaled Nemiralisib in Adults with Persistent, Uncontrolled Asthma. *J Pharmacol Exp Ther* 2018; 367: 405-13. doi:10.1124/jpet.118.249516.
- Liao W, Tan WSD, Wong WSF. Andrographolide Restores Steroid Sensitivity To Block Lipopolysaccharide/IFN-gamma-Induced IL-27 and Airway Hyperresponsiveness in Mice. *J Immunol* 2016; 196: 4706-12. doi:10.4049/jimmunol.1502114.
- Cosio BG, Iglesias A, Rios A, et al. Low-dose theophylline enhances the anti-inflammatory effects of steroids during exacerbations of COPD. *Thorax* 2009; 64: 424-9.
- Luo Q, Lin J, Zhang L, et al. The anti-malaria drug artesunate inhibits cigarette smoke and ovalbumin concurrent exposure-induced airway inflammation and might reverse glucocorticoid insensitivity. *Int Immunopharmacol* 2015; 29: 235-45. doi:10.1016/j.intimp.2015.11.016.
- Miyata S, Matsuyama T, Kodama T, et al. STAT6 deficiency in a mouse model of allergen-induced airways inflammation abolishes eosinophilia but induces infiltration of CD8+ T cells. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol* 1999; 29: 114-23.
- Knight JM, Mak G, Shaw J, et al. Long-acting beta agonists enhance allergic airway disease. *PLoS One* 2015; 10: e0142212.
- Knight JM, Mandal P, Morlacchi P, et al. Small molecule targeting of the STAT5/6 Src homology 2 (SH2) domains to inhibit allergic airway disease. *J Biol Chem* 2018; 293: 10026-40. doi:10.1074/jbc.RA117.000567.

36. Boehme SA, Franz-Bacon K, Chen EP, et al. A small molecule CRTH2 antagonist inhibits FITC-induced allergic cutaneous inflammation. *Int Immunol* 2009; 21: 81-93. doi:10.1093/intimm/dxn127.
37. Lukacs NW, Berlin AA, Franz-Bacon K, et al. CRTH2 antagonism significantly ameliorates airway hyperreactivity and downregulates inflammation-induced genes in a mouse model of airway inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008;295:L767-79. doi:10.1152/ajplung.90351.2008.
38. Miller D, Wood C, Bateman E, et al. A randomized study of BI 671800, a CRTH2 antagonist, as add-on therapy in poorly controlled asthma. *Allergy Asthma Proc* 2017; 38: 157-64. doi:10.2500/aap.2017.38.4034.
39. Gao H-J, Liu P-F, Li P-W, et al. Ligustrazine monomer against cerebral ischemia/reperfusion injury. *Neural Regen Res* 2015; 10: 832-40. doi:10.4103/1673-5374.156991.
40. Liu X-M, Wang Y-B, Wu Q, et al. Effects of Ligustrazine on Airway Inflammation in A Mouse Model of Neutrophilic Asthma. *Chin J Integr Med* 2018; 24: 353-8. doi:10.1007/s11655-017-2830-0.
41. Wang Y, Zhu H, Tong J, Li Z. Ligustrazine improves blood circulation by suppressing Platelet activation in a rat model of allergic asthma. *Environ Toxicol Pharmacol* 2016; 45: 334-9. doi:10.1016/j.etap.2016.06.016.
42. Xie S, Sukkar MB, Issa R, Oltmanns U, Nicholson AG, Chung KF. Regulation of TGF-beta 1-induced connective tissue growth factor expression in airway smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 288: L68-76. doi:10.1152/ajplung.00156.2004.
43. Wu H-M, Fang L, Shen Q-Y, Liu R-Y. SP600125 promotes resolution of allergic airway inflammation via TLR9 in an OVA-induced murine acute asthma model. *Mol Immunol* 2015; 67: 311-6. doi:10.1016/j.molimm.2015.06.016.
44. Alcorn JF, van der Velden J, Brown AL, et al. c-Jun N-Terminal Kinase 1 Is Required for the Development of Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2009; 40: 422-32. doi:10.1165/rcmb.2008-0174OC.
45. Eynott PR, Nath P, Leung S-Y, et al. Allergen-induced inflammation and airway epithelial and smooth muscle cell proliferation: role of Jun N-terminal kinase. *Br J Pharmacol* 2003; 140: 1373-80. doi:10.1038/sj.bjp.0705569.
46. Evans JF, Ferguson AD, Mosley RT, Hutchinson JH. What's all the FLAP about?: 5-lipoxygenase-activating protein inhibitors for inflammatory diseases. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29: 72-8. doi:10.1016/j.tips.2007.11.006.
47. Chaudhuri R, Norris V, Kelly K, et al. Effects of a FLAP inhibitor, GSK2190915, in asthmatics with high sputum neutrophils. *Pulm Pharmacol Ther* 2014; 27: 62-9. doi:10.1016/j.pupt.2013.11.007.
48. Kent SE, Boyce M, Diamant Z, et al. The 5-lipoxygenase-activating protein inhibitor, GSK2190915, attenuates the early and late responses to inhaled allergen in mild asthma. *Clin Exp Allergy* 2013; 43: 177-86. doi:10.1111/cea.12002.
49. Bain G, King CD, Schaab K, et al. Pharmacodynamics, pharmacokinetics and safety of GSK2190915, a novel oral anti-inflammatory 5-lipoxygenase-activating protein inhibitor. *Br J Clin Pharmacol* 2013; 75: 779-90. doi:10.1111/j.1365-2125.2012.04386.x.