

· 药学前沿 ·

免疫检查点 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂的研究进展

田季平, 张 剑, 周金培, 张惠斌*

(中国药科大学新药研究中心, 南京 210009)

摘 要 研究发现多种肿瘤通过上调自身和肿瘤微环境的 PD-L1 表达, 持续激活 PD-1 (programmed cell death protein 1, PD-1)/PD-L1 (programmed cell death-ligand 1) 信号通路, 抑制 T 细胞的功能, 导致肿瘤免疫逃逸的发生。目前已有多种 PD-1/PD-L1 单抗药物上市, 并且获得了较为满意的临床效果。但因为单抗生产成本高昂, 存储运输条件苛刻, 有免疫原性等问题, 寻找免疫检查点 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂成为了当前新药开发的热点。本文详细介绍了 PD-1/PD-L1 的生物学机制, 按结构分类综述了 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂的研究进展, 并对小分子抑制剂的研发进行了展望。

关键词 肿瘤免疫; PD-1/PD-L1; 免疫检查点; 小分子抑制剂; 进展

中图分类号 R914 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2019)01-0001-10

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20190101

引用本文 田季平, 张剑, 周金培, 等. 免疫检查点 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(1): 1-10.
Cite this article as: TIAN Jiping, ZHANG Jian, ZHOU Jinpei, et al. Advances in small molecule inhibitors of PD-1/PD-L1 immune checkpoint pathway[J]. J China Pharm Univ, 2019, 50(1): 1-10.

Advances in small molecule inhibitors of PD-1/PD-L1 immune checkpoint pathway

TIAN Jiping, ZHANG Jian, ZHOU Jinpei, ZHANG Huibin*

Center of Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Studies have found that a variety of tumors continue to activate PD-1 (programmed cell death protein 1, PD-1)/PD-L1 (programmed cell death-ligand 1) signaling pathway by up-regulating PD-L1 expression in tumor cells and microenvironment. The dysfunction of T cells leads to the occurrence of tumor immune escape. Several PD-1/PD-L1 monoclonal antibodies have been marketed to achieve significant clinical efficacy. However, because of the high production cost, the harsh conditions for storage and transportation, and the potential immunogenicity of monoclonal antibody, the seeking for PD-1/PD-L1 small molecule inhibitors has become a hot spot in the development of new drugs. In this paper, the biological mechanisms of PD-1/PD-L1 was introduced in detail. Based on the structural classification, the research progress of PD-1/PD-L1 small molecule inhibitors was reviewed, with a prospect of the development of small molecule inhibitors.

Key words tumor immunology; PD-1/PD-L1; immune checkpoint; small molecule inhibitor; advances

近几年来肿瘤免疫疗法已成为肿瘤治疗领域的焦点。美国免疫学家詹姆斯·艾利森 (James Allison) 和日本生物学家本庶佑 (Tasuku Honjo) 凭借“发现负性免疫调节治疗肿瘤的疗法”获得了 2018 年诺贝尔生理学或医学奖。与直接针对肿瘤细胞的传统治疗手段不同, 肿瘤免疫疗法是利用人

体自身免疫系统对肿瘤细胞进行杀伤。肿瘤免疫疗法在临床上不断取得的成功, 使得肿瘤免疫疗法成为目前炙手可热的肿瘤治疗手段^[1]。免疫检查点 (例如 PD-1、CTLA-4、TIM-3 等) 通路的活化会抑制 T 细胞的激活, 防止人体免疫系统的过度激活, 维持正常机体的免疫耐受, 避免自身免疫疾病的发生。

生。肿瘤通过使自身和一些淋巴细胞过度激活免疫检查点通路导致肿瘤免疫逃逸的发生。在这些免疫检查点当中,PD-1/PD-L1 的过度激活对于肿瘤的发展起着至关重要的作用。在肿瘤免疫疗法当中,针对免疫检查点 PD-1/PD-L1 通路的阻断剂无疑是最为闪耀的“明星”。

自 2014 年来,已有 2 种 PD-1 单抗和 3 种 PD-L1 单抗药物经 FDA 批准上市,并且这些单抗药物在多种肿瘤的临床治疗中取得了突破性进展。许多肿瘤患者的生存期显著延长,并且部分患者得到完全缓解。国内外有多款 PD-1/PD-L1 单抗处于临床研究阶段,基于抗体的免疫治疗已成为一个重要的研究领域。虽然单抗药物的临床效果显著,但仍存在一些无法回避的问题。由于单抗半衰期较长,并且与靶点结合时间过久,这些单抗类药物能够导致严重的免疫相关不良反应(immune-related adverse events, irAEs)^[2-3]。单抗药物生产工艺复杂,价格昂贵且不利于储存运输,普通患者只能望“药”兴叹。与单克隆抗体相比,小分子药物具有价格低廉、可口服给药、便于运输和储存、良好的膜通透性和非免疫原性等显著优势。因此,寻找 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂成为目前新药开发的热点。本文对近年来 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂的研究进展进行总结。

1 PD-1/PD-L1 的生物学机制

1.1 PD-1/PD-L1 结构与功能

程序性死亡蛋白 1(programmed cell death protein 1, PD-1 也称作 PDCD1 和 CD279),是由基因 PDCD1 编码,288 个氨基酸残基组成的 I 型跨膜蛋白,属于 B7-CD28 受体超家族成员^[4-5]。它的结构包括 4 个部分:免疫球蛋白可变区(IgV)、跨膜区、免疫受体酪氨酸抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs, ITIM)、免疫受体酪氨酸转换基序(immunoreceptor tyrosine-based switch motifs, ITSM)^[6]。其在骨髓细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞(NK)、单核细胞、CD4⁺CD8⁺ 胸腺细胞、调节性 T 细胞、B 细胞以及抗原呈递细胞等多种免疫细胞表面均有表达^[7]。PD-1 有两个配体分别为 PD-L1(CD274)和 PD-L2(CD273),它们分别是由 290 与 270 个氨基酸残基组成的 I 型跨膜蛋白,同属于 B7 家族,并且具有 37% 的同源序列。PD-L1

由 IgV 和 IgC 样胞外区、跨膜区、短的胞质尾区 3 个部分组成。PD-L1 表达在抗原呈递细胞、非淋巴器官和多种肿瘤细胞上^[8-9]。虽然 PD-L1 与 PD-L2 都是 PD-1 的配体,但 PD-L2 表达范围较窄而且主要表达在树突细胞、单核细胞等免疫细胞上,研究发现 PD-L1 在肿瘤的免疫逃逸过程中发挥着主要作用。

