

DOI: 10.13376/j.cbls/20230029

文章编号: 1004-0374(2023)07-0956-10

二氢乳清酸脱氢酶抑制剂适应症及其抗肿瘤临床研究进展

皇泽慧^{1,2}, 姜凯龙^{2*}, 李 佳^{1,2*}

(1 遵义医科大学, 遵义 563099; 2 中科中山药物创新研究院, 中山 528400)

摘要: 二氢乳清酸脱氢酶 (dihydroorotate dehydrogenase, DHODH) 催化二氢乳清酸转化为乳清酸, 是嘧啶核苷酸从头合成途径的限速酶。DHODH 与自身免疫疾病、病毒感染、肿瘤等多种疾病的发生发展密切相关, 已有 DHODH 抑制剂被批准用于治疗自身免疫疾病, 而肿瘤是继自身免疫疾病后又一具有上市潜力的适应症。本文就 DHODH 抑制剂的适应症及其抗肿瘤临床研究进展进行综述。

关键词: 二氢乳清酸脱氢酶; 抑制剂; 适应症; 肿瘤; 临床研究

中图分类号: R730.5 文献标志码: A

The indications and the clinical antitumor progress of dihydroorotate dehydrogenase inhibitors

HUANG Ze-Hui^{1,2}, JIANG Kai-Long^{2*}, LI Jia^{1,2*}

(1 Zunyi Medical University, Zunyi 563099, China; 2 Zhongshan Institute for Drug Discovery, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Zhongshan 528400, China)

Abstract: Dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) catalyzes the conversion of dihydroorotate into orotate, which is the rate-limiting enzyme of *de novo* pyrimidine nucleotide biosynthetic pathway. DHODH is closely related to the occurrence and development of various diseases, including autoimmune diseases, viral infections, tumors and so on. DHODH inhibitors have been approved for the treatment of autoimmune diseases, and tumor is another indication with market potential. This article reviews the indications and the clinical antitumor progress of DHODH inhibitors.

Key words: dihydroorotate dehydrogenase; inhibitor; indication; tumor; clinical research

细胞是人体生命活动的基本单位, 其代谢是一切生命活动的基础。多种疾病的发生都与细胞代谢失调相关, 其中细胞代谢失调更是肿瘤发生发展的特征之一^[1]。代谢酶作为细胞代谢调控的关键蛋白, 已经成为很多癌症治疗的靶点。

嘧啶核苷酸是合成 DNA、RNA 等物质的原料, 在生命活动中起重要作用。细胞所需的嘧啶核苷酸的来源有两种途径: 补救合成途径和从头合成途径^[2]。细胞对嘧啶的需求取决于细胞类型和发育阶段: 静息或完全分化的细胞对嘧啶的需求较小, 主要通过补救合成途径获得嘧啶; 相反, 被激活的 T 细胞和其他快速增殖的细胞由于对核酸前体和其他细胞成分需求较多而严重依赖从头合成途径^[3]。

二氢乳清酸脱氢酶 (dihydroorotate dehydrogenase,

DHODH) 是一种存在于线粒体内膜的含铁黄素依赖酶, 是嘧啶核苷酸从头合成途径的限速酶 (图 1)。DHODH 与多种疾病 (如类风湿性关节炎^[4]、多发性硬化症^[5]、急性髓系白血病^[6]、小细胞肺癌^[7]、新冠肺炎^[8]等) 的发生发展密切相关, 已有多种针对此靶点的小分子抑制剂被报道。本文就 DHODH 抑制剂的适应症及其临床研究进展进行综述。

收稿日期: 2023-02-03; 修回日期: 2023-03-01

基金项目: 广东省高水平新型研发机构(2019B09090-4008); 广东省高水平创新研究院(2021B0909050003)

*通信作者: E-mail: jiangkailong@zidd.ac.cn (姜凯龙); jli@simm.ac.cn (李佳)

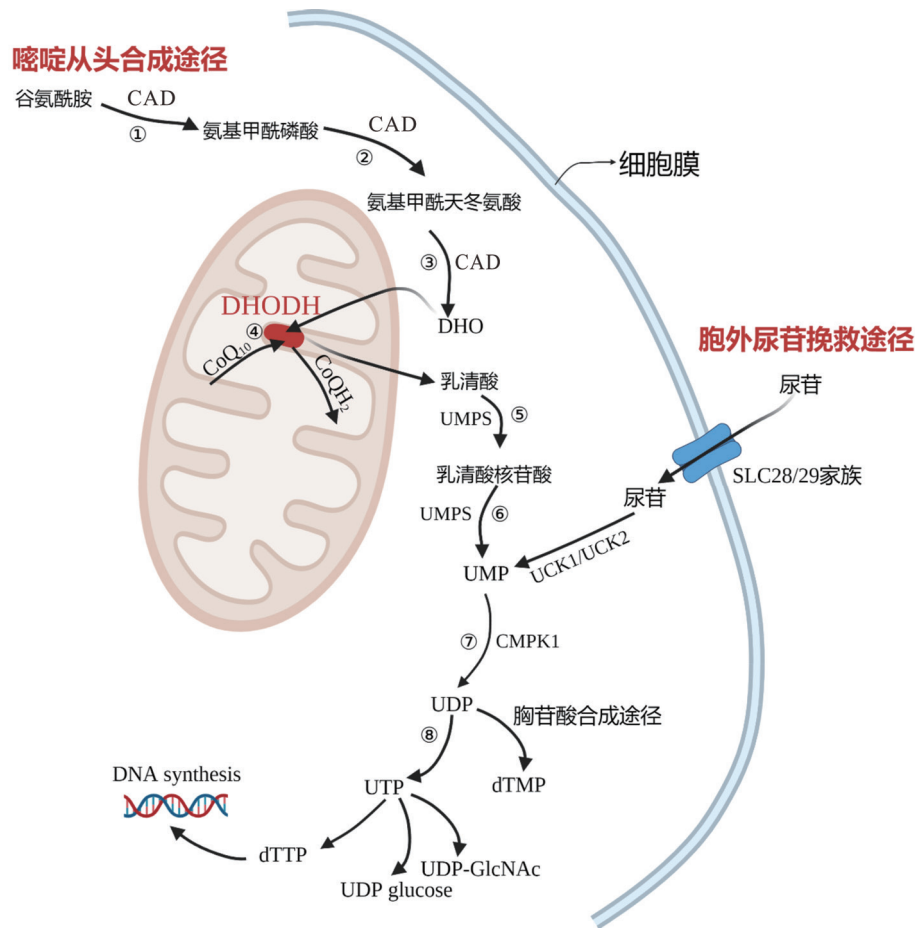


图1 嘧啶核苷酸从头合成途径

1 DHODH功能简介

1.1 DHODH在嘧啶核苷酸从头合成途径中的作用

嘧啶核苷酸从头合成途径由多种酶参与, 如氨基甲酰磷酸合成酶 II - 天冬氨酸氨基甲酰转移酶 - 二氢乳清酸酶多功能酶 (carbamoyl-phosphate synthetase 2, aspartate transcarbamylase and dihydroorotase, CAD)、DHODH、尿苷单磷酸合成酶 (uridine monophosphate synthetase, UMPS) 等^[9]。其中, DHODH 作为嘧啶从头合成途径的限速酶, 在这些酶的共同参与下促进单磷酸尿苷 (uridine monophosphate, UMP) 生成, 从而在增殖细胞中生成核酸合成所需的嘧啶类化合物^[10]。DHODH 嵌入线粒体内膜 (inner mitochondrial membrane, MIM) 外表面, 构成嘧啶合成途径中唯一位于线粒体的步骤。由于线粒体外膜对小分子具有通透性, DHODH 可以接触到底物二氢乳清酸 (dihydroorotate, DHO) 和 MIM 结合的辅酶 Q (coenzyme Q, CoQ), 产生乳清酸。乳清酸可以被细胞质中从头合成嘧啶途径的下游成员

