

· 药学前沿 ·

干扰素基因刺激因子激动剂的研究进展

杨倩^{1#}, 陈南南^{2#}, 尤启冬^{2*}, 徐晓莉^{2**}

(¹国家知识产权局专利局专利审查协作北京中心, 北京 100160; ²中国药科大学药物化学系, 南京 211198)

摘要 干扰素基因刺激因子(STING)是机体自身免疫应答过程中的重要分子。鉴于STING被激活后可活化CD8⁺T细胞的作用机制, STING激动剂与免疫检查点抑制剂的联合疗法具有良好的临床应用前景。本文对STING激动剂的结构类型、作用模式和结构修饰研究进展进行了总结, 在此基础上对该类激动剂的研发趋势进行了展望, 为后续研究提供了参考。

关键词 干扰素基因刺激因子; 激动剂; 肿瘤免疫疗法; 结构修饰; 作用模式; 进展

中图分类号 R914 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2022)03-0253-11

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20220301

引用本文 杨倩, 陈南南, 尤启冬, 等. 干扰素基因刺激因子激动剂的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2022, 53(3): 253–263.

Cite this article as: YANG Qian, CHEN Nannan, YOU Qidong, et al. Research progress on stimulator of interferon genes (STING) agonists [J]. J China Pharm Univ, 2022, 53(3): 253–263.

Research progress on stimulator of interferon genes (STING) agonists

YANG Qian^{1#}, CHEN Nannan^{2#}, YOU Qidong^{2*}, XU Xiaoli^{2**}

¹Patent Examination Corporation Beijing Center of the Patent Office, China National Intellectual Property Administration, Beijing 100160; ²Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract Stimulator of interferon genes (STING) is an important factor in the auto-immune response of our bodies. Considering the mechanism of activating CD8⁺ T cells after the activation of STING protein, the combination of STING agonists and immune checkpoint inhibitors for the treatment of tumor immunotherapy has good clinical application prospect. In this paper, the research progress of molecular types, mechanism of action and structural modifications of STING agonists were reviewed. The developing tendency were outlined to provide some references for further investigation.

Key words stimulator of interferon genes (STING); agonists; tumor immunotherapy; structural modifications; mode of action; advance

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82073692, No. 82073766)

*YANG Qian and CHEN Nannan contributed equally to this work

近年来, 肿瘤免疫疗法显示出巨大的临床优势和应用前景, 包括抗CTLA-4、抗PD-1抗体等肿瘤免疫治疗药物陆续获批上市。与大分子抗体药相比, 小分子肿瘤免疫药物具有可口服、生产和储存成本低、患者依从性好等优点, 受到广泛关注。

注。其中, 干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon gene, STING)是目前小分子肿瘤免疫治疗的热门靶标之一。

STING是固有免疫应答中的关键接头蛋白。STING蛋白被激活后, 人体固有免疫系统和适应性

收稿日期 2021-10-12 通信作者 *Tel: 025-86185328 E-mail: youqd@163.com

**Tel: 025-86185328 E-mail: xuxiao_li@126.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 82073692, No. 82073766)

#杨倩与陈南南为共同第一作者

免疫功能得到激活和增强,进而对恶性肿瘤和自身免疫性疾病产生治疗效果。研究表明,细胞膜上的模式识别受体在识别病原或损伤相关分子模式后,会进一步启动下游信号通路释放细胞因子,构成机体自身免疫系统的前线防御^[1]。其中,环鸟苷酸-腺苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP synthase,cGAS)是细胞内DNA感受器,能够识别外源性物质或自身的胞浆双链DNA,合成并释放环二核苷酸类物质如环二磷酸鸟苷(c-di-GMP)、环二磷酸腺苷(c-di-AMP)、环磷酸鸟苷-腺苷酸(3',3'-cGAMP,2',3'-cGAMP)等,使STING激活并从内质网转移到高尔基体中,进而招募细胞质中的TANK结合激酶-1(TANK binding kinase-1,TBK-1),介导TBK-1对干扰素调节因子-3(interferon regulatory factor-3,IRF-3)的磷酸化,诱导分泌I型干扰素(interferon,IFN),同时诱导多种炎症因子如TNF、IL-6和CXCL10等分泌,激活肿瘤特异性CD8⁺T细胞,进而调控机体免疫反应^[2-3]。同时,以PD-1抗体、CTLA-4抗体为代表的免疫检查点抑制剂能够增强CD8⁺T细胞对肿瘤细胞的识别和杀伤能力,该类免疫检查点抑制剂与STING激动剂的联合疗法具有良好的临床应用前景^[4]。

本文总结了现有报道的STING激动剂,对其结构类型、作用模式和结构修饰研究进展进行了综述,并对该类激动剂的研发趋势进行了展望,为后续研究提供参考。

1 STING结构及生物学

STING是一种存在于细胞内质网、线粒体和微粒体外膜上的接头感知蛋白,由379个氨基酸组成,从N端到C端依次为用于锚定膜结合的TM1-TM4跨膜结构域、与催化激活相关的二聚体结构域以及与下游招募TBK1功能相关的细胞质内结构域^[1]。

cGAS-STING通路在生物体内的固有免疫系统中发挥重要作用。在正常状态下,cGAS处于休眠状态,当存在病原体入侵或自身细胞受损时,cGAS可以识别细胞质中出现的异常DNA,进而催化三磷酸鸟苷(GTP)和三磷酸腺苷(ATP)反应生成环二核苷酸,激活STING使其呈现出对称的V型二聚体构象。分析内源性环二磷酸鸟苷(c-di-GMP)与STING的共晶结构(PDB code:4F5D)可

知,两个鸟嘌呤环分别与STING二聚体的Tyr167(A)和Tyr167(B)形成π-π相互作用,两个磷酸基团的负电荷则分别与Arg238(A)和Arg238(B)产生盐桥作用,两个磷酸酯基上的氧原子分别与Ser162(A)和Ser162(B)形成氢键作用,鸟嘌呤环上的N可以与Ser241(B)在水分子介导下形成氢键作用,从而诱导STING蛋白的激活^[5-6](图1)。

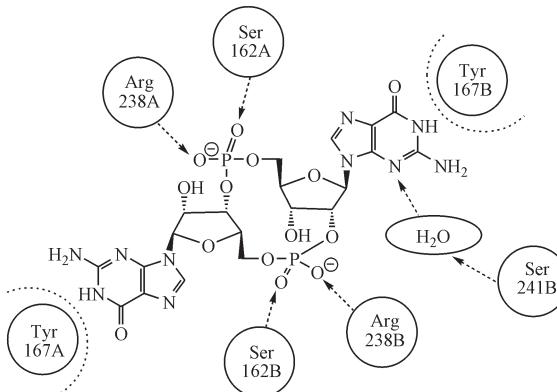


图1 环二磷酸鸟苷(c-di-GMP)与干扰素基因刺激因子(STING)蛋白的结合模式

2 STING激动剂

STING激动剂的研发在最近几年受到国内外各大医药企业和研究机构的广泛关注,其间逐步拓展了STING激动剂的结构类型、深入研究了其构效关系,同时国内外企业和研究机构都在跟进最新结构信息,探索改进方式并进行专利布局^[7-10]。目前专利和非专利文献中公开报道的STING激动剂结构主要分为5类。