1.2 PD-1/PD-L1 信号通路

在正常的生理条件下 T 细胞并不会大量表达 PD-1,当 T 细胞长期暴露在抗原刺激下,才会引起 PD-1 表达上调。同时活化的 T 细胞会通过释放 γ 干扰素(TNF- γ)、白细胞介素等细胞因子进一步诱导其他一些细胞过度表达 PD-L1。PD-L1 与 PD-1 结合后导致 PD-1 胞内域的免疫受体酪氨酸抑制基序(ITIM)和免疫受体酪氨酸转换基序(ITSM)发生磷酸化,进而招募酪氨酸磷酸酶 SHP-1 和 SHP-2^[10]。这些磷酸酶能够将 T 细胞抗原受体(TCR)信号通路上的多个关键蛋白去磷酸化,抑制 TCR 下游的信号通路,例如 PI3K/AKT/mTOR、RAS/MEK/ERK、c-Myc 等,进而抑制相关基因的转录,阻碍 T 细胞细胞周期进展,以及相关蛋白的表达。这些将抑制 T 细胞的增殖分化及细胞因子的产生^[11-13](图 1)。这种调节机制能够防止 T 细胞被过度激活,使人体免疫系统保持对自身抗原的免疫耐受,并减轻免疫反应对周围正常组织的损伤。

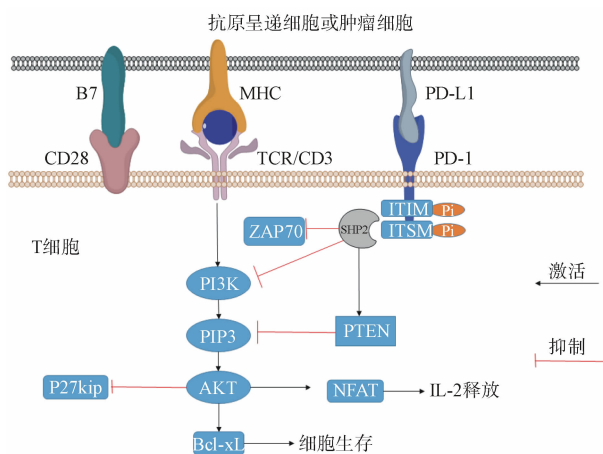


图 1 PD-1/PD-L1 信号通路图

MHC: 主要组织相容性复合体; TCR: T 细胞(抗原)受体; APC: 抗原呈递细胞; SHP1: 酪氨酸蛋白磷酸酶 1; SHP2: 酪氨酸蛋白磷酸酶 2; PIP3: 三磷酸磷脂酰肌醇; ITIM: 免疫受体酪氨酸抑制基序; ITSM: 免疫受体酪氨酸转换基序; ZAP70: ζ 链相关蛋白; AKT: 蛋白激酶 B

肿瘤细胞通过过度表达 PD-L1,持续激活 PD-1/PD-L1 信号通路造成多种免疫抑制。目前这些

机制大概分为以下 3 类:①促进肿瘤特异性 T 细胞的凋亡^[14];②能够使外周和淋巴组织的 T 细胞转化为丧失功能的调节性 T 细胞 (Treg) 和“衰竭”性 T 细胞 (TEX)^[15-16];③抑制效应 T 细胞和初始 T 细胞的激活,并且表达在免疫细胞表面的 PD-L1 也能影响抗肿瘤的 CD8⁺ T 细胞的反应^[17-18]。通过这样的免疫逃逸机制,肿瘤细胞能够轻松躲过免疫系统识别和打击。

因此,阻断 PD-1 与 PD-L1 的结合可以逆转上述免疫抑制机制,将有助于提高机体的免疫系统杀灭肿瘤的能力,这也为阻断 PD-1/PD-L1 介导的肿瘤免疫疗法提供了可靠的理论基础^[19]。

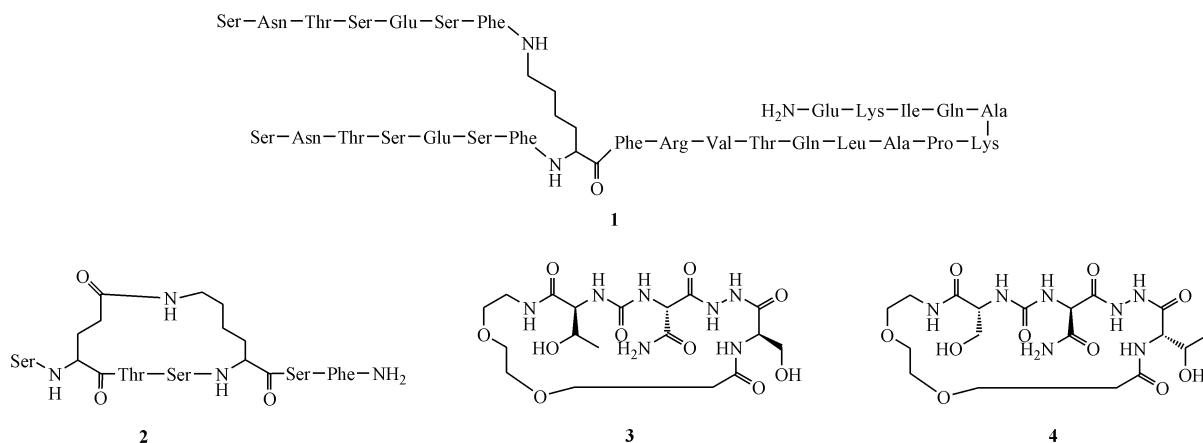
2 PD-1/PD-L1 信号通路小分子抑制剂

2.1 基于多肽的 PD-1/PD-L1 抑制剂

2014 年报道的首个多肽类 hPD-1 抑制剂 AUNP-12,由印度的 Aurigene 公司与 PierreFabre 实验室共同开发,由于 AUNP-12 比单抗代谢半衰期更短,故能够有效控制免疫治疗相关不良反应 (irAEs) 事件的发生。在表达 hPDL2 的 HEK293 细胞与 hPD-1 的结合试验中,AUNP-12 能够抑制

PD-1 与 PD-L2 的结合,EC₅₀达到了 0.72 nmol/L;在挽救外周血单个核细胞增殖试验中,EC₅₀为 0.41 nmol/L^[20]。动物试验表明 AUNP-12 具有良好的抗 PD-L1 活性,能够有效抑制肿瘤细胞的生长和转移,并且 AUNP-12 还具有良好的安全性,在所有给药剂量中均未表现出明显的不良反应。该化合物的具体结构尚未披露,目前根据该公司所公开的相关专利推测 AUNP-12 可能的结构为化合物 **1**^[21-23]。

