

## 基于靶标IDO1、TDO的抑制剂研究进展

董俊敏, 刘站柱\*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050)

**摘要:** 吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 (IDO1) 和色氨酸 2,3-双加氧酶 (TDO) 催化色氨酸代谢的第一步也是限速步骤, 与肿瘤免疫耐受和患者的不良预后相关, 已经成为肿瘤免疫治疗的重要靶标。到目前为止, 有 9 个 IDO1 抑制剂、3 个 IDO1/TDO 双靶点抑制剂进入临床试验。本篇综述从药物化学角度总结了 IDO1 抑制剂、TDO 抑制剂、IDO1/TDO 双重抑制剂的研究进展。

**关键词:** 吲哚胺 2,3-双加氧酶 1; 色氨酸 2,3-双加氧酶; 免疫治疗; 抑制剂; 构效关系

**中图分类号:** R916      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0513-4870(2021)05-1265-14

## Advances in research on inhibitors based on targets: IDO1 and TDO

DONG Jun-min, LIU Zhan-zhu\*

(State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Nature Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) and tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) catalyze the initial and rate limiting step in the catabolism of tryptophan, which is related to tumor immune tolerance and poor prognosis in patients. In this regard, two enzymes have become important therapeutic targets for tumor immunotherapy. So far, nine IDO1 inhibitors and three IDO1/TDO dual inhibitors have entered clinical trials. This review summarizes the research progress of IDO1 inhibitors, TDO inhibitors and IDO1/TDO dual inhibitors from the perspective of medicinal chemistry.

**Key words:** indoleamine-2,3-dioxygenase 1; tryptophan-2,3-dioxygenase; immunotherapy; inhibitor; structure-activity relationship

色氨酸是蛋白质合成所必需的氨基酸, 对维持细胞的功能至关重要。体内超过 95% 的色氨酸沿犬尿氨酸途径分解代谢为犬尿氨酸、犬尿酸、喹啉酸和辅酶 NAD<sup>+</sup> 等<sup>[1,2]</sup>。该途径的第一步也是限速步骤, 由吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 (IDO1)、吲哚胺 2,3-双加氧酶 2 (IDO2) 和色氨酸 2,3-双加氧酶 (TDO) 催化<sup>[3]</sup>。三者都是包含血红素的酶, 具有不同的结构、组织分布和生物学功能<sup>[4-6]</sup>。IDO1 是单体酶, 广泛分布在哺乳动物的

组织、器官和细胞中; 可被炎性刺激 (如干扰素- $\gamma$ ) 诱导; 催化 *L*-色氨酸、*D*-色氨酸和各种吲哚胺类衍生物的转化; 与色氨酸的非饮食分解代谢和免疫防御相关。IDO2 与 IDO1 有 43% 的序列同源性, 主要分布在肾小管、肝脏和精子中, 色氨酸降解活性低, 作用机制仍不太明确。而 TDO 是一个四聚体结构, 主要分布在哺乳动物的肝脏中, 受刺激后, 也可以在胎盘、睾丸和大脑等其他组织中检测到; TDO 具有高度的选择性, 优先与 *L*-色氨酸结合; 可被色氨酸、糖皮质激素和犬尿氨酸诱导; 负责调节全身的色氨酸水平, 并在癌症免疫学中起到类似的作用。

色氨酸的耗竭和犬尿氨酸等代谢物的产生导致肿瘤微环境产生免疫抑制作用, 促进癌细胞的免疫逃

收稿日期: 2020-11-03; 修回日期: 2020-11-19.

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2016-I2M-3-009); “十三五”新药创制重大专项 (2018ZX09711-001-005-014, 001-005)

\*通讯作者 Tel: 86-10-63165253, E-mail: liuzhanzhu@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1691

逸<sup>[7]</sup>。研究表明 IDO1 和 TDO 在多种癌症细胞如乳腺癌、宫颈癌、脑癌等上调表达,与肿瘤的侵袭性和患者的不良预后相关<sup>[8,9]</sup>,其抑制剂已成为癌症免疫治疗的新策略。本文回顾了 IDO1 和 TDO 介导的肿瘤免疫逃逸的机制和各自独特的结构,从药物化学角度总结 IDO1 抑制剂、TDO 抑制剂和 IDO1/TDO 双重抑制剂的研究进展。

### 1 IDO1 和 TDO 介导的肿瘤免疫逃逸的机制

IDO1 和 TDO 催化色氨酸分解代谢,可以维持机体正常的免疫反应幅度和持续时间,防止健康细胞产生不受抑制的免疫激活<sup>[10]</sup>。但在恶性肿瘤中 IDO1 和 TDO 的表达上调,导致色氨酸耗竭和下游产物的积累,创造了一个免疫抑制微环境,使肿瘤细胞逃避有效的免疫应答。主要包括以下 3 条路径(图 1): ① 色氨酸的耗竭活化 GCN-2 激酶,导致其下游靶标 eIF-2 磷酸化和衰减,导致效应 T 细胞 (Teff) 在 G1 周期增殖停滞<sup>[7]</sup>。② 色氨酸的耗竭抑制 mTOR 所介导的分子应激反应,诱发 Teff 细胞自噬。③ 色氨酸的分解代谢物犬尿氨酸与内源性芳烃受体 (AhR) 的结合,导致 Treg 细胞选择性分化增殖;同时阻止辅助性 T 细胞 17 (Th17) 的成熟,进而抑制 DC 细胞的浸润和细胞毒性 T 细胞的免疫反应<sup>[7,11,12]</sup>。值得注意的是,IDO1 涉及到这三种效应途径,而 TDO 的免疫作用主要归功于活化 GCN-2 通路和与 AhR 的结合。除了色氨酸和犬尿氨酸诱导的免疫应答外,喹啉酸、3-羟基犬尿氨酸等代谢物的产生还会影响巨噬细胞的转化,抑制 NK 细胞的增殖和功能,这些路径共同介导局部和/或全身性的免疫抑制作用,促进肿瘤细胞的存活和转移<sup>[13]</sup>。

### 2 IDO1 和 TDO 的结构

IDO1 是包含血红素铁的单体氧化酶,分子质量约

为 45 kDa,可以分成两个结构域(图 2A),大的结构域(口袋 A)是由 13 个  $\alpha$ -螺旋 (G-S) 和 2 个  $3_{10}$ 螺旋组成;4 个长螺旋 (G、I、Q、S) 与其他 3 个短螺旋 (K、L、N) 共同构成血红素结合口袋;小的结构域(口袋 B)由 6 个  $\alpha$ -螺旋 (A-F)、两个短  $\beta$ -折叠和 3 个  $3_{10}$ 螺旋构成<sup>[14]</sup>。

TDO 是由分子质量在 35~45 kDa 的单体组成的同型四聚体酶,从细菌到人类结构都非常保守<sup>[15-17]</sup>。hTDO 单体由 15 个  $\alpha$ 螺旋组成,可以被分成 3 个主要的区域(图 2B)—N 端区域 ( $\alpha 1 \sim \alpha 3$ )、大结构域 ( $\alpha 4 \sim \alpha 9$ 、 $\alpha 13$ 、 $\alpha 14$ ) 和小结构域 ( $\alpha 10 \sim \alpha 12$ 、 $\alpha 15$ )。4 个单体 (A~D, 图 2C) 通过 3 个相互垂直的双向轴关联,相连两个单体的相互作用力更强,其中两个 C 形二聚体 (AB 和 CD) 彼此垂直地被夹紧而形成紧密的四聚体<sup>[18]</sup>。

hTDO 和 hIDO 总体氨基酸序列同源性虽然只有 10%,但它们的大结构域显示相似的折叠,可以共享相对保守的活性位点区域,小结构域的整体结构和空间方向有所不同<sup>[14,18]</sup>。总之,这些结构可以帮助人们更深入地了解酶与底物结合、催化的分子机制,也为设计新型的 IDO1 和 TDO 抑制剂提供了帮助。

### 3 临床进展

#### 3.1 进入临床研究的 IDO1 抑制剂

对 IDO1 选择性抑制剂的研究已引起医药界的广泛关注,相关专利文献已经报道了数千种化合物,但还没有抑制剂上市。表 1 为处于临床研究阶段的 9 个小分子化合物,其中已知的结构式如图 3,这些化合物除了作为单体使用,还可以和化学疗法、免疫检查点疗法、放射疗法等联合使用,相关文献<sup>[19]</sup>对联合用药的临床进展进行了详细的综述。

#### 3.2 进入临床研究的 IDO1/TDO 双重抑制剂

TDO 和 IDO1 在某些肿瘤的表达是重叠的,因此

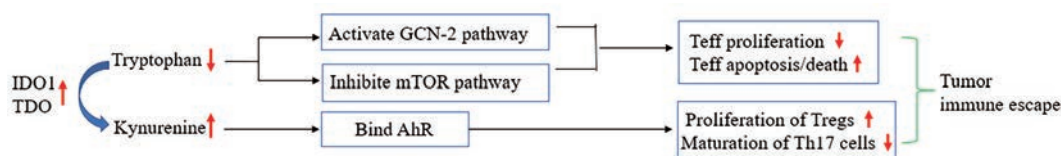


Figure 1 Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1), tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) signaling effect or pathways

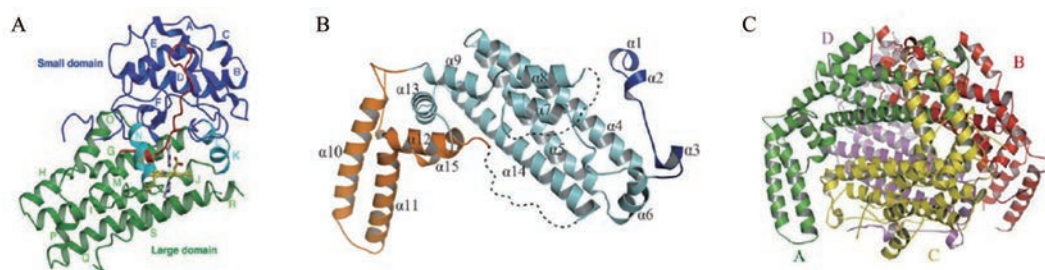
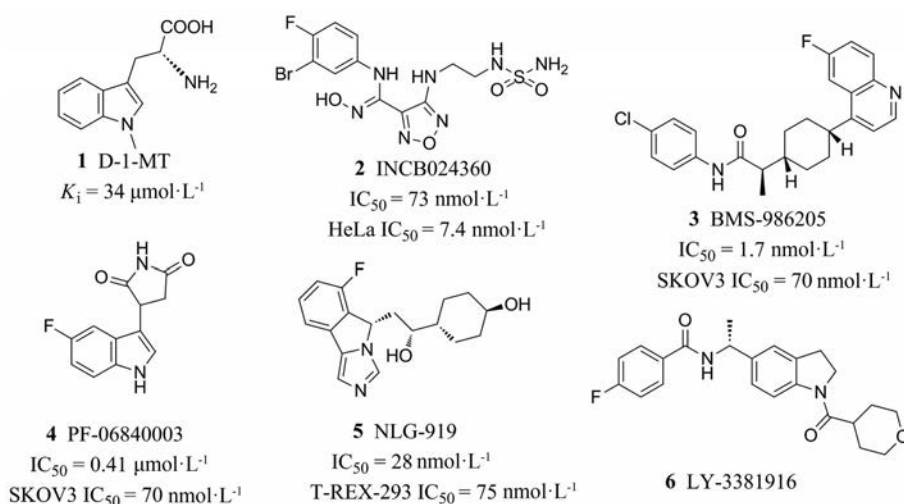