2.1 环二核苷酸及其类似物

内源性的CDNs包括细菌产生的c-di-AMP,c-di-GMP和3',3'-cGAMP,以及哺乳动物细胞产生的2',3'-cGAMP。其中,2',3'-cGAMP是AMP和GMP通过2',3'位磷酸二酯键形成的环二核苷酸结构,是最有效的STING内源性激动剂^[11]。但是,该内源性分子的极性强、透膜性差,易被多种核酸酶和磷酸二酯酶水解,导致体内清除率较快,半衰期较短,需要通过结构改造(如修饰磷酸二酯键、核糖环、碱基,改变核苷酸间连接位置等)以获得透膜性好、抗酶解的长效STING激动剂。

2.1.1 对磷酸二酯键的修饰 如图2所示,Aduro Biotech公司将2',3'-cGAMP结构中磷酸二酯键上裸露的两个羟基中的一个或两个修饰为疏基,获

得的衍生物 2',3'-cG^sA^sMP 在保持了对 STING 的亲和力的情况下能够更好地诱导 IFN-β 的分泌,且对磷酸二酯酶和核酸酶的水解具有较强的抗性。

进一步研究显示,分子的立体构型对于活性有一定影响。环二核苷酸分子磷酸二酯键上的磷原子分别以两种非对映体(R_p 或 S_p)的形式存在,其理论上存在 4 种异构体,即 R_p/R_p , R_p/S_p , S_p/S_p , S_p/R_p 。在不加通透剂时, R_p , R_p -2',3'-c-diAMPSS(研发代号:ADU-S100)的激动活性为 41.5 μmol/L,比 2',3'-cGAMP 的激动活性高出 5 倍以上,而且在小鼠体内试验中表现出了较高的抑瘤效果^[12]。Aduro Biotech 公司前期与诺华制药公司合作推进了

ADU-S100 的临床 I 期试验,之后与加拿大 Chinook Therapeutics 公司合作推进 II 期临床试验,适应证为膀胱癌、转移性头颈癌和鳞状细胞癌。

对于磷酸二酯键的进一步改造是将裸露羟基修饰为硼烷结构。与羟基或巯基相比,硼烷结构带有同样的负电荷,化合物 1 能够与 STING 蛋白上的 Arg238 形成盐桥作用,且透膜性更好^[13]。对于磷酸二酯键结构的更大改进是将其替换为脲或硫脲结构,例如化合物 2,相关专利中报道了该类化合物能够保持 STING 激动活性,但未披露体内药效等数据^[14]。

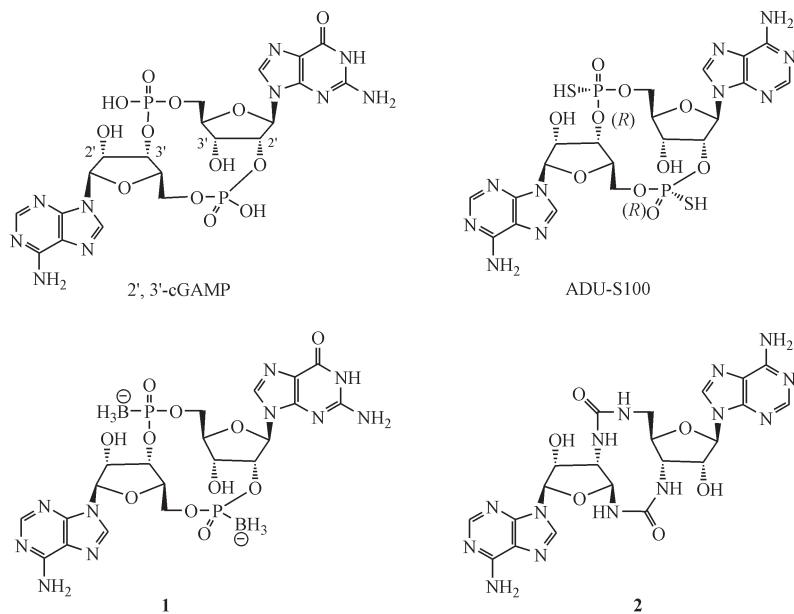


图 2 修饰磷酸二酯键获得新型环二核苷酸类 STING 激动剂

2.1.2 对核糖环的修饰 在环二核苷酸结构中,核糖环上 2',3' 位置的两个羟基中有一个形成磷酸酯,另一个则通常为裸露的羟基结构,而该裸露的羟基是体内代谢的主要位点。对核糖的改造主要是以氟原子或含氮基团等替换该裸露的羟基从而延缓代谢速度。如图 3 所示,Aduro Biotech 公司在硫代磷酸酯化合物 ADU-S100 的结构基础上,以氟替换核糖结构中的裸露羟基,获得单氟或双氟取代的化合物,活性优于 ADU-S100,且双氟代化合物 3 比单氟代化合物活性再提高 1 倍^[15]。默沙东公司对核糖骨架进行结构改造得到系列化合物(4),构效关系研究表明,将 GMP 的 3' 羟基修饰为叠氮,去除 AMP 的 2' 羟基,GMP 的 4' 位置增加氟,

或 GMP 的核糖环上氧替换为硫等,改造后的化合物均保持了 STING 激动活性^[16]。另外,也有报道将糖环替换为碳环同样可以保持活性^[17]。由于核糖结构中可修饰位点较少,Aduro Biotech 公司还另辟蹊径,在 AMP 的核糖结构中引入了含氧桥环结构,化合物 5 的活性比 ADU-S100 也有 1 倍左右的提高^[18]。

2.1.3 对碱基的修饰 对碱基片段的改造赋予了 STING 激动剂更大的结构变化空间(图 4)。这类改造主要包括在 GMP 或 AMP 结构的碱基上以氟替换氢,在 GMP 结构中以硫替换氧,改变碱基中氮原子的位置,或者直接以肌苷替换鸟苷等,并结合对磷酸二酯键的硫代改造、核糖羟基的氟代改