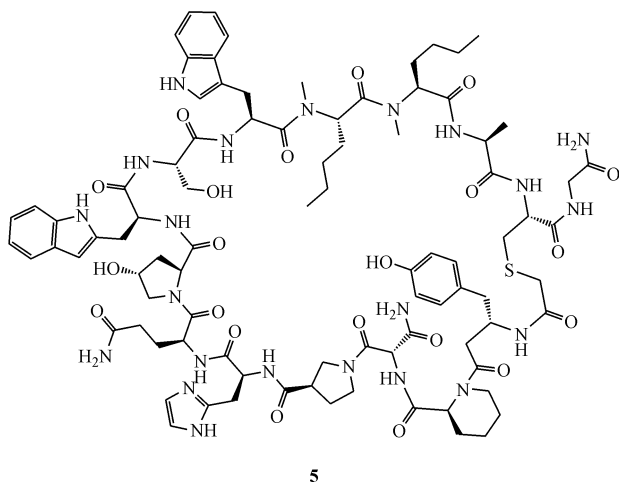
2015 年 Aurigene 公司又开发了一类环肽类化合物。在小鼠脾细胞荧光染料增殖试验中,化合物 **2** 能够诱导小鼠脾细胞的增殖。在小鼠的黑色素瘤高转移株 B16F10 皮下移植瘤模型中,该化合物可显著抑制肿瘤转移,使肿瘤转移发生率下降 54%^[24-25]。化合物 **3** 和 **4** 在小鼠脾细胞增殖挽救试验表现不俗,在小鼠重组 PD-L1 存在下,向抗 CD3/CD28 抗体 (1 μg/mL) 刺激的小鼠脾细胞中加入浓度为 100 nmol/L 的待测化合物来评估化合物挽救小鼠脾细胞能力,化合物 **3** 和 **4** 分别达到 95% 和 94% 的挽救率^[26-27]。



百时美施贵宝 (BMS) 公司开发了一类环肽 PD-1/PD-L1 抑制剂,这类抑制剂包含了 13 ~ 15 个氨基酸残基,其中化合物 BMS-986189 在 2016 年已进入 I 期临床,适应证为脓毒症。化合物具体结构尚未披露,根据结构描述和相关专利推测 BMS-986189 可能为化合物 **5**,在均向时间分辨荧光 (homogeneous time-resolved fluorescence, HTRF) 试验中,BMS-986189 显示出对 PD-L1 有着极高的亲和性,IC₅₀达到了 1.03 nmol/L^[28-32]。

清华大学刘磊课题组通过相位显示技术,利用噬菌体展示肽库筛选得到了由 12 个氨基酸组成的 D 型多肽 DPPA-1,其氨基酸序列为: NYSKPT-DRQYHF,它与 PD-L1 具有一定的亲和力,在与 PD-L1 的结合试验中,测得 K_d 为 0.51 μmol/L,在 CT26 移植瘤小鼠模型中,该多肽能显著抑制肿瘤的生长^[33]。2017 年 12 月,中国科学院苏州纳米所朱毅敏课题组报道了一种可以靶向 PD-L1 的多肽 TPP-1,TPP-1 是由 22 个氨基酸残基组成的多肽,

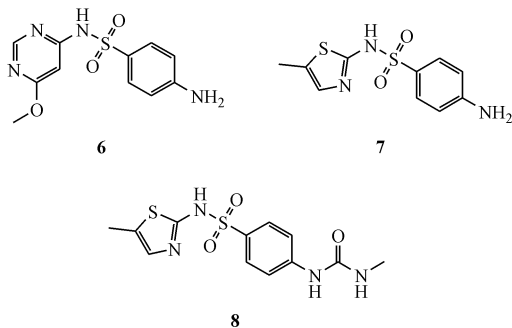
其氨基酸序列为 SGQYASYHCWCWRDPGRS-GGSK, 与 PD-L1 结合的活性达到 74 nmol/L。在大细胞肺癌 H460 细胞系的异种移植小鼠模型中, TPP-1 能够显著增加 IFN- γ 的分泌与颗粒酶 B 的表达, 并且使肿瘤体积明显减小^[34]。



5

2.2 PD-1/PD-L1 信号通路非肽类小分子抑制剂

2.2.1 磺酰胺类化合物 2011 年, 来自哈佛大学的 Sharpe 课题组筛选到一类磺胺间甲氧嘧啶和磺胺甲二唑衍生物, 此类结构能够阻断 mPD-1 信号通路, 其代表化合物为 **6**、**7** 和 **8**。通过检测 T 细胞的激活状态及 T 细胞分泌 IFN- γ 的量来表征化合物对于 mPD-1/mPD-L2 的阻断效果, 实验发现, 这两类化合物在微摩尔浓度时就能够抑制 mPD-1 于 mPD-L2 的结合^[35]。作为首次发现的 PD-1 小分子抑制剂, 此类磺胺类衍生物有望作为先导化合物进行进一步改造和优化, 设计具有成药性的化合物。



8

2.2.2 联苯类化合物 BMS 公司在 PD-1 单抗与大分子生物药取得成功的同时, 对 PD-1/PD-L1 信号通路小分子抑制剂领域进行了深入探索。2015

年, 该公司公开了第一篇关于联苯型免疫调节剂的专利。通过 HTRF 试验发现, 此类化合物能够很好的阻断 PD-1 与 PD-L1 相互作用, 部分化合物的蛋白活性达到纳摩尔级别, 其中代表性化合物 **9** 和 **10** 的 IC₅₀ 分别为 18 和 22 nmol/L^[36]。同一年, 在 BMS 公司公开的另外的一篇专利中, 通过将化合物 A 部分的苯环用 1,4-苯并二噁烷替换掉, 并且在 C 部分的苯环上通过醚键引入间氰基苯, 使化合物活性大幅提升, 蛋白抑制活性普遍在 0.6 ~ 10 nmol/L, 代表性化合物 **11** 和 **12** 的 IC₅₀ 分别为 2.25 和 1.4 nmol/L^[37]。研究人员随后又对该类化合物进一步改造, 在 A 部分疏水的联苯结构上通过一个碳链引入了一些亲水性的基团, 化合物活性普遍得到提升, 其代表性化合物为 **13** 和 **14**, IC₅₀ 分别为 0.48 和 0.88 nmol/L^[38]。在 2018 年, BMS 公司披露了一类新的结构类型化合物, 这类结构在原有基础上将左侧的结构替换成与右侧结构相同或相类似的结构, 这样形成了成了一种呈“中心对称”的化合物, 这类化合物的活性普遍小于 1 nmol/L, 其中代表性化合物 **15** 的 IC₅₀ 达到了 0.04 nmol/L^[39]。