Figure 2 The crystal structure of IDO1 and hTDO. A: IDO1-4PI complex (PDB code: 2D0T); B: hTDO (PDB code: 5TIA) monomer; C: hTDO (PDB code: 5TIA) tetramer

**Table 1** IDO1 inhibitors in clinical trial

Phase	Compound	Identifier	Disease (s)	Organization
Phase III	Indoximod (D-1-MT)	NCT00739609	Melanoma	NewLink Genetics
	INCB024360 (Epacadostat)	NCT03374488/ NCT03361865	Urogenital cancer, non-small cell lung cancer, renal cell carcinoma, head and neck cancer, melanoma	Incyte
	BMS-986205 (Linrodostat)	NCT03661320	Bladder cancer, head and neck cancer	Bristol-Myers Squibb Co.
Phase I	PF-06840003 (EOS-200271)	NCT02764151	Grade IV glioblastoma or grade III anaplastic glioma	Pfizer, iTeos
	GDC-0919 (NLG-919)	NCT02048709	Solid tumor	NewLink Genetics
	LY-3381916	NCT03343613	Solid tumor	Lilly
	KHK-2455 (structure undisclosed)	NCT04321694	Urogenital cancer	Kyowa Hakko Kirin
	NLG-802 (structure undisclosed)	NCT03164603	Solid tumor	NewLink Genetics
	RiMO-301 (structure undisclosed)	NCT03444714	Solid tumor	UChicago, RiMO Therapeutics

**Figure 3** The structures of IDO1 inhibitors in clinical trials

探索 TDO 抑制剂、IDO1/TDO 双重抑制剂具有合理性。目前尚未有选择性 TDO 抑制剂进入临床研究, 有 3 个 IDO1/TDO 双重抑制剂已进入临床研究阶段 (表 2), 均由中国制药公司研发, 但具体的结构并未公开。

## 4 新型抑制剂研究进展

### 4.1 IDO1 抑制剂

2003 年, Van den Eynde 首次证明 IDO1 与癌症相关<sup>[20]</sup>, 在学术界和制药公司兴起一股热潮来寻找新颖的抑制剂骨架。已有研究者对 IDO1 抑制剂进行了详细的综述<sup>[21-23]</sup>, 下文将根据化合物的结构类型对最新研究结果进行综述。

**4.1.1 咪唑结构** NewLink 基因公司从 4-苯基咪唑 (7, 图 4,  $\text{IC}_{50} = 48 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 出发得到的化合物 NLG-919 (5,  $\text{IC}_{50} = 28 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )<sup>[24]</sup>, 目前已经进入到临床 I 期

研究阶段, 用于实体瘤的治疗。咪唑并 [5,1-a] 异吲哚母核增加了分子的刚性, 改善了生化和细胞效能。分子对接显示 NLG-919 母核的 2-位氮原子直接与血红素的铁原子配位, 三环骨架通过范德华力与口袋 A 上的残基 Val130、Phe163、Phe164 和 Leu234 紧密连接, 11-位羟基可以与丙酸血红素形成氢键, 环己醇部分则伸向口袋 B, 末端羟基参与形成氢键网络, 这些相互作用有助于生物活性的提高。对 NLG-919 衍生物 8 ( $\text{IC}_{50} = 38 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 的研究进一步阐明了广泛的疏水相互作用和独特的氢键网络有利于提高咪唑异吲哚衍生物的抑制活性<sup>[25]</sup>。2019 年, Tu 等<sup>[26]</sup>报道了对 NLG-919 侧链的改造: 用不同环状基团取代侧链, 活性均下降或失活, 只有苯基哌啶基取代维持相似的活性。合成并评估了一系列取代的哌啶基, 手性分离得到对映

**Table 2** IDO1/TDO dual inhibitors in clinical trials

Phase	Compound	Identifier	Disease (s)	Organization
Phase I	LPM-3480226 (structure undisclosed)	NCT03844438/CTR20182328	Solid tumor	Luye Pharma Group
Phase I	DN-1406131 (structure undisclosed)	NCT03641794/CTR20181583	Solid tumor	Shanghai De Novo Pharmatech Jiangxi Qingfeng Pharmaceutical
Phase I	SHR-9146 (structure undisclosed)	NCT03208959/CTR20180342	Solid tumor	Hengrui Medicine

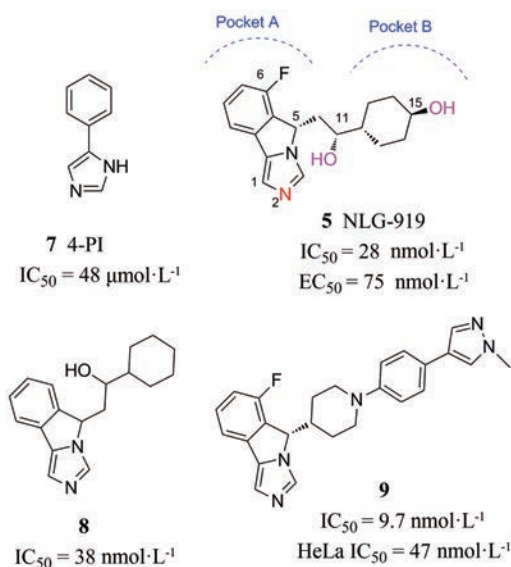


Figure 4 IDO inhibitors with imidazole scaffold

体 **9** (IC<sub>50</sub> = 9.7 nmol·L<sup>-1</sup>) 活性最好。 **9** 没有羟基不能形成氢键, 但侧链可以更深入地插入口袋 B 中, 甲基吡唑环与残基 Arg231 之间存在的阳离子- $\pi$  相互作用使其成为更有效的抑制剂。 综上, 苯基咪唑骨架是研究 IDO1 抑制剂的良好起点, 咪唑并[5,1-a]异吡啶作为一类新的药效团结构, 仍具有广阔的研究空间。

2020 年, Serafini 等<sup>[27]</sup> 基于 IDO1 结构的虚拟筛选, 发现了苯并咪唑类化合物 **10** (图 5, IC<sub>50</sub> = 16 nmol·L<sup>-1</sup>), 对 **10** 进行系列的结构修饰, 构效关系总结如下: 苯并咪唑 1-位 N 与血红素铁离子直接作用, 被移除活性消失; 5-位被 Br 原子取代, 增加与口袋 A 的亲合力, 保持活性; 仲酰胺的 NH 参与 IDO1 活性位点内关键氢键的形成, 被取代活性下降; 右侧为吡咯环时活性最好, 吡咯环上的 NH 可以和血红素形成氢键, 溴原子可以与残基形成卤素键, 被取代或移除活性均下降。 所选化合物 (**10**~**13**) 在几种肿瘤细胞中显示纳摩尔水平的抑制作用, 没有明显的细胞毒性。 化合物 **12** 的体外代

谢稳定性要优于 **11**、**13**, 在体外相同时间内, 分别残留 65%、32%、59% 的底物; 静脉注射 **12** 后, 小鼠血浆中犬尿氨酸水平在 2 min 内迅速下降, 并在 30 min 内保持在基础水平以下, 证明 **12** 在体内也是有效的。 但体内半衰期 ( $t_{1/2}$  = 0.65 h) 很短, 需要优化药代动力学参数。 总之 **12** 与已知的 IDO1 抑制剂相比, 在化学结构、活性位点的构成、合成的可行性上展现了独特的优势。

基于 IDO1/Amg-1 的晶体结构, Tojo 等<sup>[28]</sup> 对 Amg-1 (**14**, 图 6) 进行结构优化得到咪唑并噻吩类化合物, 其中化合物 **15** (IC<sub>50</sub> = 77 nmol·L<sup>-1</sup>) 活性最高。 2018 年 Griglio 等<sup>[29]</sup> 和 2019 年 Serafini 等<sup>[30]</sup> 保持 **15** 的咪唑并噻吩骨架和对溴苯基部分不变, 对侧链进行了修饰和生物学评估。 咪唑氮与血红素铁配位, 对溴苯基插入口袋 A 中, 与周围残基发生疏水相互作用, 侧链则插入口袋 B 中。 化合物 **16**~**19** IDO1 酶学抑制活性最高, IC<sub>50</sub> 在 0.2~0.8 μmol·L<sup>-1</sup> 之间, 但仍较 **15** 要弱。 遗憾的是, 这一类化合物对细胞膜的渗透性低, 在体外 A375 细胞实验中没有显示 IDO1 的抑制性。

**4.1.2 N-羟基脒结构** Incyte 公司的临床候选化合物 epacadostat (**2**, IC<sub>50</sub> = 73 nmol·L<sup>-1</sup>)<sup>[31]</sup>, 目前正在进行 III 期临床试验, 用于多种癌症的治疗。 但数据显示 epacadostat 在体内被代谢酶 UGT1A9 转化为 O-葡萄糖醛酸共轭化合物 **20** (图 7), 半衰期只有 2.5 h, 疏水性比较差 (clogP = 0.09), 口服生物利用度不尽满意 (大鼠和灵猴口服生物利用度分别是 11%、33%)。 因此, 有必要对 epacadostat 进行结构修饰, 发现药效和药动学性质更佳的化合物。

Meng 课题组<sup>[32]</sup> 在 4 位侧链引入一个环状结构以增加分子的空间位阻, 使其完全占据口袋 B, 通过调节环状同源物的电子和空间效应来研究构效关系。 但改造的效果不是很理想, 只有少部分化合物保持纳摩尔活性。 化合物 **21**、**22**<sup>[32]</sup> 通过环化末端氨基磺酰胺部分得到, 化合物 **23**、**24**<sup>[33]</sup> 是在磺酰胺基团和噁二唑环之间