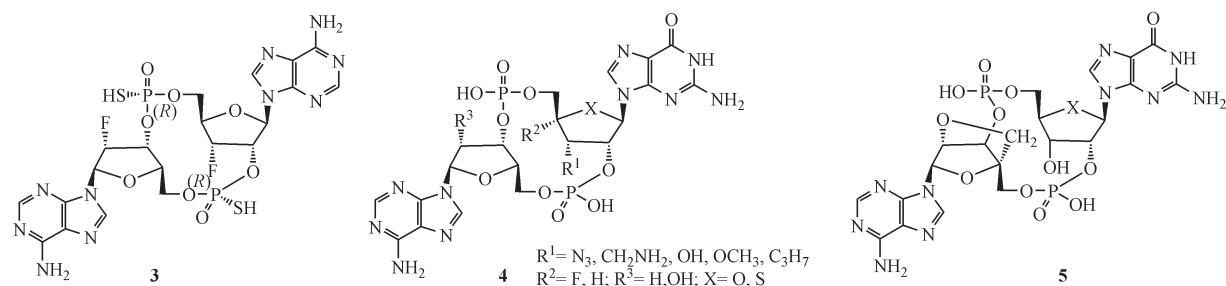


图3 修饰核糖结构获得新型环二核苷酸类STING激动剂

造,得到环腺苷-肌苷单磷酸(cAIMP)系列化合物(**6**)^[19]。

百时美施贵宝公司设计了一类非碱基基团取代的新型环二核苷酸类STING激动剂,同时结合对磷酸二酯键和核糖的改造,用硫代磷酸二酯键代替磷酸二酯键,并将氟原子引入呋喃糖环上。武田制药公司则将碱基基团替换为氮原子连接的嘧啶环,同时对糖环进行改造,以环戊烷代替呋喃糖环,以化合物**7**为例,该类化合物均能有效结合

并激活STING蛋白。由相关专利报道的信息可知,通过去除一个碱基,或以炔基、杂环炔基、杂环氨基、杂环氧基等基团替代一个碱基的结构改造方式所得到的化合物均能保持STING激动活性^[20-21]。目前百时美施贵宝公司的BMS-986301和武田制药公司的TAK-676均进入临床I期试验研究,其具体结构尚未披露。卫材公司则是开发了碱基环合的结构,其中候选药物E-7766已经进入到临床I期研究阶段^[22]。

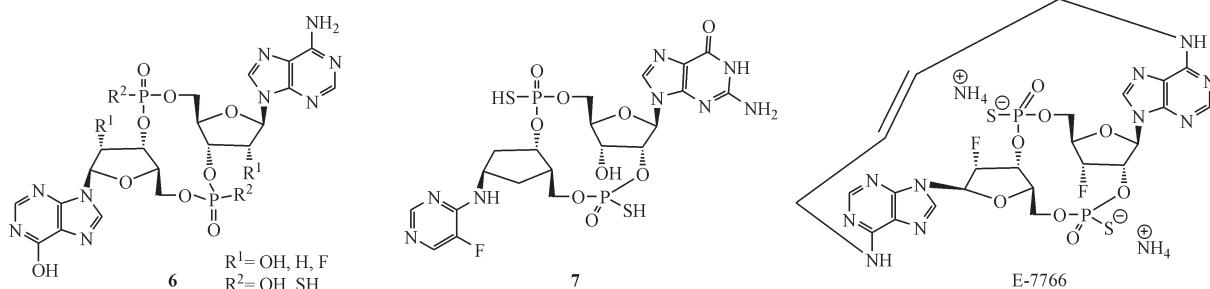


图4 修饰碱基结构获得新型环二核苷酸类STING激动剂

2.1.4 对环二核苷酸结构的其他修饰方式 国内也围绕环二核苷酸类似物开展了结构改造研究(图5)。清华大学报道了对碱基、磷酸酯、核糖进行综合优化,其中碱基可选择A,G,C,T,U,I等天然或非天然碱基,磷酸酯的结合方式较内源性环二核苷酸有一定区别,为3',4'位置相连接的形式,同时将核糖上裸露的羟基以氟取代,代表性化合物**8**具有较好的STING激动活性^[23]。

上海济煜医药科技有限公司则是针对碱基进行修饰改造,结合氟代、硼烷取代等,碱基可以选择多种含氮、含氧杂环,代表性化合物**9**对STING的激动活性高于2',3'-cGAMP^[24]。另外,该公司也开发了通过碱基连接形成二聚体的结构(化合物**10**),两个碱基之间的连接链L₁-L₃-L₂可以是链状烷基或链状烯基,炔基,羟基取代的直链烷基

等。当连接链选自链状烯烃,X₁选自BH₃时,该化合物对人野生型STING蛋白的亲和力相较于内源性STING激动剂2',3'-cGAMP更高;在人单核细胞系THP1中,该化合物能够明显激活STING(EC₅₀=5.1 μmol/L)和促进IFN-β的分泌,细胞活性优于2',3'-cGAMP(EC₅₀=20.19 μmol/L)^[25]。

2.2 呕吨酮类和吖啶酮类

早期研究显示,黄酮乙酸对STING有微弱的激动活性。诺华制药公司通过结构改造获得具有三环结构的呫吨酮化合物,代表性分子为5,6-二甲基呫吨酮-4-乙酸(DMXAA)。然而,该化合物对STING的激动活性存在种属差异,仅在小鼠体内DMXAA能够激活STING,诱导分泌IFN-β,并激活CD8⁺T细胞发挥抗肿瘤作用,但是对人体的效果不明显^[26-27],相关临床试验已经中止。N-吖啶酮乙

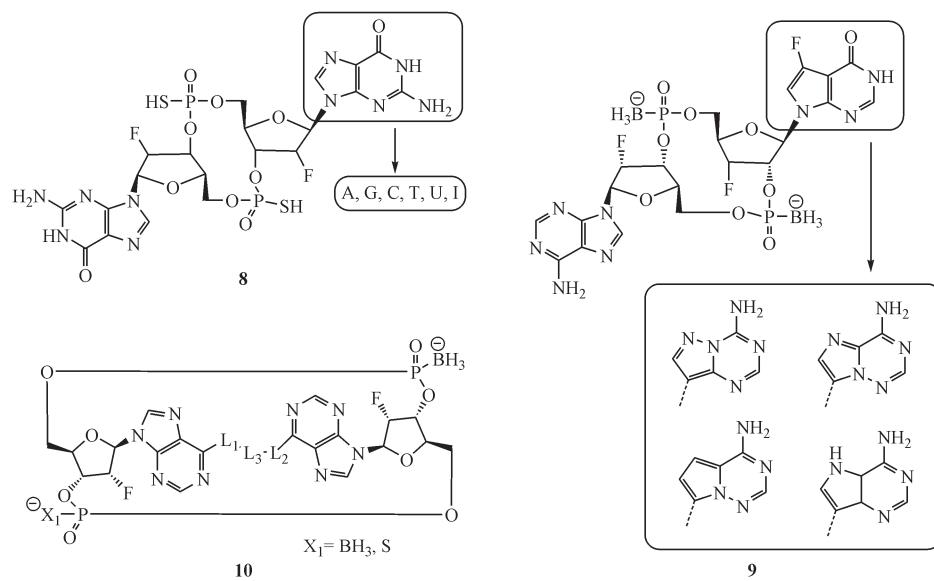


图 5 针对环二核苷酸的综合结构改造获得新型 STING 激动剂

酸(CMA)也是鼠源 STING(mSTING)特异性激动剂。结构生物学研究表明,CMA 无法与人源 STING(hSTING)蛋白的球状羧基末端功能区相结合,影响结合的关键因素是 mSTING 在 230 位的氨基酸残基为 Ile, 而 hSTING 是 Gly^[28-29]。基于上述研究对于 CMA 进行结构修饰,获得了具有一定的 hSTING 激活活性的化合物 **11**^[30-31]。此外,研究人员