波兰雅盖隆大学 Holak 课题组通过解析 BMS 专利化合物(化合物 **9**)与 PD-L1 蛋白的晶体复合物发现, 两个 PD-L1 蛋白形成了一个近似圆柱形的深疏水通道, 而小分子如同“三明治夹心”一样位于该通道中间。如图 2 所示, 化合物 **9** 通过诱导两个 PD-L1 二聚化, 阻碍了 PD-L1 与 T 细胞表面 PD-1 的相互作用, 由此起到阻断 PD-1 与 PD-L1 的相互作用^[40-41]。除此之外, 该课题组通过重组表达 PD-1 和 TCR 的 Jurkat 细胞充当 T 细胞, 表达 PD-L1 和 TCR 配体的中国仓鼠卵巢细胞(CHO)充当刺激 T 细胞的抗原呈递细胞(APCs), 当 PD-1 与 PD-L1 结合时重组 Jurkat 细胞不会产生免疫激活, 所携带的荧光报告基因不能表达, 当阻断 PD-1/PD-L1 信号通路时, Jurkat T 细胞被激活, 荧光报告基因表达。通过这种细胞试验可以测试 BMS 化合物直接阻断 PD-1/PD-L1 信号通路的能力, 由此测得化合物 **11** 与化合物 **12** 的 EC₅₀ 分别为 253 和 276 nmol/L, 而已上市的单抗类药物例如 pembrolizumab, nivolumab 所测得的 EC₅₀ 分别为 0.55 和 1.15 nmol/L^[42]。

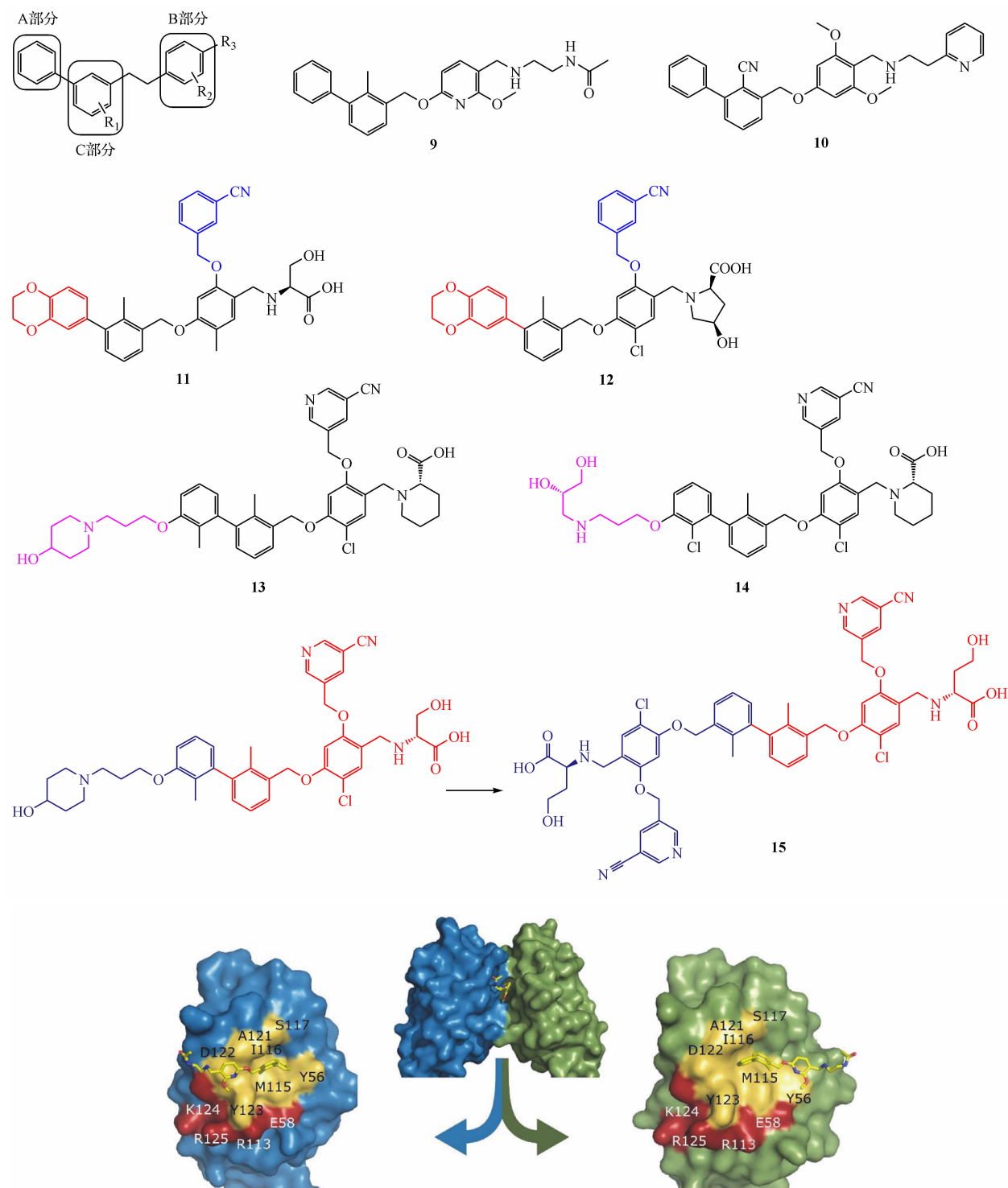


图 2 化合物 9 诱导两个 PD-L1 蛋白二聚化^[42]

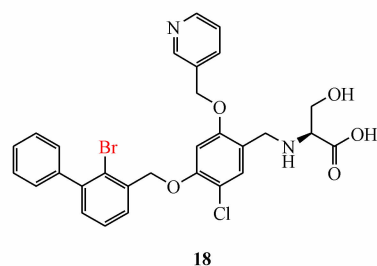
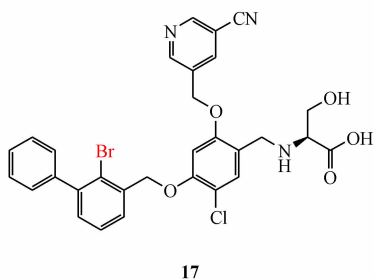
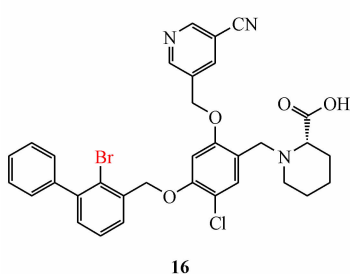
研究证明,血清中游离的 PD-L1 蛋白(sPD-L1)浓度升高与肿瘤患者的不良预后有着密切的联系^[43-44],并且血液中的游离 PD-L1 蛋白能够干扰血液中 T 细胞的激活^[45-47]。其他研究也表明,sPD-L1 能够与细胞膜上的 PD-1 结合^[48]。Frigola