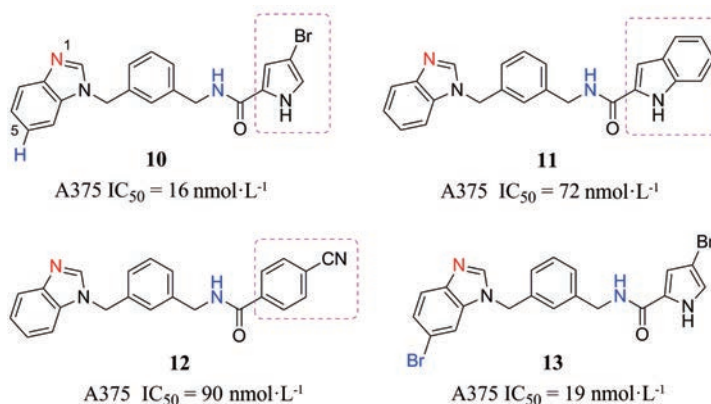


Figure 5 IDO inhibitors with benzimidazole scaffold

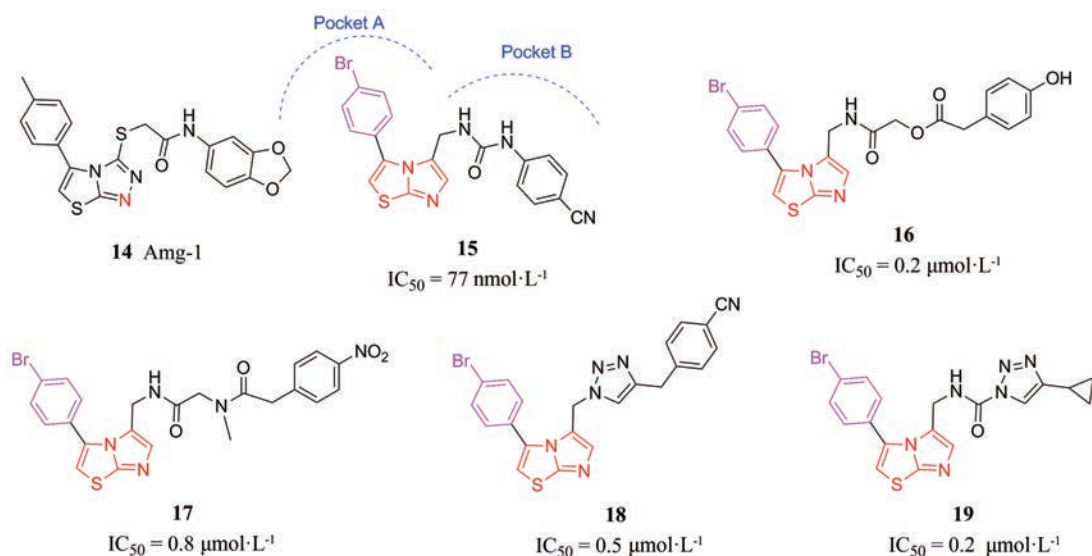
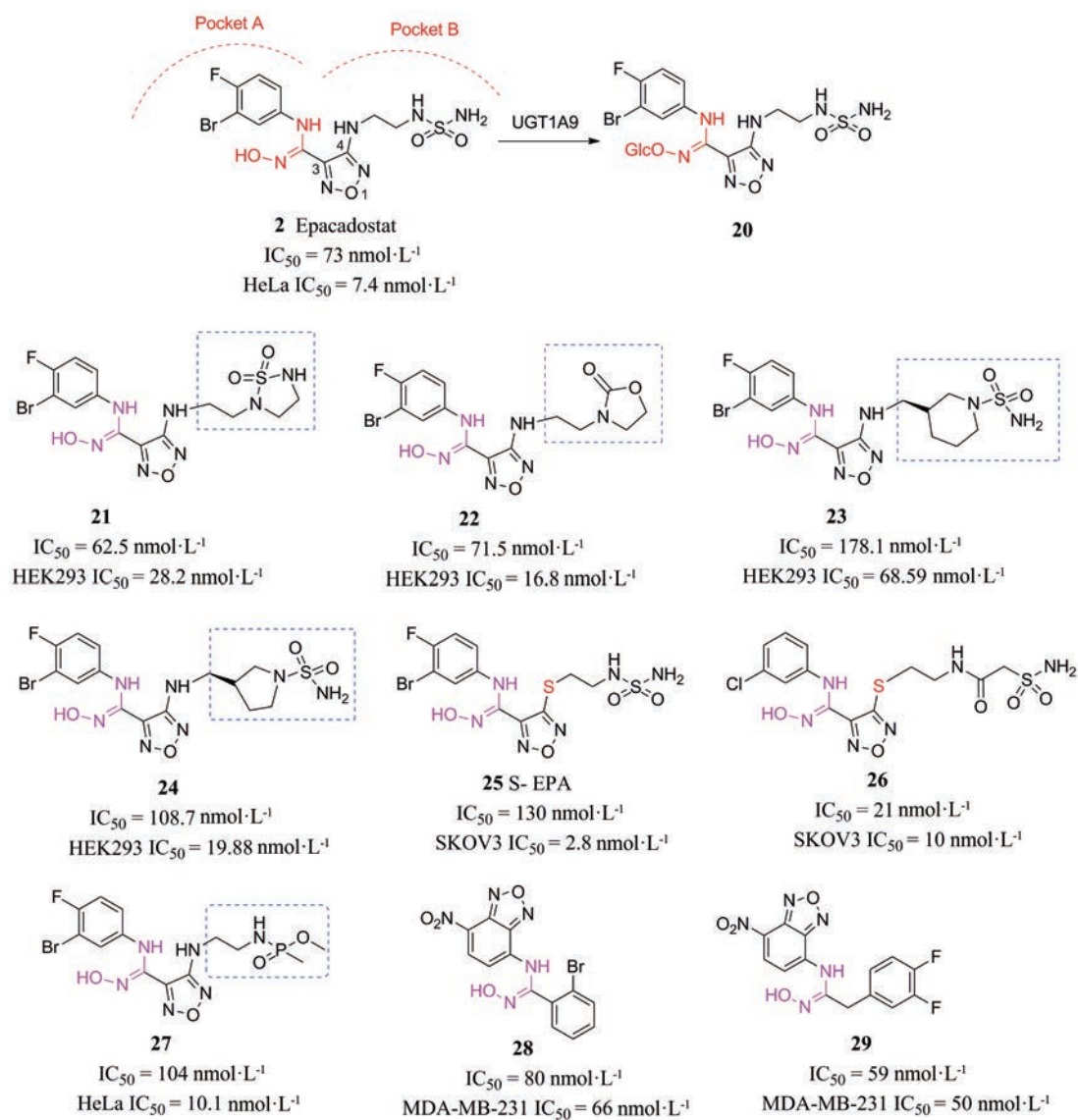


Figure 6 IDO inhibitors with imidazothiazole scaffold

Figure 7 IDO1 inhibitors with *N*-hydroxyamididine scaffold

引入环状结构,它们在 HEK293 细胞实验中保持与 epacadostat 相似的活性,  $IC_{50}$  在 16.8~68.59  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  之间。值得注意的是,化合物 **23** 与 epacadostat 相比,药动学性能显著提高,半衰期延长至 3.82 h,大鼠口服生物利用度达 33.6%。同时在 CT-26 同系异种移植模型中,口服化合物 **23** 与 epacadostat 具有相似的治疗效果,适合作为先导化合物进一步开发。

2020 年, Steeneck 等<sup>[34]</sup>将 epacadostat 侧链的 NH 用 S 原子取代,得到 *S*-EPA (**25**,  $IC_{50} = 130 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 细胞活性较 epacadostat 提高了 3 倍。对 *S*-EPA 进行结构改造,发现口袋 A 处苯环上取代基的极性变化对活性有显著的影响;侧链末端具有磺酰胺基可以提高效能和代谢稳定性。优选的化合物 **26** ( $IC_{50} = 21 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 在人源化肝小鼠模型中,葡萄糖醛酸化代谢作用明显降低。Du 等<sup>[35]</sup>用磺酰胺基团代替 epacadostat 的磺酰胺基团得到一系列含磷酸氨基酯的化合物,其中化合物 **27** ( $IC_{50} = 104 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , HeLa  $IC_{50} = 10.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 展示了良好的 IDO1 抑制活性,与 epacadostat 对 Lewis 细胞的肺转移实验有同等的抑制活性 (77% 的抑制率),但半衰期短、口服生物利用度也未提高。

其他 *N*-羟基脒类化合物还有 **28**、**29**,用苯并噁二唑环代替苯环,生物活性保持在纳摩尔水平,  $IC_{50}$  分别为 80、59  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[36]</sup>。总之, *N*-羟基脒是这类化合物强抑制活性的关键药效团。在对 epacadostat 的结构修饰方面,重点是在保持细胞活性的同时降低体内葡萄糖醛酸化代谢速率来改善药代动力学性质。

**4.1.3 联苯羧酸类** 近年来, Jure-Kunkel 课题组通过高通量筛选得到联苯羧酸类化合物 **30** (图 8,  $IC_{50} = 0.087 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )<sup>[37]</sup>,通过四唑基团等位取代羧基、取代基的优化等,得到化合物 **31** (HeLa  $IC_{50} = 4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 活性最佳<sup>[38]</sup>。分子 **32** (HeLa  $IC_{50} = 13 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 与 hIDO1 晶体结构对接显示:羧基的氧原子与血红素铁形成六配位,苯环占据了口袋 A,二异丁基氨基和对甲苯脒部分延伸到口袋 B 中,尿素的两个 NH 都与血红素的丙氨酸基团形成氢键。基于此,2020 年, Cai 等<sup>[39]</sup>用萘环或苯并五元杂环取代化合物 **32** 的苯环并保留羧基,评估体内外 IDO1 的抑制活性。这类化合物构效关系显示:羧基和脒基是保持活性所必需的基团;左侧芳环自身的电子云密度对活性影响较大,其上有卤素基团可以更好地提高亲脂性。萘环系列活性最好的化合物是 **33** (HeLa  $IC_{50} = 2.6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),苯并五元杂环系列活性最好的是 **34** (HeLa  $IC_{50} = 12.8 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。化合物 **33** 在 MTT 实验中并未显示细胞毒性,在小鼠体内抗肿瘤研究中,作为单体使用效果与 epacadostat 相当 (抑制率为 53.9%),与 5-氟尿嘧啶合用时,抑制率高达 92.8%,值