继续在天然的类黄酮物质中寻找 STING 激动剂,从山竹中提取得到了一种咕吨酮类分子 α -倒捻子素(α -mangostin),其含有被烯丙基和羟基取代的黄酮骨架,能够有效地激活 hSTING 和 mSTING^[32]。咕吨酮类和吖啶酮类 STING 激动剂的代表性结构如图 6 所示。

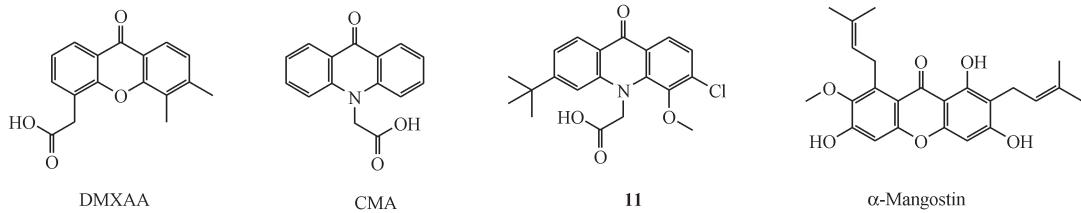


图 6 咕吨酮类和吖啶酮类 STING 激动剂代表性结构

2.3 苯并咪唑类

为了拓展 STING 激动剂的结构类型,葛兰素史克公司通过高通量筛选,发现一类具有苯并咪唑(ABZIs)母核结构的化合物可以与 STING 蛋白结合且能产生一定的激动作用。化合物 **12** 与 STING 蛋白的共晶结构(PDB code: 6DXG)如图 7-A 和 7-B 所示,两个苯并咪唑化合物可分别与 STING 二聚体中的两个单体相结合。从单个分子来看,3-甲基-1-乙基-1H-吡唑-5-酰胺片段朝向结合口袋的底部,吡唑环上的甲基处于 Leu159 和 Thr267 形成的疏水夹缝中,吡唑环上的氮原子与 Ser162 形成氢键作用,酰胺连接链与 Thr263 形成

氢键作用,苯并咪唑环与 Tyr167 形成 π - π 相互作用以及氨甲酰基与 Ser241 形成氢键作用。

从两个分子与 STING 二聚体结合的空间位置来看,苯并咪唑环上氮原子所连接的侧链在空间上存在相互重叠,未与 STING 蛋白形成明显作用力。考虑到 STING 是二聚体蛋白,且内源性配体环二核苷酸具有二聚结构的特点,该公司进一步通过脂肪链将两个分子通过苯并咪唑环上氮原子相连接,设计合成了二聚苯并咪唑(diABZIs),如化合物 **13**。通过进一步解析 diABZIs 与 STING 的共晶结构(PDB code: 6DXL)发现,diABZIs 保持了 ABZIs 原本的结合构象以及和蛋白结合的关键作

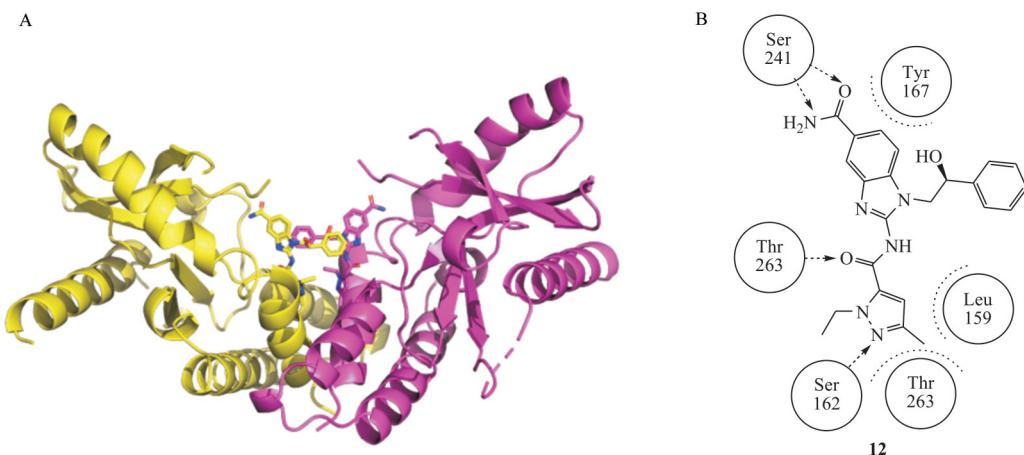


图7 化合物12与STING蛋白的共晶结构(PDB code: 6DXG)

用力,而且diABZI与STING蛋白的结合力明显提高,其中代表性化合物GSK3745417能够有效激活hSTING和mSTING,剂量依赖性地介导IFN- β 的分泌,其对于STING的激动活性较单苯并咪唑化合物提高了1 000倍以上,诱导人外周血单核细胞分

泌IFN- β 的能力比cGAMP高出10倍以上。而且该化合物在静脉注射给药条件下可明显抑制BALB/c小鼠的结肠肿瘤瘤重及瘤体积的增长,提高了小鼠的存活率。目前,GSK3745417已进入临床I期研究阶段(图8)^[33]。

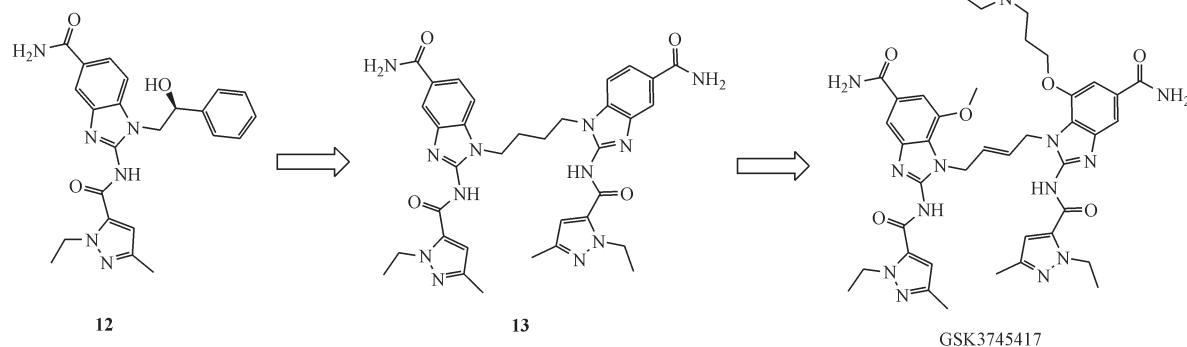


图8 苯并咪唑类STING激动剂的优化过程

苯并咪唑类STING激动剂为该领域的研究提供了新的思路,鉴于其良好的活性和新药研发前景,国内外制药企业和研究机构均围绕苯并咪唑类化合物开展结构优化研究(图9)。凯复制药有限公司在化合物12的C-4位引入(2-氨基磺酰基氨基)乙氧基,得到先导化合物14,进一步结构优化获得具有较好溶解度的STING激动剂^[34]。