UMPS 催化生成 UMP^[11]。细胞外尿苷可由 SLC28 和 SLC29 膜转运蛋白家族摄取, 当其进入细胞后, 尿苷被尿苷胞苷激酶 1/2 (uridine-cytidine kinase 1/2, UCK1/2) 磷酸化为 UMP^[12]。UMP 是用于 RNA 和 DNA 合成的第一个原料, 因此对 RNA 和 DNA 的合成至关重要。UMP 合成 UDP 后, 除了参与 RNA 和 DNA 合成之外, UDP 还充当 UDP-葡萄糖、UDP-半乳糖、UDP-葡萄糖醛酸和 UDP-N-乙酰氨基葡萄糖 (UDP-GlcNAc) 形式的其他代谢途径的媒介^[13]。

1.2 DHODH与各种疾病病理的关系

自身免疫性疾病的发生发展依赖于 DHODH。活化的淋巴细胞需要大约 8 倍的嘧啶核糖核苷酸尿苷一磷酸 (ribonucleotide uridine monophosphate, rUMP) 及其他嘧啶核糖核苷酸才能从 G₁ 期进入细胞周期 S 期, 因此它们必须利用从头合成途径和补救合成途径生成嘧啶核苷酸^[3]。当激活的淋巴细胞 DHODH 受到抑制时, 从头合成途径产生的 rUMP 减少, 导致细胞发生 G₁ 期阻滞^[14]。

病毒也被称为“细胞内专性寄生虫”, 完全依

赖宿主内部环境产生子代病毒颗粒。病毒基因组复制需要大量嘧啶的合成,需要细胞依赖从头合成途径,这使得 DHODH 抑制剂具有广谱抗病毒活性。实验证明,在感染了登革热病毒 (MOI = 2) 的 Vero 或 A549 细胞模型中, DHODH 抑制剂布喹那 (Brequinar, DUP785, BRQ) 可抑制病毒复制周期的早期、中期和后期阶段 (RNA 合成、病毒粒子组装或释放)^[15]。

肿瘤细胞在人体内恶性增殖发生代谢重编程,通过各种代谢途径改变它们的通量,来满足日益增长的生物合成需求^[16]。研究表明, DHODH 在多种恶性肿瘤中过表达,包括急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML)^[17]、乳腺癌^[18]、结直肠癌 (colorectal cancer, CRC)^[19]、黑色素瘤^[20]等。AML 细胞被发现对 DHODH 耗竭特别敏感^[21]。DHODH 在人乳腺癌组织中过表达, DHODH 过表达的乳腺癌细胞对 DHODH 抑制剂具有高度敏感性^[18]。DHODH 主要在表皮增生、光化性角化病、鲍恩病中表达,在侵袭性鳞状细胞癌样本中也呈弥漫性分布^[22]。值得注意的是, DHODH 在皮肤癌中的活性大约是正常皮肤的 2 倍^[22]。

2 DHODH抑制剂及其适应症

2.1 DHODH抑制剂

鉴于 DHODH 在被激活的 T 细胞和其他快速增殖的细胞中的重要作用, DHODH 抑制剂成为药物研究领域的热点。迄今为止,已报道多种不同结构的 DHODH 抑制剂,如经典的以来氟米特 (其活性代谢产物为特立氟胺) 为代表的 5-甲基异恶唑-4-甲酰胺衍生物^[23-24],以布喹那为代表的 6-氟-3-甲基-4-喹酸钠盐衍生物^[25],以及其他的喹啉-2-羧酸衍生物^[26]和氨基苯甲酸衍生物^[27]等。目前,全球范围内已经提交了 600 项涉及 DHODH 抑制剂的专利申请。已上市的 DHODH 抑制剂除来氟米特 (用于治疗类风湿性关节炎、狼疮肾炎和银屑病关节炎) 之外,还有其活性产物特立氟胺 (teriflunomide, A771726; 用于治疗复发型多发性硬化)。处于临床研究阶段的 DHODH 抑制剂还有布喹那^[28]、Olorofim^[23]、Vidofludimus calcium^[29]、IMU-935^[30]和 ASLAN003^[31]等 12 个,已被尝试用于各种疾病的治疗,包括类风湿性关节炎和多发性硬化等自身免疫疾病和肿瘤。

2.2 DHODH抑制剂适应症

2.2.1 自身免疫疾病

DHODH 抑制剂在自身免疫疾病的治疗中起重要作用,包括类风湿性关节炎^[32]、多发性硬化症^[5]

等。研究表明,使用 DHODH 抑制剂来氟米特抑制 DHODH 活性后,可使活化后的淋巴细胞发生 G₁ 期阻滞^[14],进而抑制 T 细胞增殖及 B 细胞产生抗体,进而治疗类风湿性关节炎^[33]、系统性红斑狼疮^[34]、肾小球肾炎^[35]等自身免疫疾病。特立氟胺在体外对小鼠 TH1 细胞的极化和增殖具有抑制作用,抑制多发性硬化症患者 DHODH 可能会恢复促炎和抗炎 CD4⁺ T 细胞之间的失衡;在功能上,特立氟胺既不影响 Treg 的抑制能力,也不调节关键调节分子和细胞因子的表达,表明 DHODH 不参与 Treg 功能本身的调节^[36]。