等^[49]发现 sPD-L1 能够诱导 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞细胞凋亡。有人推测 sPD-L1 能够与细胞膜上的 PD-1 结合,能够阻止不同细胞间的 PD-1/PD-L1 结合,因此削弱了免疫系统的抗肿瘤作用。但是目前无法得知,sPD-L1 是否是 PD-1/PD-L1 通路激活

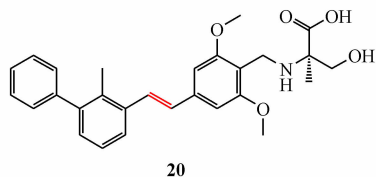
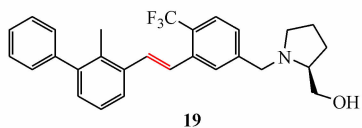
的主要因素。当前主流观点认为直接阻断膜结合 PD-1/PD-L1 的相互作用是抑制剂开发的主要策略,目前亟需验证此类小分子的成药性。

在国内,针对 PD-1/PD-L1 通路的小分子抑制剂开发取得了显著进展。2017 年中国医学科学院药物研究所冯志强课题组公开了一系列专利披露了一类溴代苄醚衍生物。此类化合物能显著阻断 PD-1 与 PD-L1 的结合,该类化合物与 BMS 所披露的化合物结构相似,结构上的区别为联苯结构中的甲基基团取代为溴。在 HTRF 试验中,多数化合物活性达到纳摩尔水平,其中部分化合物的 IC_{50} 小于

1×10^{-13} mol/L,代表性化合物 **16** 和 **17** 的 IC_{50} 分别为 8.0×10^{-14} 和 4.5×10^{-13} mol/L。利用提取的人 PBMC(人单核细胞),在 anti-CD3/anti-CD28 抗体激活 T 淋巴细胞的基础上,加入配体 PD-L1 抑制 T 淋巴细胞,考察待测化合物解除配体抑制作用的能力。实验结果显示,实施例化合物在 10 nmol/L 时就能部分解除 PD-L1 对 IFN- γ 分泌的抑制作用。在小鼠的 B16F10 皮下移植瘤模型中,化合物 **18** 的钠盐在 15 mg/kg 剂量下,无论肿瘤体积还是重量上,都可显著抑制皮下肿瘤的生长,其对肿瘤重量的抑制率达到了 64.11%^[50-52]。



2018 年广州再极医药科技有限公司披露一类芳香乙炔或芳香乙烯类化合物。其代表性化合物 **19**、**20** 在 HTRF 试验中对 PD-1/PD-L1 相互作用有显著抑制作用,其 IC_{50} 分别为 18 和 48 nmol/L^[53]。



2.2.3 其他杂环类化合物 Incyte 公司通过将一些稠合杂环替代 BMS 原专利化合物的苯环,合成了许多新的小分子化合物,这些化合物可以阻断 PD-1/PD-L1 相互作用,代表性化合物为化合物 **21**、**22**、**23**、**24**,在 HTRF 结合试验中发现许多专利化合物的 IC_{50} 在 10 nmol/L 以下^[54-55]。2018 年 10 月 Gilead 公司所披露了一类阻断 PD-1/PD-L1 的小分子化合物,其中具有代表性的专利化合物 **25**、**26** 的 IC_{50} 分别为 0.068 和 0.051 nmol/L^[56]。

2.2.4 噁二唑类化合物 美国 Curis 制药公司与印度制药公司 Aurigene 共同开发的 CA-170,是一

款口服抗 PD-1、VISTA 小分子双重抑制剂,它也是目前唯一进入临床研究的 PD-1/PD-L1 的小分子抑制剂。CA-170 的结构尚未披露,根据推测可能为一类 1,2,4-噁二唑或 1,3,4-噁二唑类的结构(化合物 **27** ~ **30**),取代侧链一般为氨基酸残基。通过重组小鼠 PD-L1/PD-L2 存在下利用化合物挽救小鼠脾细胞增殖率来表征化合物的活性大小。其中化合物 **28** 在 100 nmol/L 给药剂量下的挽救率达到了 99%^[57]。此类化合物是目前进展最快的 PD-1/PD-L1 通路小分子抑制剂。

临床前的体内数据表明 CA-170 能够显著解除 PD-L1 对 T 细胞的抑制,促进 T 细胞的增殖分化和 IFN- γ 的产生。在多种体内肿瘤模型中,CA-170 显示出了与 PD-1 单抗类似的抗肿瘤活性。2016 年 Curis 在美国开展了 I 期临床试验,适应证为实体瘤和淋巴瘤,在 I 期临床试验当中,CA-170 显示出良好的药代动力学性质和安全性,并且显现出良好的抗肿瘤活性。

Curis 公司于 2017 年 12 月在印度开展了 II 期临床试验[Clinical Trials Registry of India (CTRI) registration no. -CTRI/2017/12/011026]。从 2018 年 2 月到 2018 年 10 月 15 日共有 62 名患者入组该临床试验,最后有 37 名患者参与评估,此次试验针对

多种肿瘤(头颈鳞状细胞癌、非小细胞肺癌、高度微卫星不稳定性实体瘤和经典霍奇金淋巴瘤)。从公布的临床数据来看,CA-170 对于非小细胞肺癌和霍奇金淋巴瘤的效果最好,其整体临床获益率(Clinical Benefit Rate, CBR) 分别为达到了 70% 与 77.8%,具体数据如表 1 所示。其中一例霍奇金淋

巴瘤受试者在 400 mg/d 的剂量下,连续 60 d 给药后肿瘤减小了 57%,另外一例头颈癌受试者在 400 mg/d 给药剂量下,连续给药 30 d 后肿瘤减小了 48%。比较之前 PD-1 单抗的临床数据,CA-170 的 400 mg 剂量组的临床获益率与 PD-1/PD-L1 抗体相当^[58]。