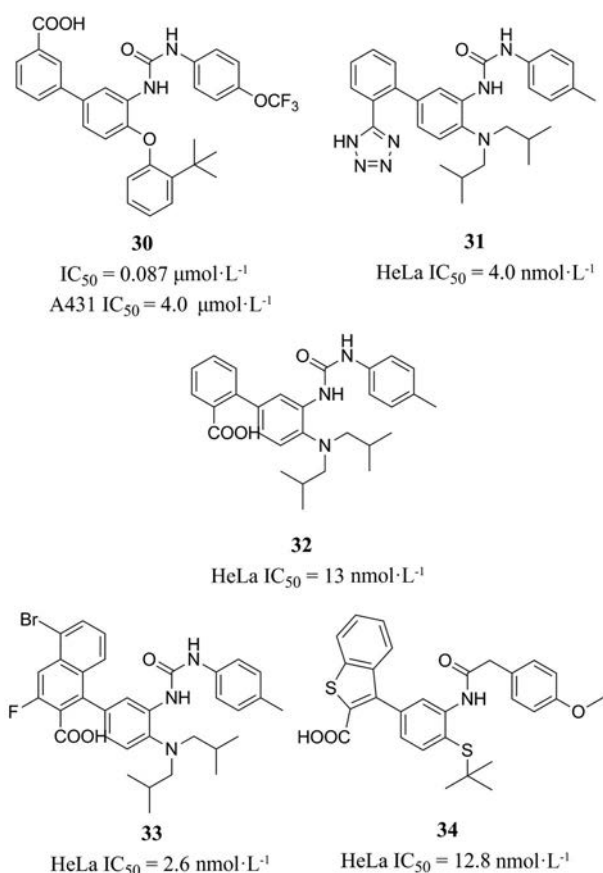


Figure 8 IDO1 inhibitors with biphenyl carboxylic acid scaffold

得进一步的研究。

**4.1.4 醌类结构** 醌类化合物大多来源于天然产物及其衍生物。近年来,新的天然产物被报道。2015年, Blunt 等<sup>[40]</sup>发现异噻唑苯醌天然产物 aulosirazole (**35**, 图 9,  $IC_{50} = 0.08 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和 pronqodine A (**36**,  $IC_{50} = 0.13 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 都是有效的 IDO1 抑制剂。2019 年, Pan 等<sup>[41]</sup>从细极链格孢菌 (*Alternaria tenuissima*) DFFSCS013 中分离出 3 个新型蒽醌类化合物: anthrinone B、C (**37**、**38**) 和 **39**, 具有明显的 IDO1 酶抑制活性,  $IC_{50}$  分别是 4.2、0.5、1.7  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,但在 HEK293 细胞中, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的浓度也没有产生抑制活性。值得注意的是,天然醌结构是细胞内 NQO1 等还原性辅因子的有效底物,历经细胞内辅因子依赖的氧化还原循环,导致氧化应激反应,会限制醌类化合物在高浓度下使用<sup>[42]</sup>。

2018 年, Pan 等<sup>[43]</sup>设计合成了 60 个新型萘醌衍生物,对 A、B 环进行不同的改造,构效关系总结如下: 2 位被 4-吡啶基或 4-咪唑基取代活性最好,吡啶基或咪唑基上有任何的取代基活性下降;在 1,4-萘醌的 C-5 或 C-8 位引入 N 原子活性下降;B 环是噻唑环比咪唑环活性要好。选择两个活性最高的化合物 **40** ( $IC_{50} = 26 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )、**41** ( $IC_{50} = 18 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 进行深入研究。

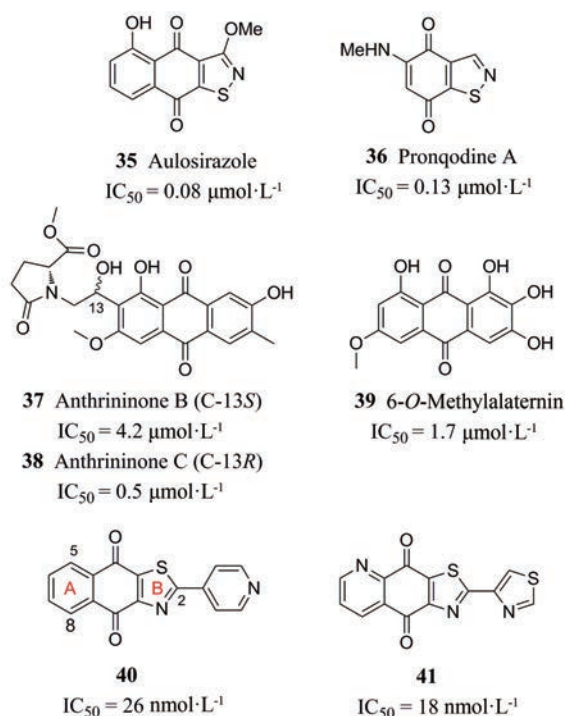


Figure 9 IDO1 inhibitors with quinone scaffold

40、41 可使大鼠血浆中犬尿氨酸水平分别下降 50.1% 和 30.5%，同时在其对 IDO1 的有效抑制浓度下均无细胞毒性 (在 MTT 毒性实验中,  $CC_{50} > 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 这两个化合物被选作先导化合物进行更进一步的研究。

**4.1.5 吲哚结构** 在过去的几十年中, 大多数色氨酸类似物被证明可以作为 IDO1 抑制剂。最经常使用的就是 1-甲基-色氨酸 (1-MT, 42, 图 10)<sup>[44]</sup>, 现在多作为化学工具研究 IDO1 的生物学作用。1-MT 和低氧细胞毒素替拉扎明 (TPZ) 的杂合分子 43 ( $K_i = 76.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 首先作为低氧细胞毒素起作用, 然后它们的代谢产物 TPZ-NO 杂合物作为 IDO1 抑制剂, 具有独特的作用模式<sup>[45]</sup>。含有 D-1-MT 的 Pt (IV) 复合物 44 和 45 作为免疫化疗剂, 可以促进 T 细胞增殖, 促进免疫调节作用<sup>[46]</sup>。2017 年, Crosignani 等<sup>[47]</sup> 开发出琥珀酰亚胺类化合物 PF-06840003 (4,  $IC_{50} = 0.41 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 用于治疗 IV 级胶质母细胞瘤或 III 级间变性胶质瘤, 正在进行 I 期临床试验, PF-06840003 与大多数 IDO1 抑制剂不同, 它不与血红素铁结合, 而是通过与 hIDO1 形成高密度氢键发挥作用。总体来说, 这一类化合物值得进一步研究癌症影像学、癌症免疫化学疗法等新应用。

**4.1.6 其他结构** BMS (百时美施贵宝) 公司开发的 BMS-986205 (3,  $IC_{50} = 1.7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )<sup>[48]</sup>, 与 PD-1 抑制剂 nivolumab 联合用药, 处于临床 III 期研究阶段。值得注意的是, BMS-986205 是与不含亚铁血红素的 IDO1 蛋白结合, 具有独特的结合模式。分子对接显示: 苯环占

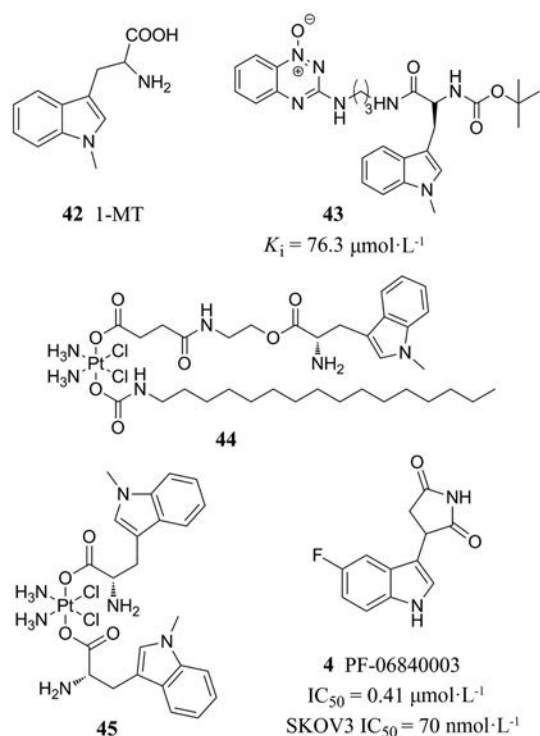


Figure 10 IDO1 inhibitors with indole scaffold

据口袋 A, 与 Tyr126 形成  $\pi-\pi$  相互作用; 酰胺上的 NH 与 Ser167 形成氢键; 环己烷作为连接基团将喹啉环导向一个新的疏水性口袋; 喹啉环与 Phe270 形成  $\pi-\pi$  相互作用; 喹啉上的氮原子与 Arg343 形成氢键<sup>[49]</sup>。这种结合模式, 为抑制剂的设计提供了新的思路。

此外, 非天然产物来源的化合物 (46~48, 图 11)<sup>[50-52]</sup>,  $IC_{50}$  分别是  $36 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.22 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $151 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 为 IDO1 抑制剂提供了多样性的结构, 在体内实验中能够抑制肿瘤的生长。2019 年, Xu 等<sup>[53]</sup> 采用虚拟筛选的策略, 结合相似性搜索和分子对接方法发现了氰基吡啶骨架化合物, 分子对接显示: 吡啶环中的腈基直接与铁血红素结合, 吡啶环位于口袋 A 中, 另一个芳环占据口袋 B 中, 其中化合物 49 ( $IC_{50} = 84 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 活性最好。

## 4.2 TDO 抑制剂

与 IDO1 相比, TDO 虽然在 1930s 年就被发现, 但直到 2011 年, 一项脑肿瘤研究才正式将 TDO 与癌症联系起来<sup>[54]</sup>, 使该酶成为有兴趣的药理学靶标。目前针对 TDO 的类似研究仍处于初始阶段, 只有少量的 TDO 抑制剂被报道。下文对有代表性的结构进行简要概述。

**4.2.1 吲哚结构** 自 TDO 发现以来, 少数基于吲哚骨架的化合物被发现具有 TDO 抑制活性<sup>[55-57]</sup>。1995 年, Salter 等<sup>[58]</sup> 开发了一系列 3-(2-(吡啶基) 乙烯基) 吲哚类化合物作为 TDO/5-羟色胺再摄取组合抑制剂用于治疗抑郁症, 其中 680C91 (50, 图 12,  $IC_{50} = 0.28 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),