2.2.2 恶性肿瘤

DHODH 抑制剂在不同的肿瘤中都表现出较强的抗肿瘤作用。Sykes 等^[17]的研究表明, DHODH 抑制剂布喹那可以促进雌激素受体 (estrogen receptor, ER)-HoxA9 模型系统的细胞分化; HoxA9 在超过 50% 的 AML 中表达升高,并与 AML 的不良预后相关^[37]。DHODH 抑制剂 Isobavachalcone 可以抑制 AML 细胞系 HL60、THP-1、U937 和 MOLM-13 细胞的增殖并促进分化^[38]。Baumann 等^[39]发现, DHODH 抑制剂特立氟胺可以导致多发性骨髓瘤细胞系 OPM-2、RPMI-8226、NCI-H929 和 U266 凋亡、增殖抑制和 G₁ 周期阻滞;研究还发现,抑制 DHODH 可导致 Akt、p70S6K 和真核翻译起始因子 4E 结合蛋白 -1 (4E-binding protein 1, 4E-BP1) 磷酸化水平降低, BCL-2 家族蛋白表达下调,细胞尿苷耗竭。Fairus 等^[40]的研究证实,乳腺癌细胞 T-47D 和 MDA-MB-231 对 DHODH 抑制剂的反应能维持内源性 ROS 水平,并显示出高水平的 ATP 消耗;此外, DHODH 抑制剂可上调 T-47D 和 MDA-MB-231 细胞的 p53、p65/RelA 和 STAT6 蛋白的表达,并导致细胞周期阻滞。这些信号分子可以在体内外通过协同作用结合到相关的 DNA 结合位点,进而协同激活转录^[41]。有研究表明, STAT6 过表达可以通过激活 IL-4 而抑制乳腺癌细胞 (MCF7) 的生长^[42]。Yamaguchi 等^[19]的研究表明, PCK1 和 DHODH 是结直肠癌转移的关键代谢驱动因素和治疗靶点。该研究利用患者来源的结直肠癌异种移植模型预测临床生存结果,并进一步利用来氟米特证明抑制 DHODH 能有效抑制结直肠癌转移和肿瘤生长。Hail 等^[43]的实验表明, DHODH 抑制剂特立氟胺在体外对 DHODH 的抑制作用促进了恶性前和恶性皮肤角质形成细胞的生长抑制和凋亡。此外, DHODH 抑制剂来氟米特可抑制斑马鱼和小鼠模型中黑色素瘤的形成和生长^[44]。

DHODH 抑制剂还可以抑制其他肿瘤细胞生长, 如肺癌^[7]、胰腺癌^[45]、皮肤癌^[46]、神经母细胞瘤^[12]、肾细胞癌^[47]、宫颈癌^[48]和胶质瘤干细胞^[49]。综上所述, DHODH 在各种肿瘤治疗中表现出巨大的潜力, 其与其他肿瘤中是否有更强大的应用值得期待。

2.2.3 其他疾病

DHODH 抑制剂除了治疗自身免疫疾病和肿瘤之外, 还可治疗疟原虫感染^[50]、肝功能衰退^[51]、西尼罗河病毒感染^[52]等疾病。科学研究表明, DHODH 抑制剂可抑制免疫调节和炎症相关细胞因子亚群生成^[53], 并影响 SARS-CoV-2 在肾脏类器官中的复制^[54]。DHODH 抑制剂对其他病毒/病毒性疾病如新城疫病毒 (NDV)、埃博拉病毒 (EBOV)、EB 病毒 (EBV) 和小核糖核酸病毒 (Picornavirus) 也有治疗作用^[55]。

2.2.4 DHODH抑制剂适应症总结

DHODH 抑制剂具有广泛的适应症, 涵盖了肿瘤、自身免疫疾病、疟原虫感染、病毒感染、真菌感染等领域, 未来还会有更多的适应症被发掘, 帮助解决目前的医学困境。目前, 已有 DHODH 抑制剂被批准用于治疗自身免疫疾病, 而肿瘤是其继自身免疫疾病之后又一具有上市潜力的适应症。

3 DHODH抑制剂在肿瘤领域的临床研究进展

目前, 以肿瘤为适应症进入临床研究 (包括已经终止) 阶段的 DHODH 抑制剂有 10 个, 而临床上用于治疗其他疾病的 DHODH 抑制剂也有治疗肿瘤的作用。根据 ClinicalTrials.gov 数据库信息, 将进入抗肿瘤临床试验阶段的 DHODH 抑制剂 (表 1) 研究进展总结如下。

3.1 来氟米特

来氟米特最初获美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准用于治疗类风湿性关节炎, 而后其成功用于治疗干癣性关节炎、牛皮癣和其他炎症 (如大疱性类天疱疮、费尔蒂综合征、Sjogren 综合征、韦格纳肉芽肿和血管炎)^[56]。来氟米特是一个较弱的人 DHODH 抑制剂, 其 IC_{50} 值为 $98 \mu\text{mol/L}$ ^[57]。它是一种前体药物, 摄入后迅速转化为其活性代谢产物特立氟胺 (泛醌的非竞争性抑制剂, $IC_{50} = 1.1 \mu\text{mol/L}$)。研究表明, 来氟米特对各种恶性肿瘤都有较强的抑制作用。来氟米特对 DHODH 的抑制可诱导 HeLa 细胞中 p53 上调^[58], 抑制 PTEN 突变人乳腺癌细胞系的增殖, 并有助于肾细胞癌 S 期阻滞和自噬^[24, 59]。Zhu 等^[60]的研究证明, 来氟米特抑制 DHODH 后可抑制神经母细胞瘤细胞增殖并诱导细胞凋亡, 且在重度联合免疫缺

表1 进入(包括已经终止)抗肿瘤临床试验阶段的DHODH抑制剂

药物名称	临床阶段	启动时间	适应症	NCT No.
来氟米特	I 期(完成)	1997	肉瘤、胶质瘤	NCT00001573
	III期(完成)	1998	中枢神经系统肿瘤、脑癌	NCT00003293
	II 期(进行中)	2015	多发性骨髓瘤	NCT02509052
	II 期(招募取消)	2019	多发性骨髓瘤	NCT03952832
	II 期(进行中)	2021	血液肿瘤、实体瘤、淋巴瘤	NCT04532372
PTC 299	I 期(无进展)	2007	乳腺癌	NCT00508586
	I 期(终止)	2008	卡波济氏肉瘤	NCT00686842
	I 期(终止)	2008	肿瘤	NCT00704821
	II 期(终止)	2009	神经纤维瘤病 II 型	NCT00911248
	I 期(无进展)	2010	中枢神经系统肿瘤、脑癌	NCT01158300
	I 期(终止)	2018	急性髓系白血病	NCT03761069
Olorofim	II 期(招募取消)	2017	急性髓系白血病	NCT03036046; NCT02856178
布喹那	II 期(终止)	2018	急性髓系白血病	NCT03760666
ASLAN003	II 期(完成)	2018	急性髓系白血病	NCT03451084
BAY 2402234	I 期(终止)	2018	白血病	NCT03404726
	I 期(终止)	2021	胶质瘤	NCT05061251
AG-636	I 期(终止)	2019	淋巴瘤	NCT03834584
JNJ-74856665	I 期(进行中)	2020	慢性粒单核细胞白血病、急性髓系白血病	NCT04609826
IMU-935	I 期(招募中)	2021	前列腺癌	NCT05124795
RP-7214	II 期(招募取消)	2023	慢性粒单核细胞白血病、急性髓系白血病	NCT05246384