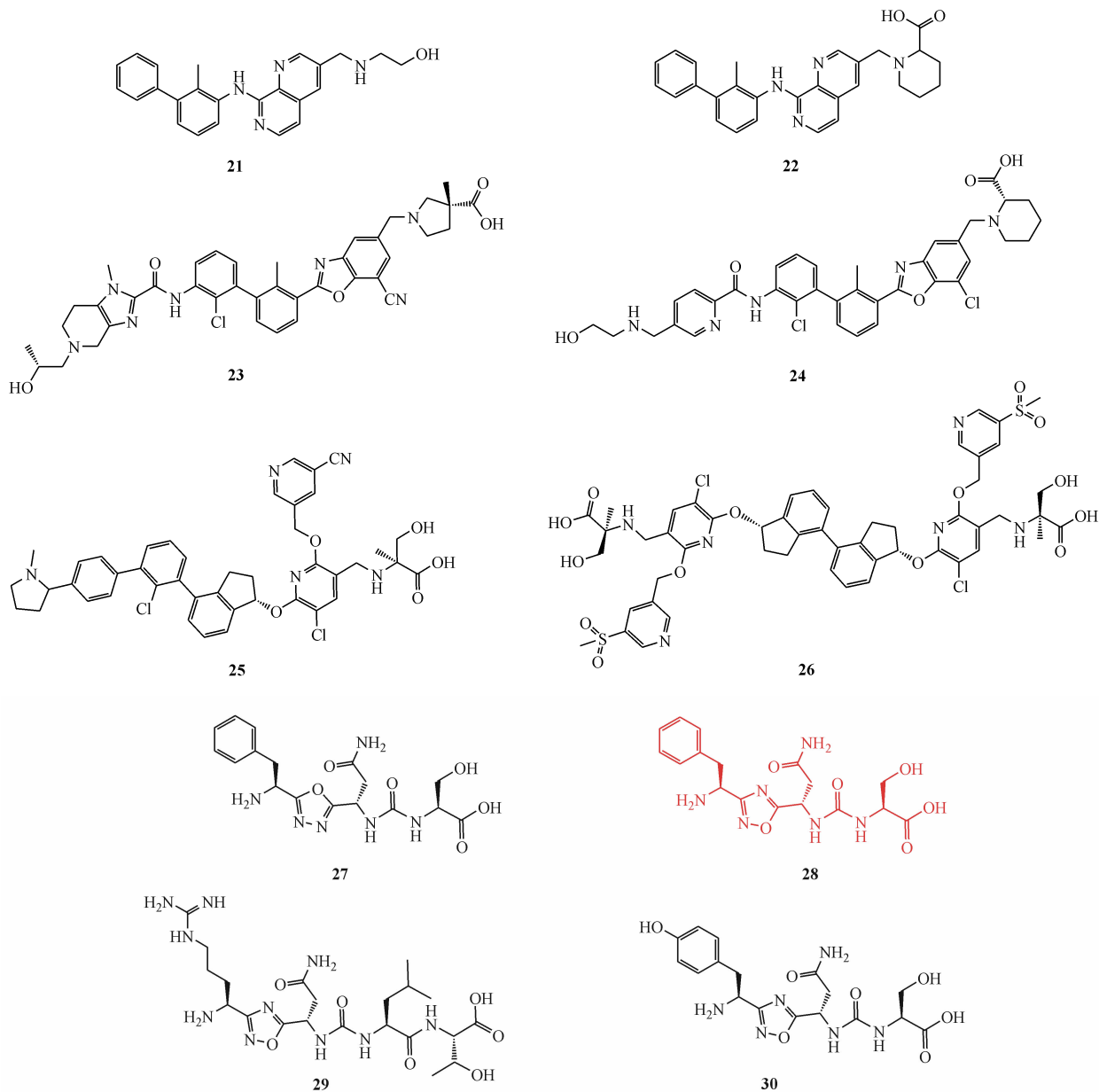


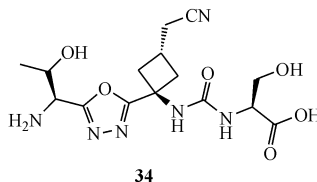
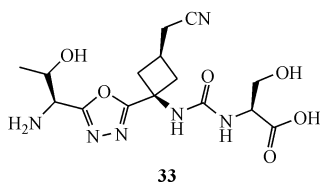
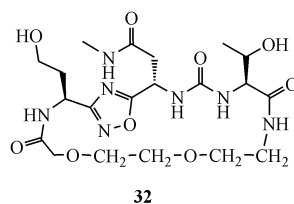
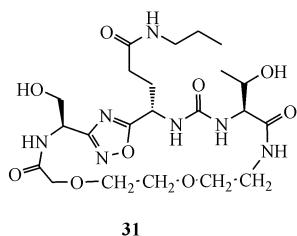
表 1 CA-170 II 期临床试验对部分肿瘤患者的临床获益率

肿瘤类型	临床获益率		整体临床获益率
	400 mg	800 mg	
头颈部鳞状细胞癌	4/7 (57.1%)	2/6 (33.3%)	6/13 (46.2%)
非小细胞肺癌	6/7 (85.7%)	1/3 (33.3%)	7/10 (70%)
微卫星不稳定性实体瘤	0/1 (0%)	2/4 (50%)	2/5 (40%)
霍奇金淋巴瘤	4/4 (100%)	3/5 (60%)	7/9 (77.8%)
总计	14/19 (73.7%)	8/18 (44.4%)	22/37 (59.5%)

值得注意的是,不论整体还是某一肿瘤类型,低剂量组(400 mg/d)的临床获益率要高于高剂量组(800 mg/d)的临床获益率。在体外的 IFN- γ 分泌实验和外周单核细胞挽救实验也发现了类似的现象,在低剂量时,解除免疫抑制效果随着药物浓度升高而升高,然后随着药物浓度增大,CA-170 解除免疫抑制能力反而减弱。值得一提的是 CA-170 在安全性方面明显优于单抗,在高达 1 200 mg/d 的给药剂量下,也没有明显不良反应。虽然 62 例患者中出现了 5 例免疫相关不良事件(2 例 400 mg 剂量和 3 例 800 mg 剂量),但在停药后各项指标恢复正常。而单抗药物在治疗中出现的免疫相关不良事件难以控制,即使停药后也不能逆转不良反

应,并且需要使用大量的糖皮质激素和免疫抑制药物来治疗。

广州丹康医药生物有限公司公开了一类噁二唑环状化合物,其中部分化合物在 HTRF 测试实验中的 IC_{50} 达到 10 nmol/L 以下,其代表性化合物为 **31** 和 **32**^[59]。2018 年 11 月南京圣和药业公开一类噁二唑杂环类化合物。在小鼠结肠癌 CT26 细胞皮下同系移植瘤 BALB/C 小鼠试验中,化合物显示出显著的抑瘤效果,在 20 mg/kg 的给药剂量下,连续给药 15 d 后,化合物 **33** 对肿瘤生长抑制率为 52.4%,化合物 **34** 在 14 d 连续给药后对肿瘤生长抑制率为 63.7%,它们表现出对 CT26 结肠癌细胞移植瘤具有显著的抑制作用^[60]。