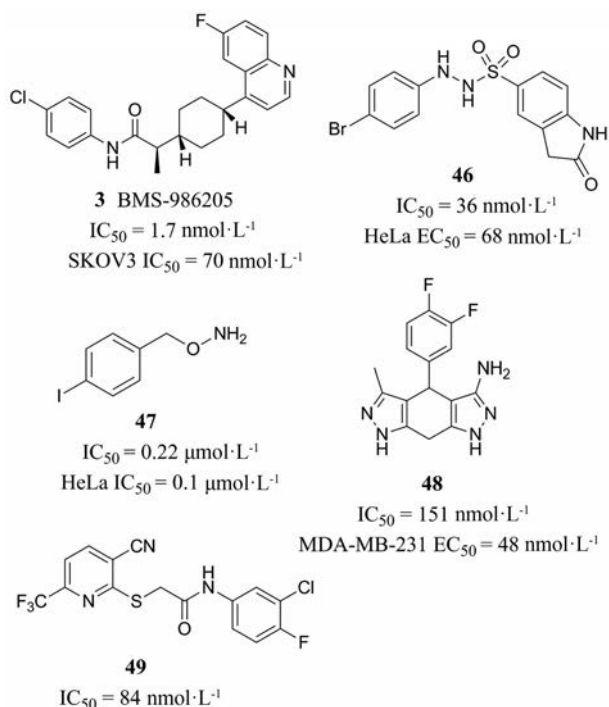


Figure 11 Other IDO1 inhibitors

它对肝脏提取的TDO具有出色的体外抑制活性 ( $K_i$  约为  $30 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。但溶解度低,生物利用度差,未进行更深入的研究。2011年, Dolusic等<sup>[59]</sup>将680C91与XcTDO(野油菜黄单胞菌TDO)进行分子对接,显示吡啶的NH基团与残基His55形成H键稳定吡啶环,3-吡啶基向活性位点的入口突出,并与残基Thr254的NH形成H键。基于此模型, Dolusic合成了70多个类似物,在细胞水平测定TDO的抑制活性。构效关系总结如下:吡啶骨架是保持活性所必需的结构,NH参与形成氢键,不可被取代;母核5位或6位被F取代或没有取代基时活性最佳;连接链为反式双键或炔键可以保留活性;3位侧链引入带负电荷的基团,可与残基通过氢键作用增加溶解度而不影响稳定性。尽管得到了相对完整的构效关系,但仍无法显著提高该系列化合物的TDO抑制活性。含四唑基团的LM10(**51**,  $IC_{50} = 0.62 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )和含羧基的化合物**52** ( $IC_{50} = 3 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),活性较**50**稍弱,但具有改善的理化参数,表现为低亲脂性( $\log D_{7.4}$ 分别为0.2和0.6)、高溶解度和高稳定性,特别是LM10,具有高的口服生物利用度。LM10因其高选择性、高活性成为最具潜力的候选药物,在临床前实验中还显示出有效的抗肿瘤活性<sup>[60]</sup>。

2016年 Abdel-Magid等<sup>[61]</sup>合成了一系列3-吡啶衍生物,以化合物**53** (A172  $IC_{50} = 27 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )和**54** (A172  $IC_{50} = 26 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )细胞水平活性最好。但重要特性如溶解度、生物利用度和抗肿瘤活性的结果未公开。

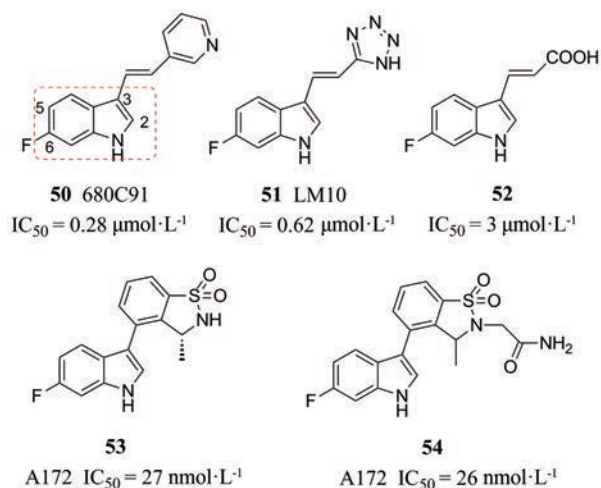


Figure 12 TDO inhibitors with indole scaffold

**4.2.2 萘三唑二酮结构** 2015年, Wu等<sup>[62]</sup>采用基于结构的虚拟筛选方法得到苗头化合物**55**(图13,  $IC_{50} = 711 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),包含萘三唑二酮的核心结构,具有潜在的TDO抑制活性。当去掉苯基或者对萘三唑二酮结构进行修饰,均使活性消失,证明核心结构和苯基与血红素和周围残基的相互作用是保持活性的重要原因,该类化合物构效关系研究集中在对苯环的修饰,在N-苯基的对位和间位引入刚性叔酰胺可显著提高对TDO的抑制作用。其中化合物**56** ( $IC_{50} = 30 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的抑制活性最高。分子对接发现,**55**和**56**的萘三唑二酮和苯基结构高度重叠,与血红素基团和周围残基具有相似的配位和疏水相互作用,但**56**的N-甲基哌嗪酰胺基团与残基Arg144形成额外的氢键增强了TDO的抑制活性。同时,**56**对TDO抑制活性比IDO1抑制活性 ( $IC_{50} = 640 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )高21倍,高选择性的原因是**56**无法与IDO中的残基Arg231(TDO中的相应残基

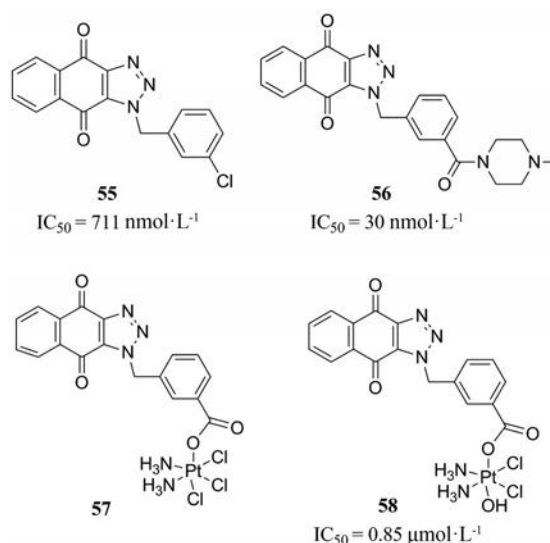


Figure 13 TDO inhibitors with naphthotriazolidione scaffold

Arg144) 相互作用。根据上述结果, 设计与 hTDO 中残基 Arg144 相互作用的化合物将是提高 TDO 抑制剂活性和选择性的有效方法。化合物 **56** 是第一个通过基于结构的虚拟筛选鉴定的新型 TDO 抑制剂, 需要进一步评估其作为癌症治疗剂的潜力。

2019 年, Hua 等<sup>[63]</sup>提出将 TDO 抑制剂引入 Pt (IV) 复合物的策略。通过释放顺铂以损伤 DNA 的方式诱导癌细胞死亡, 同时生成 TDO 抑制剂阻断 TDO 蛋白的表达, 促进 T 细胞增殖并杀死癌细胞, 提高化疗药物的治疗效果。复合物 **58** ( $IC_{50} = 1.06 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 与 **57** ( $IC_{50} = 5.23 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )、顺铂 ( $IC_{50} = 3.85 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 相比, 在 MTT 实验中展示了最强的细胞毒性。同时 **58** 具有适中的 TDO 酶抑制活性 ( $IC_{50} = 0.85 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 在 qRT-PCR 实验中可以有效下调 TDO 蛋白的表达, 阻断犬尿氨酸的产生, 促进 T 细胞增殖, 显著改善肿瘤免疫微环境。相关方法的协同作用及相关的强化机制有待于继续研究。

**4.2.3 氨基异噁唑结构** 2018 年 Pei 等<sup>[64]</sup>通过高通量筛选发现苗头化合物 4-苯基-5-氨基异噁唑 **59** (图 14), SW48 细胞  $EC_{50}$  为  $85 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 从异噁唑环氨基的修饰、苯环的取代或替换、异噁唑的替换三方面对 **59** 进行修饰 (图 14)。构效关系发现: 5-氨基异噁唑结构是抑制 TDO 所需的核心结构, 替换活性降低; 苯环的取代或替换 (化合物 **60**~**62**) 对活性影响程度较小, 其中以化合物 **62** (SW48  $EC_{50} = 77 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 细胞活性最好。 **62** 对 TDO 的选择性是 IDO1 的 6 倍, 酶实验没有观察到对细胞色素 P450 的抑制作用, 并且在全血的稳定性更高。总之, 这一类化合物存在全血中稳定性不高的问题, 未来研究应明确其不稳定的原因以及与结构的关系。

**4.2.4 其他结构** 1961 年, 氧化还原活性化合物如儿茶酚、对苯二酚、对苯醌、*L*-二羟基苯丙氨酸和 *L*-肾上

腺素被发现作为 TDO 抑制剂<sup>[65]</sup>。2014 年, Pantouris 等<sup>[66]</sup>筛选了将近 2 800 种化合物, 采用 hTDO 酶促分析方法鉴定了 7 种有效的 TDO 抑制剂, 其抑制常数 ( $K_i$ ) 在纳摩尔或低微摩尔范围内, 但没有报道这些 TDO 抑制剂的  $IC_{50}$  值。其中黄酮类化合物 NSC36398 (**63**, 图 15) 对 TDO 的  $K_i$  约为  $16 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 而对 IDO1 的  $K_i$  值超过  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 是选择性最好的化合物, 可以进行进一步的结构优化。2018 年, Zhang 等<sup>[67]</sup>评估了天然产物色胺酮 **64** ( $IC_{50} = 3.94 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和衍生物潜在的 TDO 抑制活性, 其中化合物 **65**、**66** 的酶活性分别是  $0.937$  和  $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 相较于 IDO1 有良好的选择性 (分别是 38 倍和 88 倍)。构效关系表明: 8 位是吸电子基团活性要优于给电子基团; 2 位、7 位、9 位被取代不利于 TDO 抑制活性。分子对接显示色胺酮环通过 O-Fe 配位作用和疏水相互作用直接结合到 hTDO 的活性位点。化合物 **65** 和 **66** 具有发展成为新型 TDO 抑制剂并应用于 TDO 相关靶标治疗的潜力。2020 年, Parr 等<sup>[68]</sup>根据 IDO1 选择性抑制剂 NLG-919 (**5**, IDO1  $EC_{50} = 0.45 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $EC_{50} = 2.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 的结构, 保留骨架咪唑并异吲哚, 对侧链进行结构改造。当侧链为四氢苯并噁二唑 **67** ( $IC_{50} = 0.054 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )、*N*-稠合四氢吡唑并吡啶 **68** ( $IC_{50} = 0.13 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )、四氢苯并吡啶 **69** ( $IC_{50} = 0.05 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 时具有较高的 TDO 选择性和抑制活性。在肝微粒体和肝细胞中, 有适中的代谢稳定性。

### 4.3 IDO1/TDO 双重抑制剂

2018 年, ECHO-301 (IDO1 抑制剂 epacadostat 与 PD-1 检查点抑制剂 pembrolizumab 联合用药) 用于治疗不可切除或转移性黑色素瘤的 III 期临床试验以失败告终。试验失败的原因一方面可能是药效学指标不适用或药物组合策略不匹配, 另一方面可能是对 IDO1 在