陷 (server combined immune-deficiency, SCID) 小鼠的神经母细胞瘤细胞皮下移植瘤模型中也有抑制肿瘤生长的作用。研究表明, 来氟米特也可通过非DHODH抑制作用治疗肿瘤。Chu等^[61]的研究揭示, 来氟米特通过抑制 sEphrin-A1/EphA2 系统从而抑制 N-丁基-N-(4-羟基丁基)-亚硝胺诱导的膀胱癌 (bladder cancer, BCa) 模型、BCa 细胞皮下移植瘤及 BCa 细胞与 HUVEC 细胞共培养体系的血管生成, 进而影响 BCa 疾病进程^[61]。尽管来氟米特在体外及动物模型中有较强的抗肿瘤作用, 但在临床试验给药期间观察到了来氟米特的严重副作用, 包括腹泻、肝功能异常、高血压、骨髓抑制、恶心和脱发^[62]。由于 2002 年 8 月至 2009 年 5 月期间接受来氟米特治疗的患者出现严重肝损伤, DHODH 的安全性问题已无法回避; 美国 FDA 在 2010 年的审查中发现 49 例严重肝损伤, 其中 14 例死亡, 这导致美国 FDA 对来氟米特药品说明书进行了肝损伤的黑盒警告^[63]。

来氟米特诱导的药物性肝损伤由不同机制介导, 包括以组织损伤结束的炎症途径。在动物实验中, 来氟米特通过剂量依赖性上调 TLR4/PI3K/mTOR 通路和细胞凋亡标志物 caspase 3 诱导炎症性肝损伤发生^[64]。此外, 来氟米特及其活性代谢物特立氟胺在 HepG2 细胞中表现出线粒体毒性。特立氟胺可抑制线粒体氧化磷酸化复合物 V, 进而导致 ATP 耗竭和线粒体膜电位崩溃^[64]。来氟米特造成内质网应激和 MAPK 信号通路中 JNK 和 ERK1/2 增强也是造成 HepG2 细胞线粒体毒性的又一原因^[64]。遗传学研究表明, 慢速细胞色素酶 CYP2C9*3 等位基因与类风湿性关节炎患者中来氟米特诱发的肝炎之间存在相关性^[65]。是否还有其他机制导致来氟米特的毒副作用还未可知, 但来氟米特严重的副作用阻碍了其进一步的临床应用。来氟米特以中枢神经系统肿瘤和脑癌为适应症的临床 III 期试验 (临床试验登记号: NCT00003293) 已经完成, 以多发性骨髓瘤为适应症的临床 II 期试验 (临床试验登记号: NCT02509052) 以及用于治疗血液肿瘤、实体瘤和淋巴瘤的临床 II 期试验 (临床试验登记号: NCT04532372) 正在进行中。

此外, 来氟米特的活性代谢产物特立氟胺也显示出潜在的抗肿瘤作用。特立氟胺是由赛诺菲和美国健赞公司研发的小分子药物, 最初被用于治疗类风湿性关节炎和多发性硬化症^[32, 66]。它是一种非竞争性的 DHODH 抑制剂^[67], 可造成细胞 S 期阻滞, 对恶性肿瘤细胞、增殖的 T 细胞和 B 细胞产生细胞

有生长抑制作用^[66]。科学研究证实, 特立氟胺可通过调节细胞周期蛋白 D2 和 pRb 的表达诱导多发性骨髓瘤细胞 G₁ 期阻滞, 降低蛋白激酶 B、p70S6K 和 4E-BP1 的磷酸化^[18]。Huang 等^[68]的研究表明, 特立氟胺可通过激活 MAPK 通路调控细胞生存信号, 且能下调三阴性乳腺癌 (TNBC) 细胞中 Raf-1、EGFR 和 IGF1R 的蛋白表达量。来氟米特作用于 TNBC 细胞后可抑制细胞增殖, 并诱导 TNBC 细胞发生 S 期阻滞和凋亡。

3.2 PTC 299

PTC 299 一开始被认为是 VEGF 表达抑制剂, 但在 2017 年被证实为 DHODH 抑制剂, 其 IC₅₀ 为 1 nmol/L^[69]。研究表明, 2 μmol/L PTC 299 可降低 18% (34/184) 的实体瘤细胞和 57% (32/56) 的血液瘤细胞的细胞活力, 促进 AML 细胞分化, 并抑制白血病细胞异种移植瘤模型和患者来源异种移植小鼠模型肿瘤生长, 表明其具有治疗恶性肿瘤的潜力^[70]。目前, PTC 299 已被尝试用于治疗多种肿瘤, 包括乳腺癌 (临床试验登记号: NCT00508586)、肿瘤 (临床试验登记号: NCT00704821)、卡波济氏肉瘤 (临床试验登记号: NCT00686842)、神经纤维瘤病 II 型 (临床试验登记号: NCT00911248)、中枢神经系统肿瘤和脑癌 (临床试验登记号: NCT01158300) 以及 AML (临床试验登记号: NCT03761069)。根据美国 FDA 的建议, 使用 PTC 299 治疗成人难治性或复发性中枢神经系统肿瘤的试验因两例肝毒性病例 (其中一例死亡) 而终止^[71]。

3.3 布喹那

布喹那是在 20 世纪 80 年代被开发的, 它对许多人癌细胞移植瘤显示出良好的临床前抗肿瘤活性^[72]。而其进入临床时, 尽管有一些迹象表明它可能具有抗嘧啶活性, 但其作用机制并不明确^[73]。而后研究人员使用“吡啶咪喃”实验^[74]才证明布喹那可抑制嘧啶从头合成核苷酸合成早期的酶。Peters 等^[75]则利用大鼠肝线粒体 DHO 的双向动力学特征测定了 DHODH 活性, 从而确定布喹那是一种有效的线粒体 DHODH 抑制剂。

布喹那是已知最强的人类 DHODH 抑制剂之一, IC₅₀ 值为 1.8 nmol/L^[76]。布喹那已进入以晚期实体瘤等恶性肿瘤为适应症的 I 期和 II 期临床试验^[62], 如头颈部鳞状细胞癌^[77]、肺癌^[78]、胃肠道癌^[78-79]、乳腺癌和黑色素瘤^[80-81]。然而, 在这些试验中, 它在各种实体瘤中仅表现出非常微弱的抗癌作用和狭窄的治疗窗口, 这阻碍了其临床应用^[82]。

此外,当布喹那及其类似物与环孢菌素联合使用时,毒性也有所增加;观察到的毒性作用包括:白细胞减少、血小板减少、体重增加或体重减轻、胸腺萎缩、骨髓和脾白髓细胞耗竭以及空肠绒毛萎缩等^[83]。2018年,布喹那再次进入临床(临床试验登记号:NCT05166876),与利巴韦林联合治疗复发/难治性急性髓性白血病,但2022年8月该试验被终止,试验结果未披露。