虽然已报道的 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂的药性以及临床疗效还需进一步研究,但现阶段数据足以证明该类小分子化合物可阻断 PD-1/PD-L1 信号通路,所以开发 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂可为肿瘤患者带来更多的福音。

4 结论与展望

自肿瘤免疫疗法诞生以来,肿瘤治疗领域有了许多突破性进展,特别是 PD-1/PD-L1 单抗药物的临床疗效显著。同时单抗类药物存在不可避免的缺陷,抗体类药物有较长的体内半衰期,加上本身具有免疫原性容易导致患者出现药源性免疫相关不良事件;另外大分子生物药由于通透性较差,体内分布不均,限制着生物药进入实体瘤的内部,导致疗效降低;生产难度大、治疗成本高昂、运输不便也是单抗类药物无法回避的缺点。虽然小分子抑制剂对靶标的结合活性低于抗体药物,但其可控制

的药代动力学性质和成熟的研究体系,使其有可能克服抗体药物存在的问题。因此,设计合成阻断 PD-1/PD-L1 结合的小分子抑制剂具有十分重要的意义。

PD-1 与 PD-L1 结合属于蛋白-蛋白相互作用,其接触界面具有高度平坦和疏水的特性,而且他们具有较大的相互作用表面和极少传统的小分子结合口袋,即使报道了相关晶体复合物,也很难找到适合小分子作用的位点,因此针对 PD-1 与 PD-L1 相互作用的小分子药物研发相对困难。虽然目前已有入源 PD-L1 与 BMS 公司小分子晶体复合物的报道,但该类小分子是通过诱导 PD-L1 二聚化间接阻断 PD-1 与 PD-L1 的结合,并不能直接阻断 PD-1/PD-L1 的结合。在体内是否能够实现细胞之间的 PD-1/PD-L1 的直接阻断作用需要进一步验证。当前小分子抑制剂研究还处于起步阶段,而且相关的活性评价体系和作用机制研究并不完善,解

决这些问题是发展 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂的当务之急。随着科学技术的发展,相信在不久的将来 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂能够成功上市,造福广大的肿瘤患者。

参考文献

- [1] Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy [J]. *Science*, 2015, **348**(6230): 56–61.
- [2] Hwang SJ, Carlos G, Chou S, *et al.* Bullous pemphigoid, an autoantibody-mediated disease, is a novel immune-related adverse event in patients treated with anti-programmed cell death 1 antibodies [J]. *Melanoma Res*, 2016, **26**(4): 413–416.
- [3] Naidoo J, Page DB, Li BT, *et al.* Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies [J]. *Ann Oncol*, 2015, **26**(12): 2375–2391.
- [4] Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, *et al.* Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death [J]. *Embo Journal*, 1992, **11**(11): 3887–3895.
- [5] Pan JJ, Jia XQ, Huang G, *et al.* PD-1/PD-Ls signaling pathway and the application of anti-PD-1/PD-Ls antibodies in cancer therapy [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2016, **47**(1): 9–18.
- [6] Longo DL, Boussiotis VA. Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway [J]. *New Engl J Med*, 2016, **375**(18): 1767–1778.
- [7] Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application [J]. *Int Immunol*, 2007, **19**(7): 813–824.
- [8] Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, **4**(5): 336–347.
- [9] Intlekofer AM, Thompson CB. At the bench: preclinical rationale for CTLA-4 and PD-1 blockade as cancer immunotherapy [J]. *J Leukoc Biol*, 2013, **94**(1): 25–39.
- [10] Chemnitz JM, Parry RV, Nichols KE, *et al.* SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation [J]. *J Immunol*, 2004, **173**(2): 945–954.
- [11] Sharpe AH, Pauken KE. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, **18**(3): 153–167.
- [12] Hui E, Cheung J, Zhu J, *et al.* T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1-mediated inhibition [J]. *Science*, 2017, **355**(6332): 1428–1433.
- [13] Patsoukis N, Brown J, Petkova V, *et al.* Selective effects of PD-1 on Akt and Ras pathways regulate molecular components of the cell cycle and inhibit T cell proliferation [J]. *Sci Signal*, 2012, **5**(230): ra46.
- [14] Dong H, Strome SE, Salomao DR, *et al.* Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion [J]. *Nat Med*, 2002, **8**(8): 793–800.
- [15] Fumihiko T, Sheng Y, Tahiro S, *et al.* Interaction between B7-H1 and PD-1 determines initiation and reversal of T-cell anergy [J]. *Blood*, 2007, **110**(1): 180–185.
- [16] Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion [J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, **15**(8): 486–499.
- [17] Monica VG, Charles HM, Edward LH, *et al.* Role of PD-1 and its ligand, B7-H1, in early fate decisions of CD8 T cells [J]. *Blood*, 2007, **110**(1): 186–192.
- [18] Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity [J]. *Immunol Rev*, 2010, **236**(1): 219–242.
- [19] Liu J, Zhang S, Hu Y, *et al.* Targeting PD-1 and Tim-3 pathways to reverse CD8 T-cell exhaustion and enhance *ex vivo* T-cell responses to autologous dendritic/tumor vaccines [J]. *J Immunother*, 2016, **39**(4): 171–181.
- [20] Sasikumar PGN, Vadlamani SK, Vemula KR. Immunosuppression modulating compounds: US, 0318373 [P]. 2011-12-29.
- [21] Sasikumar P, Shrimali R, Adurthi S, *et al.* A novel peptide therapeutic targeting PD1 immune checkpoint with equipotent antagonism of both ligands and a potential for better management of immune-related adverse events [J]. *J Immunother Cancer*, 2013, **1**(S1): O24.
- [22] Sasikumar PGN, Ramachandra M, Vadlamani SK, *et al.* Immunosuppression modulating compounds: WO, 2011161699A2 [P]. 2011-12-29.
- [23] Sasikumar PG, Satyam LK, Shrimali RK, *et al.* Abstract 2850: Demonstration of anti-tumor efficacy in multiple preclinical cancer models using a novel peptide inhibitor (Aurigen-012) of the PD1 signaling pathway [J]. *Cancer Res*, 2012, **72**(8 Supplement): 2850–2850.
- [24] Sasikumar PGN. Immunomodulating cyclic compounds: US, 9422339 [P]. 2016-08-23.
- [25] Sasikumar PGN. Therapeutic immunomodulating compounds: WO, 2015044900 [P]. 2015-04-02.
- [26] Sasikumar PGN. Cyclic Peptidomimetic compounds as immunomodulators: WO, 2015033303 [P]. 2015-03-12.
- [27] Sasikumar PGN. Therapeutic cyclic compounds as immunomodulators: WO, 2016142835 [P]. 2016-09-15.
- [28] Miller Michael Matthew. Macrocyclic inhibitors of the PD-1/PD-L1 and cd80 (b7-1)/pd-l1 protein/protein interactions: US, 20170260237 [P]. 2017-09-14.
- [29] Gillman, K. W. Macrocyclic peptides useful as immunomodulators: WO, 2016077518 [P]. 2016-05-19.
- [30] Boy KM, Sun LQ. Immunomodulators: WO, 2016149351 [P]. 2016-09-22.
- [31] Sun LQ, Zhao Q. Immunomodulators: WO, 2016057624 [P]. 2016-04-14.
- [32] Sun LQ, Zhao Q. Immunomodulators: WO, 2016126646 [P].