中国医学科学院药物研究所通过研究单苯并咪唑类化合物与STING的作用模式,明确了影响该类化合物与蛋白结合作用的关键氨基酸残基Ser241,Tyr167,Ser162和Thr263,确定了氨甲酰苯并咪唑-酰胺连接链-芳杂环是苯并咪唑类激动剂

结构的关键骨架,在此基础上延长苯并咪唑N-3位置的连接链,并在苯并咪唑C-4位引入取代基得到化合物15,使化合物与STING的空腔产生进一步的结合作用。根据上述设计思路,获得了能与diABZIs激动活性相当的ABZIs化合物,结构优化后的ABZIs具有相对分子质量较低、极性表面积合适的成药性质,在小鼠体内也表现出较强的抑瘤效果^[35-36]。

四川科伦博泰公司针对ABZIs化合物中N-3位置的连接链进行修饰,通过酰胺、内酰胺、杂环或者磷酸酯连接芳香环或者脂肪环,获得一系列具有杂环酰胺类骨架的化合物,代表性化合物16

具有与阳性对照单苯并咪唑类化合物 GSK53 相当的激动活性^[37]。成都先导公司针对 ABZIs 和 di-ABZIs 分子结构分别开展了结构修饰研究,针对 ABZIs 结构,通过在苯并咪唑 N-3, C-4 位置上成环的方式,改变了原有的苯并咪唑母核,设计得到含大环类结构的化合物 **17**^[38]。针对 diABZIs 结构,则是在 GSK3745417 基础上利用生物电子等排原理进行药物设计(如化合物 **18**),包括对末端五元杂环及侧链脂肪杂环的结构修饰,有效地拓展了该类化合物的结构多样性^[39]。

Nimbus Titan 公司对单分子苯并咪唑母核进行了结构改造,通过替换末端五元杂环、延长苯并咪唑 N-3 位置的连接链(化合物 **19**)及在苯并咪唑 C-4 位引入取代基(化合物 **20**)等优化方式,制备了具有 hSTING 选择性的激动剂^[40-41]。另外,还在 GSK3745417 的结构基础上通过替换酰胺侧链末端取代基、改变两个苯并咪唑的连接方式等,获得了具有较高活性的 STING 激动剂 **21**^[42]。Trillium Therapeutics 公司将苯并咪唑母核结构变换为吡啶并咪唑(以化合物 **22** 为例)或噻吩并咪唑等结构,同时修饰苯并咪唑 N-3 和 C-4 位连接链的形式和末端基团的取代类型,制备单或二聚化合物^[43]。Incyte 公司则是在苯并咪唑母核的基础上进行骈环得到 STING 激动剂 **23**^[44]。

中国科学院上海药物研究所制备了一类含苯并咪唑母核二聚体化合物,以化合物 **24** 为例,构建了 4-氧代丁酸苯并咪唑骨架,该化合物能够激活 THP1 细胞中 hSTING 蛋白以及促进 IFN-β 的表达,其激动活性与 ADU-S100 相当,可用于治疗与 STING 相关的肿瘤或感染类疾病^[45]。

2.4 苯并噻吩类

默沙东公司通过高通量筛选的方式发现了具有苯并噻吩结构骨架的 STING 激动剂,对于 hSTING 和 mSTING 均具有激动作用。与 2', 3'-cGAMP 相比,苯并噻吩类化合物尽管在蛋白结合力上并不占优势,但是在相同剂量下能够更有力的介导 IFN-β 的分泌,代表性化合物 MSA-2 与 PD-1 单抗药物联用比起单独使用 PD-1 单抗具有更明显的抗肿瘤效果。而且,苯并噻吩类化合物有着更小的相对分子质量和更适合的脂溶性,结构修饰改造空间更大^[46]。中国科学院上海药物研究所基于 MSA-2 的结构骨架进行结构优化,代表性化

合物 **25** 对 THP1 细胞中 STING 蛋白的激动作用优于阳性对照药 MSA-2^[47]。更有利的是,MSA-2 在溶液中以二聚体形式存在,可以通过口服给药的方式在体内激活 STING^[48]。借鉴之前由单苯并咪唑向双苯并咪唑化合物拓展的思路,默沙东公司合成了含有苯丙噻吩和吡啶并噻吩结构的双分子 STING 激动剂 **26**(图 10)^[49]。

2.5 其他类

除以上 4 大类以外,也有其他结构的小分子 STING 激动剂被报道(图 11)。辉瑞公司研发了一系列针对 STING 的杂环激动剂(代表化合物 **27**),以吲唑、1,2,4-三氮唑和吡唑多种杂环相连作为骨架进行结构优化,化合物生物活性良好,能够在 THP1-Lucia™ ISG 细胞中明显的诱导 IFN-β 的表达^[50]。中国药科大学报道了一类嘧啶并五元杂环类 STING 激动剂,对 STING 具有较好的激动活性,且对肿瘤和感染性疾病有良好的治疗作用,其中代表性化合物 **28** 诱导 THP-1 细胞分泌 IFN-β 的活性高于内源性配体 cGAMP^[51]。此外,有报道通过基因组采集和生物合成的方法,发现了新的 CCNP 型糖肽吉他霉素(kitacinnamycin)能够激活 STING 通路^[52]。近期也有报道通过靶向 cGAS-STING 通路并基于细胞表型的筛选方法发现了小分子化合物 SR-717,该分子与内源性配体 cGAMP 以相似的方式激活 hSTING,而且具有活化 CD8⁺ T 细胞、NK 细胞、诱导 PD-L1 表达等功能,显示出抗肿瘤作用,具有良好的临床应用前景^[53]。小野制药公司报道了一类 STING 激动剂化合物,其中代表性化合物 **29** 在 MC38 鼠源结肠癌细胞 C57BL/6 小鼠移植瘤模型的药效研究中,表现出明显的抗肿瘤活性^[54]。Curadex 制药公司报道了一类 STING 间接激动剂,以化合物 **30** 和 **31** 为例,两者都显示出良好的体外生物活性及体内抗肿瘤活性,在 HEK-293T-R232 细胞和 THP1-Dual 细胞中均能有效激活 IRF-3 信号通路^[55-56]。近期白晓辰和张学武等^[57]发现了一个全新的 STING 配体结合位点,化合物 C53 结合于 STING 二聚体之间的跨膜区从而变构激活 STING 通路,同时化合物 C53 与内源性配体 cGAMP 联合使用起到协同激动 STING 作用。更重要的是,该新发现的跨膜区配体结合位点位于内质网膜上,周围是疏水环境,基于此位点设计的 STING 小分子靶向药物,更易于进入细胞,有望达到更好的给药效果。