3.4 ASLAN003

ASLAN003是另一个强效DHODH选择性抑制剂,IC₅₀ = 35 nmol/L^[84]。2018年8月20日,亚狮康药业公司宣布被美国FDA授予ASLAN003用于AML治疗的孤儿药资格。研究表明,ASLAN003通过抑制DHODH抑制白血病细胞THP-1、MOLM-14和KG-1的生长,且通过诱导髓系转录因子Runx1、Pu.1、Gfi1和抑制HoxA9、Gata1来诱导白血病细胞分化,并延长MOLM-14和THP-1细胞异种移植瘤模型生存期,减少异种移植小鼠的播散性肿瘤和白血病对肝脏的浸润^[84]。之后的研究表明,ASLAN003对DHODH的抑制可诱导白血病细胞线粒体膜电位丧失,并诱导caspase 3/7的裂解作用,进而诱导细胞凋亡。ASLAN003可通过激活AP-1转录因子抑制蛋白质合成并诱导白血病细胞分化,同时降低真核翻译起始因子家族四个成员(EEF1B2、EIF4B、EIF3L和EEF1B2P3)的基因表达。临床I期试验(临床试验登记号:NCT03451084)表明,健康志愿者对ASLAN003有良好的耐受性^[31]。2018年1月,亚狮康药业公司开展临床II期试验(临床试验登记号:NCT03451084)用于治疗AML,并于2021年7月完成试验;美国FDA披露的试验结果显示有24人参与试验,对ASLAN003治疗的响应率为0,200 mg一天给药一次时不良反应发生率为83.3%,200 mg一天两次给药时不良反应发生率为100%,不良反应包括血小板减少、白细胞增多、贫血、恶心、腹痛、食欲下降、流鼻血、出现斑丘疹(ClinicalTrials.gov)。总之,ASLAN003治疗AML的效果并不理想。

3.5 BAY 2402234

BAY 2402234是选择性的强效DHODH抑制剂,IC₅₀为1.2 nmol/L^[85],由博德研究所研发。Christian等^[85]的研究表明BAY 2402234可抑制AML细胞增殖,并诱导其周期阻滞、分化和凋亡。研究发现BAY 2402234还可下调AML细胞中高迁移率族蛋白A1(具有结构转录因子功能,对肿瘤干细胞的自

我更新有重要作用)、N-乙酰葡萄糖胺磷酸转移酶和UDP-N-乙酰葡萄糖胺焦磷酸化酶1的表达,并证实了在体内从头嘧啶合成途径和MYC表达之间的联系^[86]。Merz等^[87]的研究结果表明,BAY 2402234可抑制CRC细胞增殖:大规模患者来源CRC异种移植模型筛选实验结果显示,超过60%的模型可响应BAY 2402234治疗而抑制肿瘤生长。研究还证实,BAY 2402234对DHODH的抑制可使异柠檬酸脱氢酶1突变型胶质瘤对BAY 2402234敏感,且BAY 2402234可抑制IDH突变神经胶质瘤细胞DF-AA27原位同种异体移植肿瘤生长^[88]。由于BAY 2402234在体内和体外表现出的强大抗肿瘤作用,2018年3月29日,拜耳提出申请在法国和美国开展临床II期试验(临床试验登记号:NCT03404726)用于治疗白血病,但试验在2021年3月宣布终止。而在2021年12月,BAY 2402234以胶质瘤作为适应症进行临床I期试验(临床试验登记号:NCT05061251),但不幸的是,在2022年1月临床试验被迫中止。

3.6 其他进入抗肿瘤临床试验阶段的DHODH抑制剂

Olorofim在临床上用于治疗侵袭性真菌感染、曲霉菌属感染和肾脏疾病等^[23]。2022年12月19日,F2G生物制药公司以侵袭性真菌感染为适应症向美国FDA提交上市申请。2017年3月,F2G生物制药公司开展用于治疗AML的临床II期试验(临床试验登记号:NCT03036046、NCT02856178),但2018年2月招募取消。

AG-636(IC₅₀ = 17 nmol/L^[89])可抑制AML细胞系、原代母细胞和在基质支持生理条件下培养的各种基因组改变的AML患者的CD34⁺白血病干细胞的增殖,并诱导细胞凋亡。Zeng等^[90]证实,AG-636可显著延长异种移植MOLM-13-GFP-荧光素酶细胞小鼠模型的生存期。AG-636以淋巴瘤为适应症进入I期临床试验(临床试验登记号:NCT03834584),但2020年试验终止。

JNJ-74856665是次纳摩尔级的DHODH抑制剂,可抑制MOLM-13、OCI-AML3、HL60和THP-1等AML细胞系的增殖,并诱导这四种细胞系分化;而分化伴随着细胞周期停滞和细胞凋亡诱导。Pietsch等^[91]的研究表明,JNJ-74856665可抑制AML细胞系(MOLM-13和OCI-AML3)皮下移植瘤小鼠模型肿瘤生长,并延长弥散模型(MOLM-13)小鼠生存期。2020年10月和11月,杨森研究发展公司在法国、韩国和西班牙等国家和地区开展JNJ-74856665

的临床 I 期试验, 用于治疗 AML 和慢性粒单核细胞白血病 (chronic myelomonocytic leukemia, CMML) (临床试验登记号: NCT-04609826)。

IMU-935 由德国 Immunic AG 研发, 据公司官网报道 IMU-935 为维甲酸相关孤儿受体 γ t (retinoid-related orphan receptor- γ t, ROR γ t) 抑制剂, 后发现其对 DHODH 有抑制作用, IC_{50} 值为 240 nmol/L。目前处于临床 I 期试验 (临床试验登记号: NCT-05124795), 用于治疗前列腺癌。

RP-7214 于 2023 年 1 月以 CMML 和 AML 为适应症进入临床 II 期试验 (临床试验登记号: NCT05246384)。

4 总结与展望

DHODH 是嘧啶从头合成途径的限速酶, 嘧啶核苷酸是人体合成 DNA、RNA、糖蛋白和磷脂所必需的原料。多项研究表明, DHODH 在多种疾病中高表达, 而使用 DHODH 抑制剂或者利用 RNA 干扰使其下调后, 疾病得到缓解。DHODH 抑制剂已经在临床试验中用于多种疾病的治疗, 而新的 DHODH 抑制剂正在不断地被发现。然而, 其中一些抑制剂有较严重的毒副作用, 致使其应用受到限制。如来氟米特及其主要代谢物特立氟胺由于在血浆中半衰期长、易在肝脏中蓄积, 其在处方信息中被给予肝损伤黑框警告; PTC 299 也由于肝毒性而终止临床试验。随后开发新的 DHODH 抑制剂时开始注意药物毒副作用, 如何开发出高效低毒的抑制剂将是永远的探究主题。开发特异性的 DHODH 抑制剂来减少脱靶效应似乎是解决毒副作用问题的有效方法。

布喹那及其他 DHODH 抑制剂在肿瘤领域的研究证明, DHODH 抑制剂能够有效抑制多种肿瘤细胞的生长和增殖, 并与其他靶点药物 (如 hENT1/2 抑制剂双嘧达莫、抗生素阿霉素、低甲基化药物地西他滨) 具有协同抑制肿瘤的作用, 这表明 DHODH 抑制剂可能是一类潜在的肿瘤治疗药物。但目前 DHODH 抑制剂敏感适应症和相应的生物标志物还有待进一步研究, 尚未有 DHODH 生物标志物的相关报道, 这可以作为后续研究的重点。从目前的临床前及临床研究结果来看, DHODH 抑制剂具有广泛抗肿瘤作用, 但布喹那等抑制剂在体外有强效抑制 DHODH 作用, 进行临床试验后却因为缺乏有效性而不得不终止, 可能的原因是人体内的嘧啶核苷酸补救合成途径抵消了 DHODH 抑制剂导致的嘧啶