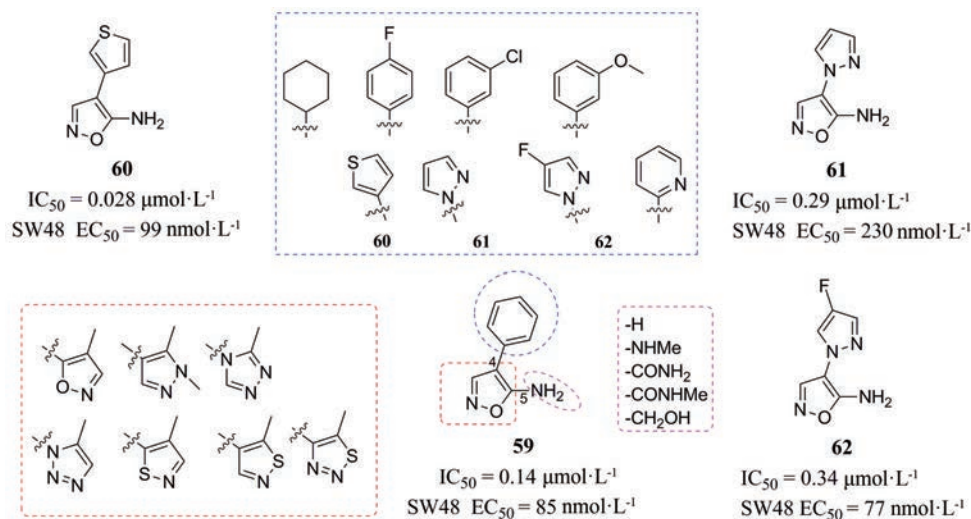
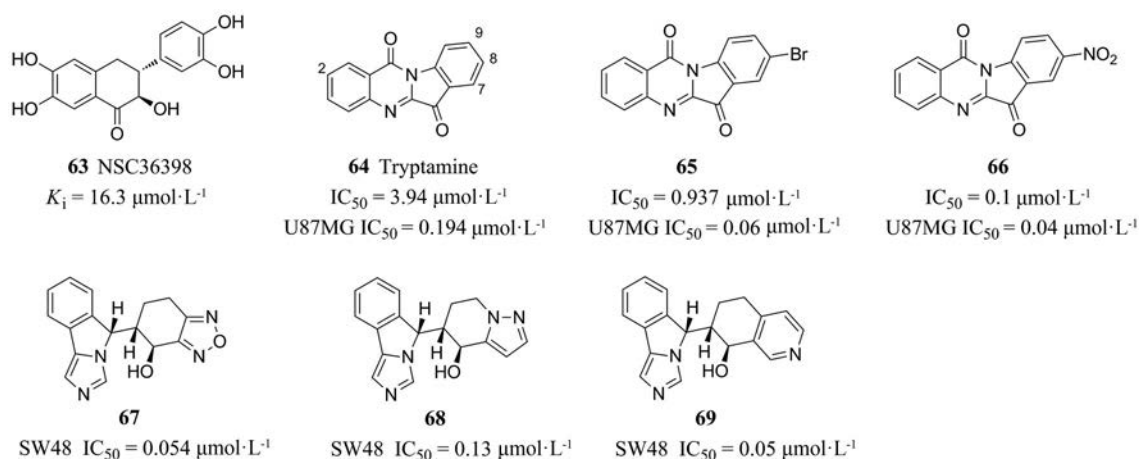


Figure 14 TDO inhibitors with aminoisoxazole scaffold

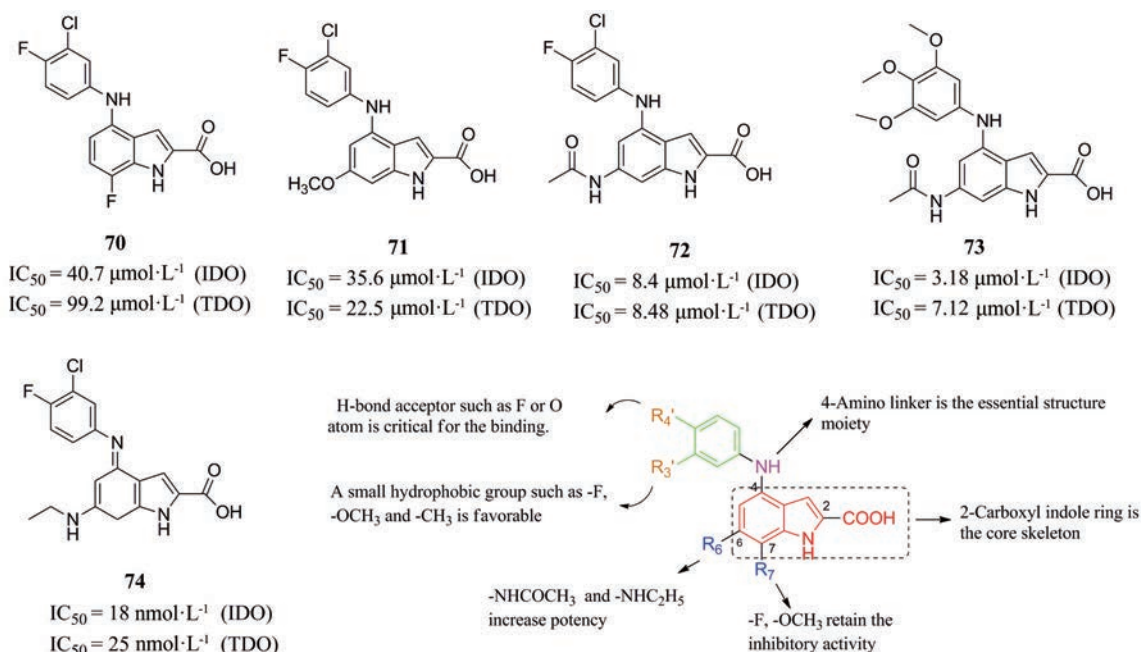


**Figure 15** Other TDO inhibitors

生理病理中的确切调控机制以及对肿瘤微环境等的影响了解得不够深入, epacadostat 选择性阻断 IDO1 的表达, 但 TDO 通路可以发挥潜在的代偿作用引起肿瘤免疫抑制效应<sup>[69]</sup>。因此开发组合或泛型 IDO1/TDO 抑制剂, 可以克服选择性 IDO1 抑制剂在临床试验中的不足, 扩大癌症治疗的适用范围。下文对文献中有代表性的结构进行阐述。

**4.3.1 吲哚结构** 2019年 Cui 等<sup>[70]</sup>通过对数据库随机筛选发现了具有 2-羧酸吲哚骨架的新型 IDO1/TDO 双重抑制剂 **70** (图 16, IDO  $\text{IC}_{50} = 40.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $\text{IC}_{50} = 99.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和 **71** (IDO  $\text{IC}_{50} = 35.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $\text{IC}_{50} = 22.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 以其为先导化合物进行广泛的结构修饰, 总结构效关系如下 (图 16): 2-羧基吲哚骨架和 4 位 NH 连接链是保持活性所必需的结构; 骨架

7 位修饰空间有限, 甲基、氰基、硝基等取代时活性消失, 只有 F 原子和甲氧基取代保持活性; 6 位乙酰氨基或乙胺基通过氢键促进与 IDO1 或 TDO 的结合, 增加活性; 4 位连接链上苯环的取代方式及取代基的性质对活性影响较大, 苯环 3' 位上是 -F、-OCH<sub>3</sub>、-CH<sub>3</sub> 等小的疏水性基团有利于活性, 苯环 4' 位上是氢键受体如 F 或 O 原子可增加与酶的亲和力。化合物 **72** (IDO  $\text{IC}_{50} = 8.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $\text{IC}_{50} = 8.48 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和 IDO1/TDO 酶的分子对接显示 2-羧基吲哚骨架位于血红素顶部的口袋中, 结构修饰空间非常有限; 而在 4 位的芳香族基团可以延伸到环和 IDO1 中残基 Arg231 (TDO 中残基 Arg144) 周围的区域, 具有一定的灵活性, 可增加结构多样性。在 A172 细胞中, 化合物 **73** (IDO  $\text{IC}_{50} = 3.18 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $\text{IC}_{50} = 7.12 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 是最有效的



**Figure 16** IDO1/TDO dual inhibitors with indole scaffold and preliminary SAR conclusions

抑制剂, 在浓度为  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时抑制率为 77.7%, 在浓度为  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时抑制率为 55.9%, 在  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时可以促进 T 细胞增殖, 但活性远比 NLG-919 要弱。值得注意的是, Cui 同时鉴定了化合物 **72** 的衍生物 **74** (IDO  $\text{IC}_{50} = 18 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $\text{IC}_{50} = 25 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 一类新型的醌衍生物, 对 IDO1 和 TDO 的抑制性更高,  $\text{IC}_{50}$  值均达到纳摩尔水平。这一发现可以用于指导进一步的结构优化, 以开发活性更强的 IDO1/TDO 双重抑制剂。

**4.3.2 吡唑结构** Qian 课题组<sup>[71]</sup>之前研究的吡唑类化合物 LWQ-84 (**75**, 图 17,  $\text{IC}_{50} = 5.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 具有弱的 IDO1 抑制活性, 没有 TDO 的抑制活性, 在细胞 (HeLa 细胞和 A172 细胞) 实验和 CT26 异种移植模型中几乎没有抗癌作用。2019 年, 该课题组以 LWQ-84 为先导化合物, 通过改变 4 位氨基上的取代基, 合成了 38 个吡唑衍生物, 但改造效果并不令人满意, 只有几个化合物与 LWQ-84 的活性相当或更好。其中, 化合物 **76** 对 IDO1 和 TDO 的抑制作用最强,  $\text{IC}_{50}$  分别为 0.74 和  $2.93 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。且在 HeLa 细胞实验中显示 IDO1 抑制活性 ( $\text{IC}_{50} = 1.37 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 在 A172 细胞实验中显示 TDO 抑制活性 ( $\text{IC}_{50} = 7.54 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 在 CT26 异种移植模型中表现出体内抗肿瘤活性。总体来说, 吡唑类化合物还需要进一步探索结构优化的位点。

**4.3.3 其他母核结构** 近年, Kuang 课题组<sup>[72,73]</sup>对天然

产物色胺酮的 2 位进行结构修饰, 合成了 24 个衍生物。大部分化合物都具有相似的 IDO1 和 TDO 抑制活性, 在基于细胞的测定中均显示出比酶活法测定更高的抑制活性, *N*-苄基取代的色胺酮 (**77**, 图 18, IDO  $\text{IC}_{50} = 0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $\text{IC}_{50} = 0.76 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 活性要高于 *N*-苯基取代的色胺酮 (**78**, IDO  $\text{IC}_{50} = 2.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $\text{IC}_{50} = 2.59 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 化合物 **79** 对 IDO1 和 TDO 抑制活性最佳,  $\text{IC}_{50}$  分别是 0.12 和  $0.03 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 但化合物水溶性较差。**79** 可与 IDO1 和 TDO 直接相互作用, 逆转 T 淋巴细胞的抑制作用, 对 LLC 和 H22 荷瘤小鼠的体内研究发现, 明显抑制了肿瘤的生长。这项研究使色胺酮类化合物成为有吸引力的 IDO1/TDO 双重抑制剂。