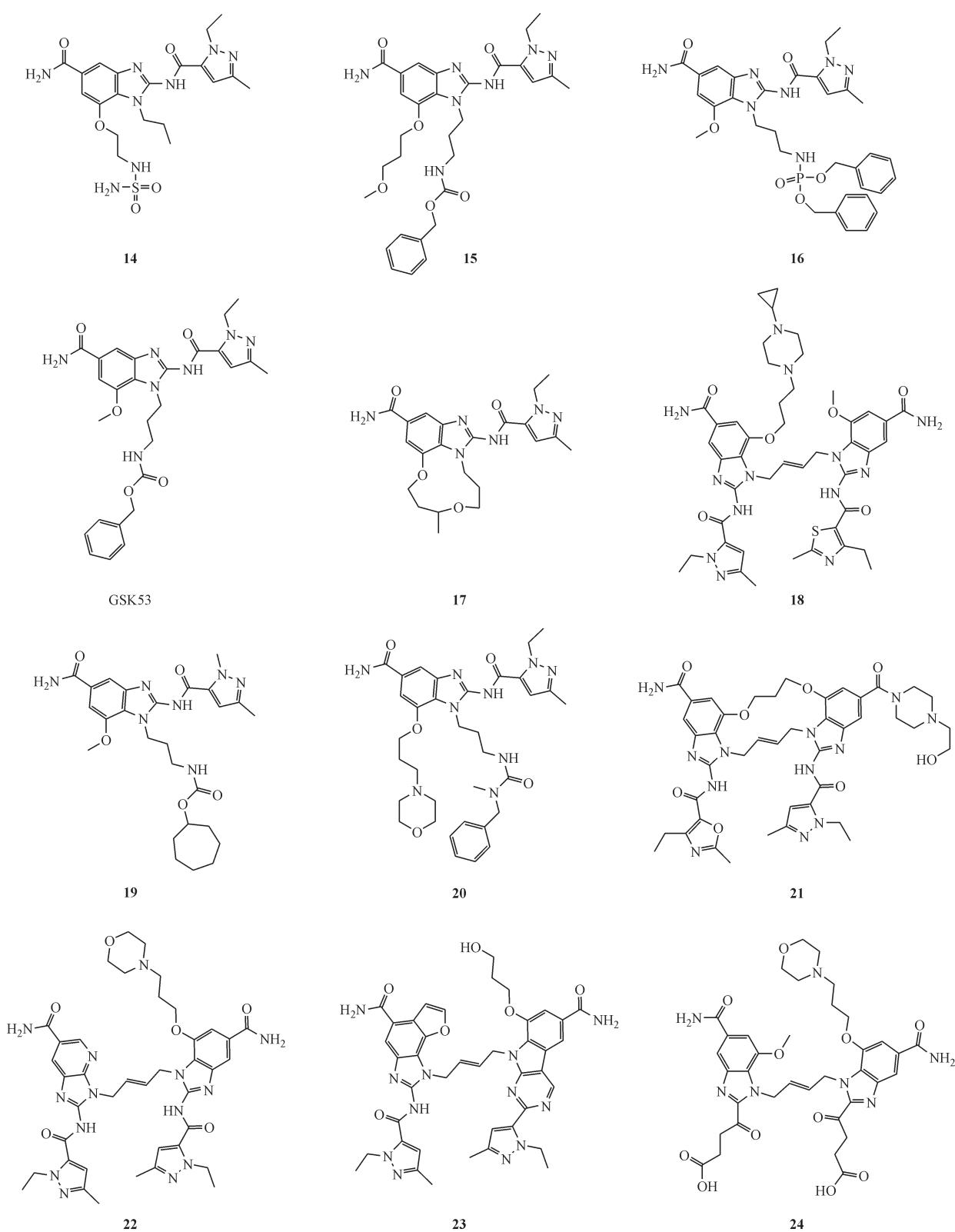


图9 基于苯并咪唑单体或二聚体的结构改造

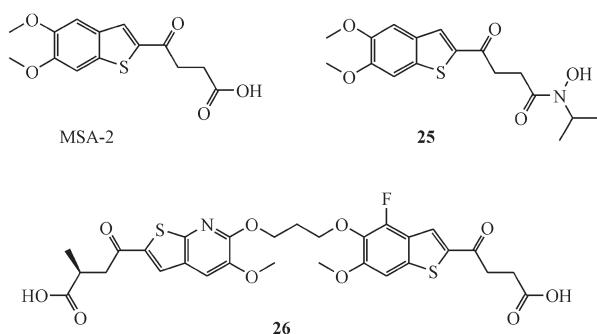


图 10 苯并噻吩类 STING 激动剂代表性结构

3 总结与展望

作为启动机体固有免疫应答从而抵抗病原体感染和异常 DNA 的重要生物分子, STING 蛋白在 cGAS 蛋白感受外界刺激后的信号转导、激活 IRF-3 通路、促进干扰素分泌等一系列分子生物学事件中扮演重要角色。STING 激动剂可通过激活 STING 蛋白来介导机体固有免疫信号转导通路, 促进下游相关的细胞因子分泌, 进而调控免疫反应。STING 蛋白具有种属差异性, 靶向人源 STING 的激动剂是恶性肿瘤和自身免疫性疾病治疗药物的研究热点。

目前已报道的 STING 激动剂可分为 5 大类。其中, 环二核苷酸类激动剂的发展较早, 可以通过针对磷酸酯、核糖、碱基等结构片段的一个或多个进行改造和修饰, 其构效关系已经比较明确。但是, 该类激动剂普遍存在相对分子质量大、含有净

电荷、分子极性高、细胞膜通透性差等缺陷, 成药前景并不理想。因此, 通过评价已知化合物对 STING 的激动作用、或通过化合物库进行高通量筛选等方式寻找新的非核苷类骨架成为新结构 STING 激动剂的主要研发方向。已报道的通过高通量筛选获得含双苯并咪唑、双苯并噻吩母核结构的化合物为 STING 激动剂的研发带来了新的启示。目前, 双苯并咪唑类化合物 GSK3745417 已经进入到临床 I 期研究阶段, 是首个非环二核苷酸类的临床研究药物。从已公开的专利和期刊文献信息来看, 国内外制药企业和研究机构对于苯并咪唑类结构的优化改造主要集中在苯并咪唑 N-3 位和 C-4 位的连接链的修饰, 或进一步替换苯并咪唑母核。但是, 目前得到的结构和激动活性信息大多来源于公开专利, 针对该类化合物开展深入的体内药效和药代性质评价的研究论文不多。本课题组基于苯并咪唑单分子化合物进行了结构优化研究, 提高了化合物的体外活性, 但是成药性质还不够理想, 主要体现在:(1)苯并咪唑类激动剂由于分子结构刚性较强、极性大、水溶性差, 理化性质待进一步改善;(2)该类分子体内代谢较快, 口服生物利用度较低, 只能通过静脉给药;(3)该类分子治疗窗窄, 药物浓度太低则不产生治疗效应, 浓度太高则引起 STING 过度激活导致自身免疫性反应, 引起毒性。因此, 如何优化结构的理化性质, 在保证活性的同时使化合物具有更好的成药性是当前苯并咪唑类激动剂亟需解决的问题。