核苷酸减少。因此, 未来的 DHODH 抑制剂在进行适应症选择时, 可以考虑从两方面入手: 一方面是选择对 DHODH 抑制敏感的适应症或选择合适的生物标志物遴选敏感人群; 另一方面, 与补救合成途径抑制剂联用, 以达到协同增效、降低毒性的效果。

[参 考 文 献]

- [1] Counihan JL, Grossman EA, Nomura DK. Cancer metabolism: current understanding and therapies. *Chem Rev*, 2018, 118: 6893-923
- [2] Jiang D, Wang S, Li H, et al. Insight into the mechanism of glycerol dehydration and subsequent pyridine synthesis. *ACS Sustainable Chem Eng*, 2021, 9: 3095-103
- [3] Fairbanks LD, Bofill M, Ruckemann K, et al. Importance of ribonucleotide availability to proliferating T-lymphocytes from healthy humans: disproportionate expansion of pyrimidine pools and contrasting effects of *de novo* synthesis inhibitors. *J Biol Chem*, 1995, 270: 29682-9
- [4] Prasad P, Verma S, Surbhi, et al. Rheumatoid arthritis: advances in treatment strategies. *Mol Cell Biochem*, 2023, 478: 69-88
- [5] Muehler A, Peelen E, Kohlhof H, et al. Vidofludimus calcium, a next generation DHODH inhibitor for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*, 2020, 43: 102129
- [6] Kamli H, Zaman GS, Shaikh A, et al. A combined chemical, computational, and *in vitro* approach identifies SBL-105 as novel DHODH inhibitor in acute myeloid leukemia cells. *Oncol Res*, 2022, 28: 899-911
- [7] Li L, Ng SR, Colón CI, et al. Identification of DHODH as a therapeutic target in small cell lung cancer. *Sci Transl Med*, 2019, 11: eaaw7852
- [8] Berber B, Doluca O. A comprehensive drug repurposing study for COVID19 treatment: novel putative dihydroorotate dehydrogenase inhibitors show association to serotonin-dopamine receptors. *Brief Bioinform*, 2021, 22: 1023-37
- [9] Zhang Y, Guo S, Xie C, et al. Uridine metabolism and its role in glucose, lipid, and amino acid homeostasis. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 7091718
- [10] Pokhriyal R, Evans L, O'Neil JK, et al. Identifying mechanisms of resistance to DHODH inhibition in cancer. *Blood*, 2022, 140: 3001-2
- [11] Mao C, Liu X, Zhang Y, et al. DHODH-mediated ferroptosis defence is a targetable vulnerability in cancer. *Nature*, 2021, 593: 586-90
- [12] Yu Y, Ding J, Zhu S, et al. Therapeutic targeting of both dihydroorotate dehydrogenase and nucleoside transport in MYCN-amplified neuroblastoma. *Cell Death Dis*, 2021, 12: 821
- [13] Ma J, Denisov SA, Marignier JL, et al. Ultrafast electron attachment and hole transfer following ionizing radiation of aqueous uridine monophosphate. *J Phys Chem Lett*, 2018, 9: 5105-9
- [14] Cherwinski HM, McCarley D, Schatzman R, et al. The immunosuppressant leflunomide inhibits lymphocyte

- progression through cell cycle by a novel mechanism. *J Pharmacol Exp Ther*, 1995, 272: 460-8
- [15] Qing M, Zou G, Wang QY, et al. Characterization of dengue virus resistance to brequinar in cell culture. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54: 3686-95
- [16] Faubert B, Solmonson A, DeBerardinis RJ. Metabolic reprogramming and cancer progression. *Science*, 2020, 368: eaaw5473
- [17] Sykes DB, Kfoury YS, Mercier FE, et al. Inhibition of dihydroorotate dehydrogenase overcomes differentiation blockade in acute myeloid leukemia. *Cell*, 2016, 167: 171-86.e15
- [18] Mohamad Fairus AK, Choudhary B, Hosahalli S, et al. Dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitors affect ATP depletion, endogenous ROS and mediate S-phase arrest in breast cancer cells. *Biochimie*, 2017, 135: 154-63
- [19] Yamaguchi N, Weinberg EM, Nguyen A, et al. PCK1 and DHODH drive colorectal cancer liver metastatic colonization and hypoxic growth by promoting nucleotide synthesis. *Elife*, 2019, 8: e52135
- [20] Hail N, Jr., Chen P, Kepa JJ, et al. Dihydroorotate dehydrogenase is required for N-(4-hydroxyphenyl) retinamide-induced reactive oxygen species production and apoptosis. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49: 109-16
- [21] Sykes DB. The emergence of dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) as a therapeutic target in acute myeloid leukemia. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22: 893-8
- [22] Hail N Jr, Chen P, Kepa JJ, et al. Evidence supporting a role for dihydroorotate dehydrogenase, bioenergetics, and p53 in selective teriflunomide-induced apoptosis in transformed versus normal human keratinocytes. *Apoptosis*, 2012, 17: 258-68
- [23] Lamoth F, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Investigational antifungal agents for invasive mycoses: a clinical perspective. *Clin Infect Dis*, 2022, 75: 534-44
- [24] Zhang C, Chu M. Leflunomide: a promising drug with good antitumor potential. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496: 726-30
- [25] Peters GJ. Re-evaluation of Brequinar sodium, a dihydroorotate dehydrogenase inhibitor. *Nucleos Nucleot Nucl*, 2018, 37: 666-78
- [26] Vyas VK, Variya B, Ghate MD. Design, synthesis and pharmacological evaluation of novel substituted quinoline-2-carboxamide derivatives as human dihydroorotate dehydrogenase (hDHODH) inhibitors and anticancer agents. *Eur J Med Chem*, 2014, 82: 385-93
- [27] McLean LR, Zhang Y, Degnen W, et al. Discovery of novel inhibitors for DHODH via virtual screening and X-ray crystallographic structures. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20: 1981-4
- [28] Schultz DC, Johnson RM, Ayyanathan K, et al. Pyrimidine inhibitors synergize with nucleoside analogues to block SARS-CoV-2. *Nature*, 2022, 604: 134-40
- [29] Fox RJ, Wiendl H, Wolf C, et al. A double-blind, randomized, placebo-controlled phase 2 trial evaluating the selective dihydroorotate dehydrogenase inhibitor vidofludimus calcium in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Ann Clin Transl Neurol*, 2022, 9: 977-87
- [30] Gege C. Retinoic acid-related orphan receptor gamma t (ROR γ t) inverse agonists/antagonists for the treatment of inflammatory diseases - where are we presently? *Expert Opin Drug Discov*, 2021, 16: 1517-35
- [31] Ting SB, Ng CH, Bajel A, et al. Preliminary results of a phase 2a dose optimization study of ASLAN003 (DHODH inhibitor) in acute myeloid leukemia (AML) patients who are ineligible for standard therapy; early signs of activity. *Blood*, 2018, 132: 2676
- [32] Wiese MD, Hopkins AM, King C, et al. Precision medicine with leflunomide: consideration of the DHODH haplotype and plasma teriflunomide concentration and modification of outcomes in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res*, 2021, 73: 983-9
- [33] Silva HT, Cao W, Shorthouse R, et al. Mechanism of action of leflunomide: *in vivo* uridine administration reverses its inhibition of lymphocyte proliferation. *Transplant Proc*, 1996, 28: 3082-4
- [34] Popovic S, Bartlett RR. Disease modifying activity of HWA 486 on the development of SLE in MRL/1-mice. *Agents Actions*, 1986, 19: 313-4
- [35] Ogawa T, Inazu M, Gotoh K, et al. Therapeutic effects of leflunomide, a new antirheumatic drug, on glomerulonephritis induced by the antibasement membrane antibody in rats. *Clin Immunol Immunopathol*, 1991, 61: 103-18
- [36] Klotz L, Eschborn M, Lindner M, et al. Teriflunomide treatment for multiple sclerosis modulates T cell mitochondrial respiration with affinity-dependent effects. *Sci Transl Med*, 2019, 11: eaao5563
- [37] Yoshino S, Yokoyama T, Sunami Y, et al. Trib1 promotes acute myeloid leukemia progression by modulating the transcriptional programs of Hoxa9. *Blood*, 2021, 137: 75-88
- [38] He H, Wang C, Liu G, et al. Isobavachalcone inhibits acute myeloid leukemia: potential role for ROS - dependent mitochondrial apoptosis and differentiation. *Phyther Res*, 2021, 35: 3337-50
- [39] Baumann P, Mandl-Weber S, Volkl A, et al. Dihydroorotate dehydrogenase inhibitor A771726 (leflunomide) induces apoptosis and diminishes proliferation of multiple myeloma cells. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8: 366-75
- [40] Fairus AM, Choudhary B, Hosahalli S, et al. Dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitors affect ATP depletion, endogenous ROS and mediate S-phase arrest in breast cancer cells. *Biochimie*, 2017, 135: 154-63
- [41] Wang W, Wang L, Zha B. The roles of STAT6 in regulating B cell fate, activation, and function. *Immunol Lett*, 2021, 233: 87-91
- [42] Huang S, Dong D, Zhang Y, et al. Long non-coding RNA nuclear paraspeckle assembly transcript 1 promotes activation of T helper 2 cells via inhibiting STAT6 ubiquitination. *Hum Cell*, 2021, 34: 800-7
- [43] Hail N Jr, Chen P, Rower J, et al. Teriflunomide encourages cytostatic and apoptotic effects in premalignant and malignant cutaneous keratinocytes. *Apoptosis*, 2010, 15: 1234-46