2019 年, Feng 等<sup>[74]</sup>报道了新的 IDO1/TDO 双重抑制剂 F04 (**80**), 其结构与 IDO1 抑制剂 epacadostat 相似, 包含磷酸胺基团。酶实验显示具有很强的 IDO1 抑制性 ( $\text{IC}_{50} = 94.5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和中等 TDO 抑制性 ( $\text{IC}_{50} = 2.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。比起 epacadostat, F04 显著抑制 C57BL6 小鼠和 Lewis 细胞肺转移模型中肿瘤的生长。泛 IDO1/TDO 特性降低了肿瘤细胞中犬尿氨酸与色氨酸的比例, 其机制值得进一步研究。同年, Guo 等<sup>[75]</sup>筛选天然产物数据库, 发现一类醌类结构的化合物 **81**~**83**, 在低微摩尔范围内抑制酶的活性。最活跃的化合物 **83** 表现出亚微摩尔活性。在酶学实验中, 化合物 **81** (IDO  $\text{IC}_{50} = 2.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $\text{IC}_{50} = 91.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和 **82** (IDO  $\text{IC}_{50} = 0.98 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $\text{IC}_{50} = 5.05 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 对 IDO1 的抑制活性更强 (大于 10 倍), 化合物 **83** (IDO  $\text{IC}_{50} = 2.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; TDO  $\text{IC}_{50} = 5.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 对 IDO1 和 TDO 具有相似的抑制活性。在 HEK293 细胞实验中, 三者抑制 IDO1 和 TDO 上具有相似的效力, 表明在细胞环境中可同时抑制 IDO1 和 TDO, 为开发具有新型分子骨架的 IDO1/TDO 双重抑制剂提供了新的线索。

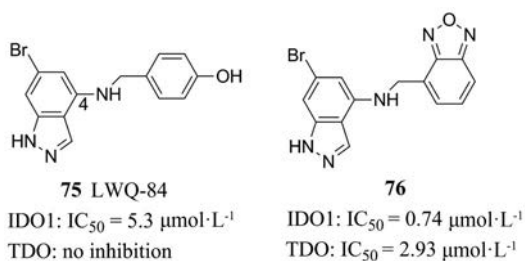


Figure 17 IDO1/TDO dual inhibitors with indazole scaffold

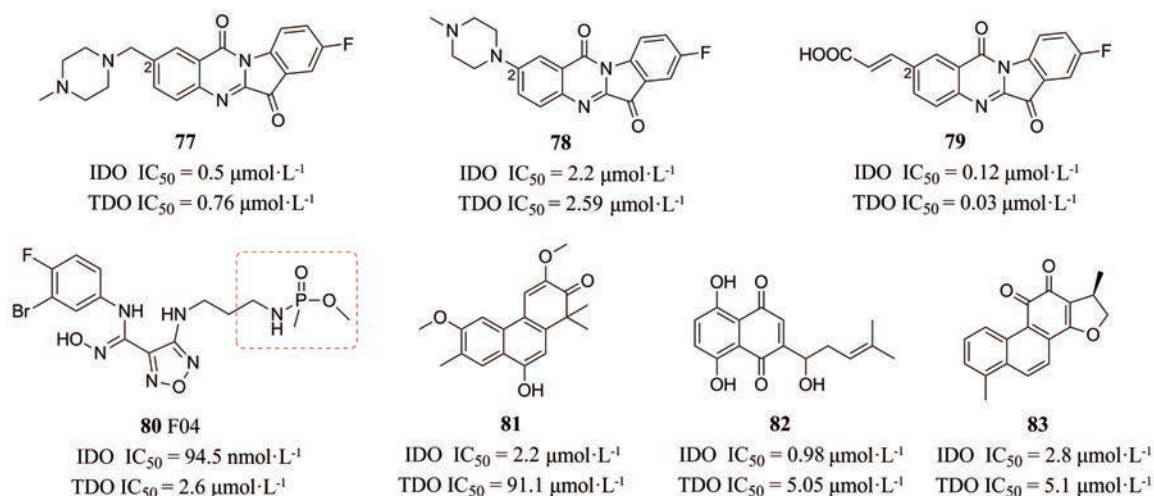


Figure 18 Other IDO1/TDO dual inhibitors

## 5 总结和展望

免疫治疗可以通过恢复甚至激活癌症患者天然的免疫系统来识别和清除肿瘤细胞,作为一种新的肿瘤治疗方法,发展前景广阔。IDO1和TDO介导的色氨酸分解代谢是肿瘤免疫逃逸的重要机制。肿瘤细胞中IDO1和TDO的高表达,导致色氨酸的耗竭和犬尿氨酸等代谢物的积聚,使效应T细胞(Teff)和自然杀伤(NK)细胞被抑制,调节性T细胞(Treg)被激活,提供肿瘤免疫耐受的微环境,促进肿瘤免疫逃逸。综上,IDO1和TDO成为肿瘤免疫治疗的重要靶标。

在过去的几十年里,IDO1在肿瘤发生发展中的作用及机制研究取得了重要进展,有数千种选择性IDO1抑制剂被报道,但仅有9个候选化合物进入临床研究。尽管ECHO-301 III期临床研究以失败告终,但对IDO1的研究兴趣依旧持续很高。TDO与IDO1相比,作用机制和相关抑制剂的研究仍处在初始阶段。它们可以催化相同的反应,但组织分布和生物学功能不同,因此TDO仍需被深入的探索。开发选择性TDO抑制剂、IDO1/TDO双重抑制剂可成为免疫疗法的新策略。

总之,在基于靶点的药物分子设计、天然产物的结构修饰、高通量筛选、组合化学等研发策略的指导下,开发具有新骨架、高活性的新型抑制剂,优化药代动力学性质,是未来抑制剂的发展方向。同时IDO1和TDO参与多种肿瘤的免疫逃逸过程,其抑制剂联用其他免疫检查点抑制剂或者与化学疗法、放射疗法等传统方法的联合使用也值得尝试和期待。

**作者贡献:** 董俊敏负责文章的资料收集、撰写以及修改工作;刘站柱对文章结构和具体内容进行审阅和指导以及获取研究经费。

**利益冲突:** 本文所有作者无任何利益冲突。

## References

- [1] Takikawa O. Biochemical and medical aspects of the indoleamine 2,3-dioxygenase-initiated *L*-tryptophan metabolism [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338: 12-19.
- [2] Löb S, Königsrainer A, Rammensee HG, et al. Inhibitors of indoleamine-2,3-dioxygenase for cancer therapy: can we see the wood for the trees? [J]. *Nat Rev*, 2009, 9: 445-452.
- [3] Delfourne E. Marine natural products and other derivatives as potent indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2012, 12: 988-996.
- [4] Brochez L, Chevolet I, Kruse V. The rationale of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition for cancer therapy [J]. *Eur J Cancer*, 2017, 76: 167-182.
- [5] Weng TW, Qiu XQ, Wang JB, et al. Recent discovery of indoleamine-2,3-dioxygenase 1 inhibitors targeting cancer immunotherapy [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 143: 656-669.
- [6] Batabyal D, Yeh SR. Human tryptophan dioxygenase: a comparison to indoleamine 2,3-dioxygenase [J]. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 15690-15701.
- [7] Qian S, Zhang M, Chen QL, et al. IDO as a drug target for cancer immunotherapy: recent developments in IDO inhibitors discovery [J]. *RSC Adv*, 2016, 6: 7575-7581.
- [8] Platten M, Wick W, Van den Eynde BJ. Tryptophan catabolism in cancer: beyond IDO and tryptophan depletion [J]. *Cancer Res*, 2012, 72: 5435-5440.
- [9] Pilotte L, Larrieu P, Stroobant V, et al. Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 2497-2502.
- [10] Shin I, Ambler BR, Wherritt D, et al. O-atom transfer in heme-based tryptophan dioxygenase: role of substrate ammonium in epoxide ring opening [J]. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 4372-4379.
- [11] Yu CP, Song YL, Zhu ZM, et al. Targeting TDO in cancer immunotherapy [J]. *Med Oncol*, 2017, 34: 73.
- [12] Wu H, Gong JP, Liu Y. Indoleamine 2,3-dioxygenase regulation of immune response (review) [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17: 4867-4873.
- [13] Song H, Park H, Kim YS, et al. *L*-Kynurenine-induced apoptosis in human NK cells is mediated by reactive oxygen species [J]. *Int Immunopharm*, 2011, 11: 932-938.
- [14] Sugimoto H, Oda S, Otsuki T, et al. Crystal structure of human indoleamine 2,3-dioxygenase: catalytic mechanism of O<sub>2</sub> incorporation by a heme-containing dioxygenase [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103: 2611-2616.
- [15] Forouhar F, Anderson JR, Mowat CG, et al. Molecular insights into substrate recognition and catalysis by tryptophan 2,3-dioxygenase [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104: 473-478.
- [16] Zhang Y, Kang SA, Mukherjee T, et al. Crystal structure and mechanism of tryptophan 2,3-dioxygenase, a heme enzyme involved in tryptophan catabolism and in quinolinate biosynthesis [J]. *Biochemistry*, 2007, 46: 145-155.
- [17] Huang W, Gong Z, Li J, et al. Crystal structure of drosophila melanogaster tryptophan 2,3-dioxygenase reveals insights into substrate recognition and catalytic mechanism [J]. *J Struct Biol*, 2013, 181: 291-299.
- [18] Meng B, Wu D, Gu J, et al. Structural and functional analyses of human tryptophan 2,3-dioxygenase [J]. *Proteins*, 2014, 82: 3210-3216.
- [19] Zhu MT, Dancsok AR, Nielsen TO. Indoleamine dioxygenase inhibitors: clinical rationale and current development [J]. *Curr Oncol Rep*, 2019, 21: 2.
- [20] Uyttenhove C, Pilotte L, Theate I, et al. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase [J]. *Nat Med*, 2003, 9: 1269-1274.