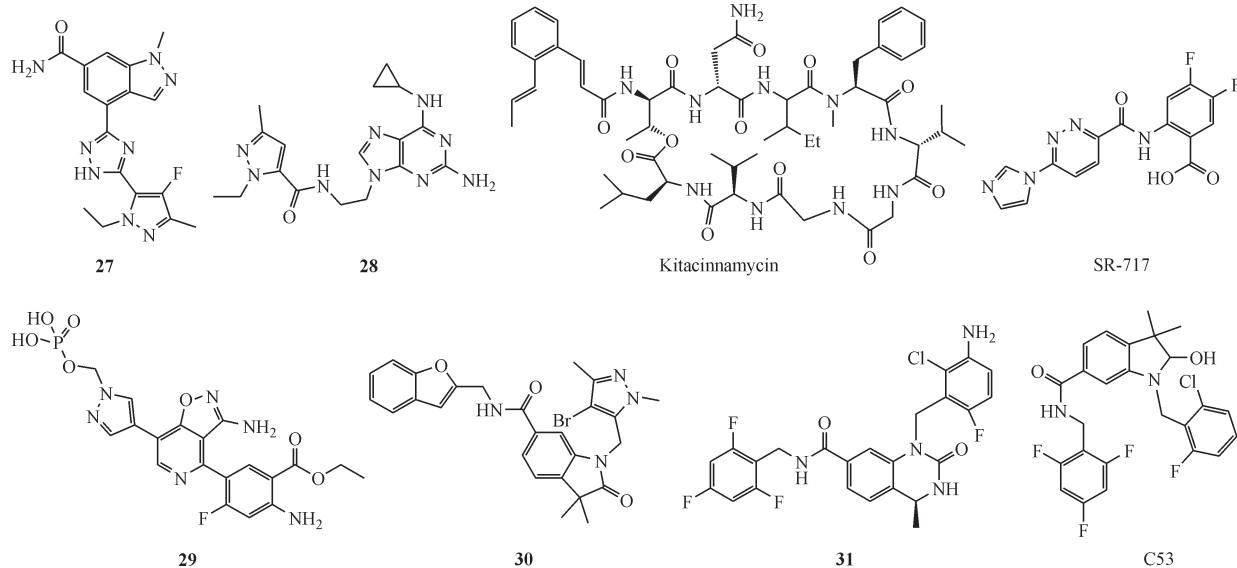


图 11 其他 STING 激动剂

与苯并咪唑相比,围绕苯并噻吩类结构的研究信息则更少,推测可能是相关研究还在进行中。鉴于苯并噻吩与苯并咪唑的结构相似性,预计未来会有更多具有苯并五元杂环母核或者类似骨架的激动剂化合物被报道。另一方面,含有呫咤酮、吖啶酮等结构骨架的化合物以及近期报道的糖肽杂环类化合物则为STING激动剂的研究提供了更多的结构骨架类型。近期*Nature*上报道的全新STING配体结合位点以及将激动剂与内源性配体cGAMP联合应用的治疗方式也为该类激动剂的研发开辟了新的视角。总体而言,STING激动剂的药物研发尚处于早期阶段,开发结构新颖且成药性好的小分子激动剂药物仍具有较大的临床需求和探索空间。

References

- [1] Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic *Reticulum* adaptor that facilitates innate immune signalling [J]. *Nature*, 2008, **455**(7213):674-678.
- [2] Liu SQ, Cai X, Wu JX, et al. Phosphorylation of innate immune adaptor proteins MAVS, STING, and TRIF induces IRF₃ activation [J]. *Science*, 2015, **347**(6227):aaa2630.
- [3] Zhang CG, Shang GJ, Gui X, et al. Structural basis of STING binding with and phosphorylation by TBK₁ [J]. *Nature*, 2019, **567**(7748):394-398.
- [4] Li XD, Wu JX, Gao DX, et al. Pivotal roles of cGAS-cGAMP signaling in antiviral defense and immune adjuvant effects [J]. *Science*, 2013, **341**(6152):1390-1394.
- [5] Ouyang SY, Song XQ, Wang YY, et al. Structural analysis of the STING adaptor protein reveals a hydrophobic dimer interface and mode of cyclic di-GMP binding [J]. *Immunity*, 2012, **36**(6):1073-1086.
- [6] Shu C, Yi GH, Watts T, et al. Structure of STING bound to cyclic di-GMP reveals the mechanism of cyclic dinucleotide recognition by the immune system [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, **19**(7):722-724.
- [7] Tu SM, Liu YP, Chen Y. Research progress of cGAS-STING in tumor metastasis [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2020, **55**(3):398-406.
- [8] Zhang H, You QD, Xu XL. Targeting Stimulator of interferon genes (STING): a medicinal chemistry perspective [J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(8):3785-3816.
- [9] Ji LY, Hao J, Wang GC, et al. Research progress on stimulator of interferon genes agonists for cancer immunotherapy [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2020, **51**(1):1-9.
- [10] Sun Y, Yang BW, Liu TC, et al. Advances in research of STING agonists [J]. *Chin. J. Med. Chem* (中国药物化学杂志), 2020, **30**(5):296-309.
- [11] Kalia D, Merey G, Nakayama S, et al. Nucleotide, c-di-GMP, c-di-AMP, cGMP, cAMP, (p) ppGpp signaling in bacteria and implications in pathogenesis [J]. *Chem Soc Rev*, 2013, **42**(1):305-341.
- [12] Li LY, Yin Q, Kuss P, et al. Hydrolysis of 2'3'-cGAMP by ENPP₁ and design of nonhydrolyzable analogs [J]. *Nat Chem Biol*, 2014, **10**(12):1043-1048.
- [13] Shaw BR, Sergueev D, He K, et al. Boranophosphate backbone: a mimic of phosphodiesters, phosphorothioates, and methyl phosphonates [J]. *Methods Enzymol*, 2000, **313**:226-257.
- [14] Glick G, Ghosh S, Roush WR, et al. Cyclic dinucleotide analogs for treating conditions associated with STING (stimulator of interferon genes) activity: WO2018045204A1 [P]. 2018-03-08.
- [15] Katibah GE, Kanne D, Sung L, et al. Compositions and methods for activating “stimulator of interferon gene”-dependent signaling: WO2017075477A1 [P]. 2017-05-04.
- [16] Altman MD, Andresen B, Chang W, et al. Cyclic di-nucleotide compounds as STING agonists: WO2017027646A1 [P]. 2017-02-16.
- [17] Wu RG, Yi DW. Cyclic dinucleotide compound, preparation method and application thereof: CN109694397A [P]. 2019-04-30.
- [18] Kanne DB, Ndubaku CO, BrumL JR, et al. Locked nucleic acid cyclic dinucleotide compounds and uses thereof: WO2018009466A1 [P]. 2018-01-11.
- [19] Lioux T, Mauny MA, Lamoureux A, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel cyclic adenosine-inosine monophosphate (cAIMP) analogs that activate Stimulator of interferon genes (STING) [J]. *J Med Chem*, 2016, **59**(22):10253-10267.
- [20] Fink BE, Zhao Y, Chen L, et al. Cyclic dinucleotides as anticancer agents: WO2019079261A1 [P]. 2019-04-25.
- [21] Vyskocil S, Ciavarri J, Cullis C, et al. STING modulator compounds, and methods of making and using: WO2019092660A1 [P]. 2019-05-16.
- [22] Kim DS, Endo A, Fang FG, et al. E-7766, a macrocycle-bridged stimulator of interferon genes (STING) agonist with potent pan-genotypic activity [J]. *ChemMedChem*, 2021, **16**(11):1740-1743.
- [23] Li YM, Wu JJ, Zhang BD, et al. Novel STING agonist, and preparation method and application thereof: CN111592570A [P]. 2020-08-28.
- [24] Peng JB, Guo SC, Liu Y, et al. Tumor immunity compound and application thereof: CN111349132A [P]. 2020-06-30.
- [25] Guo SC, Liu Y, Peng JB. Compound for tumor immunity and application thereof: CN111655712A [P]. 2020-09-11.
- [26] Prantner D, Perkins DJ, Lai W, et al. 5,6-Dimethylxanthone-4-acetic acid (DMXAA) activates Stimulator of interferon gene (STING)-dependent innate immune pathways and is regulated