- [44] White RM, Cech J, Ratanasirintrao S, et al. DHODH modulates transcriptional elongation in the neural crest and melanoma. *Nature*, 2011, 471: 518-22
- [45] Mullen NJ, Thakur R, Shukla SK, et al. ENT1 blockade by CNX-774 overcomes resistance to DHODH inhibition in pancreatic cancer. *Cancer Lett*, 2023, 552: 215981
- [46] Hosseini M, Dousset L, Michon P, et al. UVB-induced DHODH upregulation, which is driven by STAT3, is a promising target for chemoprevention and combination therapy of photocarcinogenesis. *Oncogenesis*, 2019, 8: 52
- [47] Chen Y, Huang Q, Zhou H, et al. Inhibition of canonical WNT/ β -catenin signaling is involved in leflunomide (LEF)-mediated cytotoxic effects on renal carcinoma cells. *Oncotarget*, 2016, 7: 50401-16
- [48] Yin S, Kabashima T, Zhu Q, et al. Fluorescence assay of dihydroorotate dehydrogenase that may become a cancer biomarker. *Sci Rep*, 2017, 7: 40670
- [49] Spina R, Mills I, Ahmad F, et al. DHODH inhibition impedes glioma stem cell proliferation, induces DNA damage, and prolongs survival in orthotopic glioblastoma xenografts. *Oncogene*, 2022, 41: 5361-72
- [50] Vyas VK, Qureshi G, Ghate M, et al. Identification of novel PfDHODH inhibitors as antimalarial agents via pharmacophore-based virtual screening followed by molecular docking and *in vivo* antimalarial activity. *SAR QSAR Environ Res*, 2016, 27: 427-40
- [51] Huang S, Wang Y, Xie S, et al. Hepatic TGF β 1 deficiency attenuates lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver failure through inhibiting GSK3 β -Nrf2-mediated hepatocyte apoptosis and ferroptosis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2022, 13: 1649-72
- [52] Tang H, Liu Y, Ren R, et al. Identification of clinical candidates against West Nile virus by activity screening *in vitro* and effect evaluation *in vivo*. *J Med Virol*, 2022, 94: 4918-25
- [53] Luban J, Sattler RA, Muhlberger E, et al. The DHODH inhibitor PTC299 arrests SARS-CoV-2 replication and suppresses induction of inflammatory cytokines. *Virus Res*, 2021, 292: 198246
- [54] Calistri A, Lukanini A, Mognetti B, et al. The new generation hDHODH inhibitor MEDS433 hinders the *in vitro* replication of SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. *Microorganisms*, 2021, 9: 1731
- [55] Maghzi AH, Houtchens MK, Preziosa P, et al. COVID-19 in teriflunomide-treated patients with multiple sclerosis. *J Neurol*, 2020, 267: 2790-6
- [56] Dai Q, Xu L, Yu X. Efficacy and safety of leflunomide in psoriatic arthritis treatment: a single-arm meta-analysis. *Int J Rheum Dis*, 2019, 22: 1498-505
- [57] Knecht W, Löffler M. Species-related inhibition of human and rat dihydroorotate dehydrogenase by immunosuppressive isoxazol and cinchoninic acid derivatives. *Biochem Pharmacol*, 1998, 56: 1259-64
- [58] Ladds M, van Leeuwen IMM, Drummond CJ, et al. A DHODH inhibitor increases p53 synthesis and enhances tumor cell killing by p53 degradation blockage. *Nat Commun*, 2018, 9: 1107
- [59] Mathur D, Stratikopoulos E, Ozturk S, et al. PTEN regulates glutamine flux to pyrimidine synthesis and sensitivity to dihydroorotate dehydrogenase inhibition. *Cancer Discov*, 2017, 7: 380-90
- [60] Zhu S, Yan X, Xiang Z, et al. Leflunomide reduces proliferation and induces apoptosis in neuroblastoma cells *in vitro* and *in vivo*. *PLoS One*, 2013, 8: e71555
- [61] Chu M, Zhang C. Inhibition of angiogenesis by leflunomide via targeting the soluble ephrin-A1/EphA2 system in bladder cancer. *Sci Rep*, 2018, 8: 1539
- [62] Lolli ML, Sainas S, Pippione AC, et al. Use of human dihydroorotate dehydrogenase (hDHODH) inhibitors in autoimmune diseases and new perspectives in cancer therapy. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 2018, 13: 86-105
- [63] Aithal GP. Hepatotoxicity related to antirheumatic drugs. *Nat Rev Rheumatol*, 2011, 7: 139-50
- [64] Tarantino G, Di Minno MN, Capone D. Drug-induced liver injury: is it somehow foreseeable? *World J Gastroenterol*, 2009, 15: 2817-33
- [65] Legras A, Bergemer-Fouquet AM, Jonville-Bera AP. Fatal hepatitis with leflunomide and itraconazole. *Am J Med*, 2002, 113: 352-3
- [66] Bar-Or A, Pachner A, Menguy-Vacheron F, et al. Teriflunomide and its mechanism of action in multiple sclerosis. *Drugs*, 2014, 74: 659-74
- [67] Fox RI, Herrmann ML, Frangou CG, et al. Mechanism of action for leflunomide in rheumatoid arthritis. *Clin Immunol*, 1999, 93: 198-208
- [68] Huang O, Zhang W, Zhi Q, et al. Teriflunomide, an immunomodulatory drug, exerts anticancer activity in triple negative breast cancer cells. *Exp Biol Med*, 2015, 240: 426-37
- [69] Cao L, Weetall M, Trotta C, et al. Targeting of hematologic malignancies with PTC299, a novel potent inhibitor of dihydroorotate dehydrogenase with favorable pharmaceutical properties. *Mol Cancer Ther*, 2019, 18: 3-16
- [70] Cao L, Branstrom A, Baird J, et al. PTC299 is a novel DHODH inhibitor that modulates VEGFA mRNA translation and inhibits proliferation of a broad range of leukemia cells. *Blood*, 2017, 130: 1371
- [71] Packer RJ, Rood BR, Turner DC, et al. Phase I and pharmacokinetic trial of PTC299 in pediatric patients with refractory or recurrent central nervous system tumors: a PBTC study. *J Neurooncol*, 2015, 121: 217-24
- [72] Dexter DL, Hesson DP, Ardecky RJ, et al. Activity of a novel 4-quinolinecarboxylic acid, NSC 368390 [6-fluoro-2-(2'-fluoro-1,1'-biphenyl-4-yl)-3-methyl-4-quinolinecarboxylic acid sodium salt], against experimental tumors. *Cancer Res*, 1985, 45: 5563-8
- [73] Chen SF, Ruben RL, Dexter DL. Mechanism of action of the novel anticancer agent 6-fluoro-2-(2'-fluoro-1,1'-biphenyl-4-yl)-3-methyl-4-quinolinecarboxylic acid sodium salt (NSC 368390): inhibition of *de novo* pyrimidine nucleotide biosynthesis. *Cancer Res*, 1986, 46: 5014-9
- [74] Peters GJ, Sharma SL, Laurensse E, et al. Inhibition of pyrimidine *de novo* synthesis by DUP-785 (NSC 368390).