- [21] Rohrig UF, Majjigapu SR, Vogel P, et al. Challenges in the discovery of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2015, 58: 9421-9437.
- [22] Du TT, Lai FF, Chen XG. Research progress of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 in tumor immunotherapy [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2018, 53: 1271-1278.
- [23] Zhang XY, Cui GD, Xu BL. The research progress of indoleamine 2,3-dioxygenase 1(IDO1) inhibitors [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2018, 53: 1784-1796
- [24] Kumar S, Waldo JP, Jaipuri FA, et al. Discovery of clinical candidate (1*R*,4*R*)-4-((*R*)-2-((*S*)-6-Fluoro-5*H*-imidazo[5,1-*a*]isoindol-5-yl)-1-hydroxyethyl)cyclohexan-1-ol (Navoximod), a potent and selective inhibitor of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 [J]. *J Med Chem*, 2019, 62: 6705-6733.
- [25] Peng YH, Ueng SH, Tseng CT, et al. Important hydrogen bond networks in indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitor design revealed by crystal structures of imidazoleisoindole derivatives with IDO1 [J]. *J Med Chem*, 2016, 59: 282-293.
- [26] Tu WY, Yang FL, Xu GJ, et al. Discovery of imidazoisoindole derivatives as highly potent and orally active indoleamine-2,3-dioxygenase inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2019, 10: 949-953.
- [27] Serafini M, Torre E, Aprile S, et al. Discovery of highly potent benzimidazole derivatives as indoleamine 2,3-dioxygenase-1 (IDO1) inhibitors: from structure-based virtual screening to *in vivo* pharmacodynamic activity [J]. *J Med Chem*, 2020, 63: 3047-3065.
- [28] Tojo S, Kohno T, Tanaka T, et al. Crystal structures and structure-activity relationships of imidazothiazole derivatives as IDO1 inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2014, 5: 1119-1123.
- [29] Griglio A, Torre E, Serafini M, et al. A multicomponent approach in the discovery of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 inhibitors: synthesis, biological investigation and docking studies [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28: 651-657.
- [30] Serafini M, Torre E, Aprile S, et al. Synthesis, docking and biological evaluation of a novel class of imidazothiazoles as IDO1 inhibitors [J]. *Molecules*, 2019, 24: 1874.
- [31] Yue EW, Sparks R, Polam P, et al. INCB24360 (epacadostat), a highly potent and selective indoleamine-2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitor for immuno-oncology [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2017, 8: 486-491.
- [32] Chen SL, Guo W, Liu XH, et al. Design, synthesis and antitumor study of a series of *N*-cyclic sulfamoylaminoethyl substituted 1,2,5-oxadiazol-3-amines as new indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 179: 38-55.
- [33] Song XH, Sun P, Wang J, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of 1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide derivatives as novel indoleamine-2,3-dioxygenase 1 inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 189: 112059.
- [34] Steeneck C, Kinzel O, Anderhub S, et al. Discovery of hydroxy-amidine based inhibitors of IDO1 for cancer immunotherapy with reduced potential for glucuronidation [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2020, 11: 179-187
- [35] Du QM, Feng X, Wang YN, et al. Discovery of phosphonamide IDO1 inhibitors for the treatment of non-small cell lung cancer [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 182: 111629.
- [36] Paul S, Roy A, Deka SJ, et al. Nitrobenzofurazan derivatives of *N'*-hydroxyamidines as potent inhibitors of indoleamine-2,3-dioxygenase 1 [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 121: 364-375.
- [37] Markwalder JA, Seitz SP, Blat Y, et al. Identification and optimization of a novel series of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27: 582-585.
- [38] Williams DK, Markwalder DA, Balog AJ, et al. Development of a series of novel *o*-phenylenediamine-based indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28: 732-736.
- [39] Cai S, Yang XJ, Chen P, et al. Design, synthesis and biological evaluation of bicyclic carboxylic acid derivatives as IDO1 inhibitors [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 94: 103356.
- [40] Blunt CE, Torcuk C, Liu Y, et al. Synthesis and intracellular redox cycling of natural quinones and their analogues and identification of indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO) as potential target for anticancer activity [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 8740-8745.
- [41] Pan DY, Zhang XX, Zheng HZ, et al. Novel anthraquinone derivatives as inhibitors of protein tyrosine phosphatases and indoleamine 2,3-dioxygenase 1 from the deep-sea derived fungus *Alternaria tenuissima* DFFSCS013 [J]. *Org Chem Front*, 2019, 6: 3252-3258.
- [42] Carvalho C, Siegel D, Inman M, et al. Benzofuranquinones as inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO). Synthesis and biological evaluation [J]. *Org Biomol Chem*, 2014, 12: 2663-2674.
- [43] Pan LK, Zheng Q, Chen Y, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel naphthoquinone derivatives as IDO1 inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 157: 423-436.
- [44] Cady SG, Sono M. 1-Methyl-*DL*-tryptophan, beta-(3-benzofuranyl)-*DL*-alanine (the oxygen analog of tryptophan), and beta-[3-benzo(b)thienyl]-*DL*-alanine (the sulfur analog of tryptophan) are competitive inhibitors for indoleamine 2,3-dioxygenase [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1991, 291: 326-333.
- [45] Nakashima H, Uto Y, Nakata E, et al. Synthesis and biological activity of 1-methyl-tryptophan-tirapazamine hybrids as hypoxia-targeting indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 8661-8669.
- [46] Awuah SG, Zheng YR, Bruno PM. A Pt (IV) pro-drug preferentially targets indoleamine-2,3-dioxygenase, providing enhanced ovarian cancer immuno-chemotherapy [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 14854-14857.
- [47] Crosignani S, Bingham P, Botteman P, et al. Discovery of a

- novel and selective indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO-1) inhibitor 3-(5-fluoro-1*H*-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione (EOS2-00271/PF-06840003) and its characterization as a potential clinical candidate [J]. *J Med Chem*, 2017, 60: 9617-9629.
- [48] Beck HP, Jaen JC, Osipov M, et al. Immunoregulatory agents: US, 059311 [P]. 2016-05-12.
- [49] Nelp MT, Kates PA, Hunt JT, et al. Immune-modulating enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase is effectively inhibited by targeting its apo-form [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: 3249-3254.
- [50] Lin SY, Yeh TK, Kuo CC, et al. Phenyl benzenesulfonylhydrazides exhibit selective indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition with potent *in vivo* pharmacodynamic activity and antitumor efficacy [J]. *J Med Chem*, 2016, 59: 419-430.
- [51] Malachowski WP, Winters M, DuHadaway JB, et al. *O*-Alkylhydroxy-lamines as rationally-designed mechanism-based inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase-1 [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 108: 564-576.
- [52] Panda S, Roy A, Deka SJ, et al. Fused heterocyclic compounds as potent indoleamine-2,3-dioxygenase 1 inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2016, 7: 1167-1172.
- [53] Xu X, Ren J, Ma YH, et al. Discovery of cyanopyridine scaffold as novel indoleamine-2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors through virtual screening and preliminary hit optimization [J]. *J Enzyme Inhibit Med Chem*, 2019, 34: 250-263.
- [54] Opitz CA, Litzenger UM, Sahm F, et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor [J]. *Nature*, 2011, 478: 197-203.
- [55] Civen M, Knox WE. The specificity of tryptophan analogues as inducers, substrates, inhibitors, and stabilizers of liver tryptophan pyrrolase [J]. *J Biol Chem*, 1960, 235: 1716-1718.
- [56] Frieden E, Westmark GW, Schor JM. Inhibition of tryptophan pyrrolase by serotonin, epinephrine and tryptophan analogs [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1961, 92: 176-182.
- [57] Eguchi N, Watanabe Y, Kawanishi K, et al. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophan 2,3-dioxygenase by beta-carboline and indole derivatives [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1984, 232: 602-609.
- [58] Salter M, Hazelwood R, Pogson CI, et al. The effects of a novel and selective inhibitor of tryptophan 2,3-dioxygenase on tryptophan and serotonin metabolism in the rat [J]. *J Biochem Pharmacol*, 1995, 49: 1435-1442.
- [59] Dolusic E, Larrieu P, Moineaux L, et al. Tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) inhibitors. 3-(2-(pyridyl)ethenyl)indoles as potential anticancer immunomodulators [J]. *J Med Chem*, 2011, 54: 5320-5334.
- [60] Pilotte L, Larrieu P, Stroobanta V, et al. Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase [J]. *J Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 2497-2502.
- [61] Abdel-Magid AF. Targeting the inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO-2) for cancer treatment [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2017, 8: 11-13.
- [62] Wu JS, Lin SY, Liao FY, et al. Identification of substituted naphthotriazoles as novel tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) inhibitors through structure based virtual screening [J]. *J Med Chem*, 2015, 58: 7807-7819.
- [63] Hua SX, Chen FH, Wang XY, et al. Pt (IV) hybrids containing a TDO inhibitor serve as potential anticancer immunomodulators [J]. *J Inorg Biochem*, 2019, 195: 130-140.
- [64] Pei ZH, Mendonca R, Gazzard L, et al. Aminoisoxazoles as potent inhibitors of tryptophan 2,3-dioxygenase 2 (TDO2) [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2018, 9: 417-421.
- [65] Frieden E, Westmark GW, Schor JM. Inhibition of tryptophan pyrrolase by serotonin, epinephrine and tryptophan analogs [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1961, 92: 176-182.
- [66] Pantouris G, Mowat GG. Antitumor agents as inhibitors of tryptophan 2,3-dioxygenase [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 443: 28-31.
- [67] Zhang SN, Qi FF, Fang X, et al. Tryptophan 2,3-dioxygenase inhibitory activities of tryptanthrin derivatives [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 160: 133-145.
- [68] Parr BT, Pastor R, Sellers BD, et al. Implementation of the CYP index for the design of selective tryptophan-2,3-dioxygenase inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2020, 11: 541-549.
- [69] Muller AJ, Manfredi MG, Zakharia Y, et al. Inhibiting IDO pathways to treat cancer: lessons from the ECHO-301 trial and beyond [J]. *Immunopathol*, 2019, 41: 41-48.
- [70] Cui GN, Lai FF, Wang XY, et al. Design, synthesis and biological evaluation of indole-2-carboxylic acid derivatives as IDO1/TDO dual inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 188: 111985.
- [71] Yang LL, Chen Y, He JL, et al. 4,6-Substituted-1*H*-indazoles as potent IDO1 / TDO dual inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27: 1087-1098.
- [72] Yang D, Zhang SN, Fang X, et al. *N*-Benzyl / aryl substituted tryptanthrin as dual inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophan 2,3-dioxygenase [J]. *J Med Chem*, 2019, 62: 9161-9174.
- [73] Lia YY, Zhang SN, Wang R, et al. Synthesis of novel tryptanthrin derivatives as dual inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 and tryptophan 2,3-dioxygenase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, 30: 127-159.
- [74] Feng X, Shen P, Wang Y. Synthesis and *in vivo* antitumor evaluation of an orally active potent phosphonamide derivative targeting IDO1/IDO2/TDO [J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 168: 214-223.
- [75] Guo W, Yao S, Sun P, et al. Discovery and characterization of natural products as novel indoleamine 2,3-dioxygenase 1 inhibitors through high-throughput screening [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41: 423-431.