- 2016-08-11.
- [33] Chang HN, Liu BY, Qi YK, *et al.* Blocking of the PD-1/PD-L1 interaction by a D-peptide antagonist for cancer immunotherapy [J]. *Angew Chem Int Edit*, 2015, **127**(40): 11926-11930.
- [34] Li C, Zhang N, Zhou J, *et al.* Peptide blocking of PD-1/PD-L1 interaction for cancer immunotherapy [J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, **6**(2): 178-188.
- [35] Sharpe AH, Butte MJ, Oyama S. Modulators of immunoinhibitory receptor PD-1, and methods of use thereof; WO, 2011082400 [P]. 2011-07-07.
- [36] Chupak LS, Zheng X. Compounds useful as immunomodulators; WO, 2015034820A1 [P]. 2015-03-12.
- [37] Chupak LS, Ding M, Martin SW. Preparation of substituted 2,4-dihydroxybenzylamines as immunomodulators; WO, 2015160641A2 [P]. 2015-10-22.
- [38] Yeung KS, Connolly TP. Compounds useful as immunomodulators; WO, 2017066227 [P]. 2017-04-20.
- [39] Yeung KS, Katharine AGY, Zhu JL, *et al.* Compounds useful as immunomodulators; WO, 2018044963A1 [P]. 2018-03-08.
- [40] Guzik K, Zak KM, Grudnik P, *et al.* Small-molecule inhibitors of the programmed cell death-1/programmed death-ligand 1 (PD-1/PD-L1) interaction via transiently induced protein states and dimerization of PD-L1 [J]. *J Med Chem*, 2017, **60**(13): 5857-5867.
- [41] Zak KM, Grudnik P, Guzik K, *et al.* Structural basis for small molecule targeting of the programmed death ligand 1 (PD-L1) [J]. *Oncotarget*, 2016, **7**(21): 30323-30335.
- [42] Skalniak L, Zak KM, Guzik K, *et al.* Small-molecule inhibitors of PD-1/PD-L1 immune checkpoint alleviate the PD-L1-induced exhaustion of T-cells [J]. *Oncotarget*, 2017, **8**(42): 72167-72181.
- [43] Wang L, Wang H, Chen H, *et al.* Serum levels of soluble programmed death ligand 1 predict treatment response and progression free survival in multiple myeloma [J]. *Oncotarget*, 2015, **6**(38): 41228-41236.
- [44] Damotte D. High level of soluble programmed cell death ligand 1 in blood impacts overall survival in aggressive diffuse large B-Cell lymphoma; results from a French multicenter clinical trial [J]. *Leukemia*, 2014, **28**(12): 2367-2375.
- [45] Xavier F, Inman BA, Lohse CM, *et al.* Identification of a soluble form of B7-H1 that retains immunosuppressive activity and is associated with aggressive renal cell carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, **17**(7): 1915-1923.
- [46] Davies LC, Heldring N, Kadri N, *et al.* Mesenchymal stromal cell secretion of programmed death-1 ligands regulates t cell mediated immunosuppression [J]. *Stem Cells*, 2017, **35**(3): 766-776.
- [47] Nagato T, Ohkuri T, Ohara K, *et al.* Programmed death-ligand 1 and its soluble form are highly expressed in nasal natural killer/T-cell lymphoma; a potential rationale for immunotherapy [J]. *Cancer Immunol Immun*, 2017, **66**(7): 1-14.
- [48] Saiya-Cork K, Collins R, Parkin B, *et al.* A pathobiological role of the insulin receptor in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, **17**(9): 2679-2692.
- [49] Frigola X, Inman BA, Krco CJ, *et al.* Soluble B7-H1: differences in production between dendritic cells and T cells [J]. *Immunol Lett*, 2012, **142**(1/2): 78-82.
- [50] Feng Z, Chen X, Yang Y. Benzyl phenyl ether derivative preparation method therefor, and pharmaceutical composition and uses thereof; WO, 2017202273 [P]. 2017-11-30.
- [51] Feng Z, Chen X, Yang Y. Bromo benzyl ether derivative preparation method therefor, and pharmaceutical composition and uses thereof; WO, 2017202275 [P]. 2017-11-30.
- [52] Feng Z, Chen X, Yang Y. Phenylate derivative preparation method therefor, and pharmaceutical composition and uses thereof; WO, 2017202276 [P]. 2017-11-30.
- [53] Wang Y, Xu Y, Zhang T. Aromatic acetylene or aromatic ethylene compound, intermediate, preparation method, pharmaceutical composition and use thereof; WO, 2018006795 [P]. 2017-11-30.
- [54] Lajkiewicz N, Wu LX. Heterocyclic Compounds as immunomodulators; WO, 2017112730 [P]. 2017-06-29.
- [55] Wu LX, Li JW. Benzoxazole Derivatives as immunomodulators; WO, 2018119266 [P]. 2018-06-28.
- [56] Aktoudlanakls E, Appleby T, Aesop C, *et al.* PD-1/PD-L1 Inhibitors; WO, 2018195321A1 [P]. 2018-10-25.
- [57] Sasikumar PCN, Ramachandra M. VISTA Signaling pathway inhibitory compounds useful as immunomodulators; WO, 2018047143A1 [P]. 2018-03-15.
- [58] Carreterogonzález A, Lora D, Ghanem I, *et al.* Analysis of response rate with ANTI PD1/PD-L1 monoclonal antibodies in advanced solid tumors; a meta-analysis of randomized clinical trials [J]. *Oncotarget*, 2018, **9**(9): 8706-8715.
- [59] Guangzhou Dankang Pharmaceutical Biological Co. Ltd. Cyclic compound for inhibiting programmed death receptor ligand 1 and use thereof; CN, 108395443. [P]. 2018-08-04.
- [60] Nanjing Sanhome Pharmaceutical Co. Ltd. Heterocyclic compound serving as PD-L1 Inhibitor; WO, 2018196768 [P]. 2018-11-01.