- Invest New Drugs, 1987, 5: 235-44
- [75] Peters GJ, Laurensse E, Leyva A, et al. A sensitive, nonradiometric assay for dihydroorotic acid dehydrogenase using anion-exchange high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem*, 1987, 161: 32-8
- [76] Sainas S, Giorgis M, Circosta P, et al. Targeting acute myelogenous leukemia using potent human dihydroorotate dehydrogenase inhibitors based on the 2-hydroxypyrazolo [1,5-a]pyridine scaffold: SAR of the aryloxyaryl moiety. *J Med Chem*, 2022, 65: 12701-24
- [77] Urba S, Doroshow J, Cripps C, et al. Multicenter phase II trial of brequinar sodium in patients with advanced squamous-cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1992, 31: 167-9
- [78] Maroun J, Ruckdeschel J, Natale R, et al. Multicenter phase II study of brequinar sodium in patients with advanced lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1993, 32: 64-6
- [79] Moore M, Maroun J, Robert F, et al. Multicenter phase II study of brequinar sodium in patients with advanced gastrointestinal cancer. *Invest New Drugs*, 1993, 11: 61-5
- [80] Schwartzmann G, Dodion P, Vermorken JB, et al. Phase I study of brequinar sodium (NSC 368390) in patients with solid malignancies. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1990, 25: 345-51
- [81] Natale R, Wheeler R, Moore M, et al. Multicenter phase II trial of brequinar sodium in patients with advanced melanoma. *Ann Oncol*, 1992, 3: 659-60
- [82] Munier-Lehmann H, Vidalain PO, Tangy F, et al. On dihydroorotate dehydrogenases and their inhibitors and uses. *J Med Chem*, 2013, 56: 3148-67
- [83] Pally C, Smith D, Jaffee B, et al. Side effects of brequinar and brequinar analogues, in combination with cyclosporine, in the rat. *Toxicology*, 1998, 127: 207-22
- [84] Zhou J, Yiyiing Quah J, Ng Y, et al. ASLAN003, a potent dihydroorotate dehydrogenase inhibitor for differentiation of acute myeloid leukemia. *Haematologica*, 2020, 105: 2286-97
- [85] Christian S, Merz C, Evans L, et al. The novel dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitor BAY 2402234 triggers differentiation and is effective in the treatment of myeloid malignancies. *Leukemia*, 2019, 33: 2403-15
- [86] Kim DK, Seo EJ, Choi EJ, et al. Crucial role of HMGA1 in the self-renewal and drug resistance of ovarian cancer stem cells. *Exp Mol Med*, 2016, 48: e255
- [87] Merz C, Christian S, Eheim A, et al. BAY 2402234: preclinical evaluation of a novel, selective dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitor for the treatment of colorectal carcinomas. *Cancer Res*, 2019, 79: 3599
- [88] Shi DD, Savani MR, Levitt MM, et al. *De novo* pyrimidine synthesis is a targetable vulnerability in IDH mutant glioma. *Cancer Cell*, 2022, 40: 939-56.e16
- [89] McDonald G, Chubukov V, Coco J, et al. Selective vulnerability to pyrimidine starvation in hematologic malignancies revealed by AG-636, a novel clinical-stage inhibitor of dihydroorotate dehydrogenase. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19: 2502-15
- [90] Zeng Z, Baran N, Konoplev S, et al. Targeting DHODH with AG-636 induces apoptosis and differentiation and inhibits mitochondrial function in AML, translating into anti-tumor efficacy *in vitro* and *in vivo*. *Blood*, 2019, 134: 3911
- [91] Pietsch C, Kuduk S, Zhang X, et al. JNJ-74856665, a novel DHODH inhibitor, mediates potent anti-leukemic activity and differentiation *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res*, 2021, 81: 1256