- by mitochondrial membrane potential [J]. *J Biol Chem*, 2012, **287**(47):39776-39788.
- [27] Gao P, Ascano M, Zillinger T, et al. Structure-function analysis of STING activation by c[G(2',5')pA(3',5')p] and targeting by antiviral DMXAA[J]. *Cell*, 2013, **154**(4):748-762.
- [28] Caylor T, Deimling T, Ablacher A, et al. Species-specific detection of the antiviral small-molecule compound CMA by STING [J]. *EMBO J*, 2013, **32**(10):1440-1450.
- [29] Gao P, Zillinger T, Wang WY, et al. Binding-pocket and lid-region substitutions render human STING sensitive to the species-specific drug DMXAA[J]. *Cell Rep*, 2014, **8**(6):1668-1676.
- [30] Chamberlain BT, Rice JM, Finith FE, et al. Oxoacridinyl acetic acid derivatives and methods of use: WO2019100061A1[P]. 2019-05-23.
- [31] Hou S, Lan XJ, Li W, et al. Design, synthesis and biological evaluation of acridone analogues as novel STING receptor agonists[J]. *Bioorg Chem*, 2020, **95**:103556.
- [32] Zhang YB, Sun Z, Pei JW, et al. Identification of α -mangostin as an agonist of human STING [J]. *ChemMedChem*, 2018, **13**(19):2057-2064.
- [33] Ramanjulu JM, Pesiridis GS, Yang JS, et al. Design of amido-benzimidazole STING receptor agonists with systemic activity [J]. *Nature*, 2018, **564**(7736):439-443.
- [34] Deng YQ, Sun J. Heterocyclic compound capable of enhancing immune activity, preparation method therefor and application in medicine: WO2021000770A1[P]. 2021-01-07.
- [35] Xi QM, Wang MJ, Jia WQ, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of amidobenzimidazole derivatives as Stimulator of interferon genes (STING) receptor agonists [J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(1):260-282.
- [36] Wang XJ, Xi QM, Jin J, et al. Aromatic ring or aromatic heterocyclic imidazole compound, preparation method and pharmaceutical application thereof: CN112279835A[P]. 2021-01-29.
- [37] Li GY, Tian Q, Niu XD, et al. Heterocyclic amide compound, pharmaceutical composition containing heterocyclic amide compound, preparation method of heterocyclic amide compound and application of heterocyclic amide compound: CN110963997A[P]. 2020-04-07.
- [38] Li J, Zhang DY, Pan F, et al. Macro-cyclic immuno-modulator: CN111471056A[P]. 2020-07-31.
- [39] Li J, Zhang DY, Pan F, et al. Immunomodulator: CN111499617A[P]. 2020-08-07.
- [40] Leit De Moradei SM, Romero DL, Knight J, et al. STING Heterocycle agonists and uses thereof: WO2020132549A1[P]. 2020-06-25.
- [41] Leit De Moradei SM, Romero DL. STING pyrazole agonists and uses thereof: WO2020132566A1[P]. 2020-06-25.
- [42] Leit De Moradei SM, Romero DL, Knight J, et al. STING ago-
- nists and uses thereof: WO2020132582A1[P]. 2020-06-25.
- [43] Slassi A, Dove P, Rosa DA, et al. Heteroaromatic-fused imidazolyl amides, compositions and uses thereof as STING agonists: WO2020010451A1[P]. 2020-01-16.
- [44] Wu L, Lajkiewicz N, Yao W. Heteroaryl amide compounds as STING activators: WO2020146237A1[P]. 2020-07-16.
- [45] Zhang A, Geng MY, Song ZL, et al. Benzimidazole dimer and preparation method and application thereof: CN113087668[P]. 2021-07-09.
- [46] Cemerski S, Cumming JN, Kopinja JE, et al. Benzo[b]thiophene STING agonists for cancer treatment: WO2019027858A1[P]. 2019-02-07.
- [47] Zhang A, Geng MY, Ding CY, et al. Benzothiophene compound as well as pharmaceutical composition and application thereof: CN111393404A[P]. 2020-07-10.
- [48] Pan BS, Perera SA, Piesvaux JA, et al. An orally available non-nucleotide STING agonist with antitumor activity [J]. *Science*, 2020, **369**(6506):eaba6098.
- [49] Altman MD, Cash BD, Childers ML. Benzothiophenes and related compounds as sting agonists: WO2019195124A1[P]. 2019-10-10.
- [50] Fensome A, Fisher EL, Gajiwala KS. Polyheterocyclic modulators of STING (stimulator of interferon genes): WO2021059136A1[P]. 2021-04-01.
- [51] Jiang S, He CY, Zhang KY. Pyrimido five-membered heterocyclic compounds or pharmaceutically acceptable salts and isomers thereof, preparation method of pyrimido five-membered heterocyclic compounds or pharmaceutically acceptable salts and isomers thereof, pharmaceutical compositions and application of pyrimido five-membered heterocyclic compounds or pharmaceutically acceptable salts and isomers thereof and pharmaceutical compositions: CN113024563A[P]. 2021-06-25.
- [52] Shi J, Liu CL, Zhang B, et al. Genome mining and biosynthesis of kitacinnamycins as a STING activator [J]. *Chem Sci*, 2019, **10**(18):4839-4846.
- [53] Chin EN, Yu CG, Vartabedian VF, et al. Antitumor activity of a systemic STING-activating non-nucleotide cGAMP mimetic [J]. *Science*, 2020, **369**(6506):993-999.
- [54] Hanada R, Kokubo M, Kurono M, et al. STING -agonist compound: WO2020075790A1[P]. 2020-04-16.
- [55] Banerjee M, Middya S, Basu S, et al. Heterocyclic small molecule modulators of human STING: WO2018234807A1[P]. 2018-12-27.
- [56] Banerjee M, Middya S, Basu S, et al. Small molecule modulators of human STING: WO2018234808A1[P]. 2018-12-27.
- [57] Lu DF, Shang GJ, Li J, et al. Activation of STING by targeting a pocket in the transmembrane domain [J]. *Nature*, 2022, **604**(7906):557-562.