

## 吲哚胺 2,3-双加氧酶 IDO1 抑制剂的研究进展

张心苑, 崔国楠, 徐柏玲\*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 活性物质发现与适药化研究北京市重点实验室, 北京 100050)

**摘要:** 吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 (indoleamine 2,3-dioxygenase 1, IDO1) 是 *L*-色氨酸沿犬尿氨酸途径代谢的关键酶, 是潜在的肿瘤免疫治疗药物靶点。目前已有至少 10 个 IDO1 小分子抑制剂进入临床研究。本文将根据化合物的结构类型, 对代表性 IDO1 小分子抑制剂的结合模式和构效关系进行综述, 希望能够对 IDO1 小分子抑制剂的研究提供启示。

**关键词:** 吲哚胺 2,3-双加氧酶 1; IDO1 抑制剂; 构效关系; 结合模式; 肿瘤免疫治疗

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 11-1784-13

## The research progress of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors

ZHANG Xin-yuan, CUI Guo-nan, XU Bai-ling\*

(Beijing Key Laboratory of Active Substance Discovery and Druggability Evaluation, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) is a key enzyme of *L*-tryptophan metabolic oxidation pathway, in which the *L*-tryptophan is transformed into *N*-formyl kynurenine by oxidative cleavage. IDO1 is considered as a potential target for the development of cancer immunotherapeutic molecules. Up to now, at least 10 drug candidates have been advanced into clinical research. In this review, the binding mode and structure-activity relationships of the representative IDO1 small molecule inhibitors were summarized according the characteristics of chemical structures. Hopefully, this review could provide some insights for further development of novel IDO1 inhibitors.

**Key words:** indoleamine 2,3-dioxygenase 1; IDO1 inhibitors; structure-activity relationship; binding mode; tumor immunotherapy

肿瘤免疫治疗是一种通过恢复机体正常的抗肿瘤免疫反应控制和清除肿瘤的治疗方法。吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 (IDO1) 是一个含亚铁血红素的酶, 是色氨酸代谢的关键酶, 在多种肿瘤细胞中过度表达, 消耗肿瘤微环境中的色氨酸, 造成 T 细胞抑制, 从而使肿瘤细胞逃避免疫系统的监控和清除, 是肿瘤免疫

治疗的一个重要靶点<sup>[1]</sup>。

色氨酸是人体必需氨基酸, 有两条代谢途径: 犬尿氨酸代谢途径和褪黑素途径。其中犬尿氨酸途径占 95%, 是主要的代谢途径, 会产生多种生物活性小分子。犬尿氨酸代谢途径的第一步也是限速步骤, 由 IDO1、IDO2 和色氨酸 2,3-双加氧酶 (TDO) 三种酶催化。IDO1 是一种肝外细胞溶质酶, 分布在人体各个组织中, 包括胎盘、脑、肺、肝、脾、肾、胃、大肠、小肠、结肠等<sup>[2]</sup>, 发挥主要的催化作用<sup>[1,2]</sup>; IDO2 主要分布在肾小管、肝脏和精子中<sup>[1,3]</sup>, 色氨酸代谢活性低; TDO 主要在肝中表达, 与 IDO 催化的反应相

收稿日期: 2018-07-24; 修回日期: 2018-09-21.

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2017-I2M-2-004).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63166764, E-mail: xubl@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0673

同, 调控血液中色氨酸的浓度<sup>[1]</sup>。

## 1 IDO1 的结构

2006 年, IDO1 复合物的晶体结构 (2D0T、2D0U) 首次被报道<sup>[4]</sup>, 揭示了 IDO1 蛋白结合腔的特征, 为理性分子设计提供了依据。IDO1 是一种含亚铁血红素的双加氧酶, 包括两个结构域。其中大的结构域是由 13 个  $\alpha$ -螺旋 (G-S) 和两个  $3_{10}$  螺旋组成的全螺旋结构域。4 个长螺旋 (G、I、Q、S) 与血红素平面大致平行, 并与其他 3 个短螺旋 (K、L、N) 共同构成了血红素结合口袋 (图 1A)。螺旋 Q 中的 His346 的咪唑是血红素中铁离子的内源性配体, 在第五配位位置与铁离子络合 (图 1B)。小的结构域在血红素的远侧, 由 6 个  $\alpha$ -螺旋 (A~F)、两个短  $\beta$ -折叠和 3 个  $3_{10}$  螺旋构成, 位于血红素铁离子第六配位位置的上方, 覆盖血红素口袋的顶部 (图 1A)。

由 IDO1 复合物的晶体结构 (图 1B) 可以看出, IDO1 结合腔包括 A、B 两个结合口袋, 其中 A 腔位于铁离子第六配位位置上方, 是由 Ala264、Gly262、Tyr126、Val130、Cys129、Phe163 和 Phe164 等氨基酸构成的疏水性口袋, B 腔位于开口处, 由 Phe226、Phe227、Arg231、Ile354 和 Leu384 等氨基酸构成。氨基酸突变实验表明, His346、Asp274、Phe226、Phe227、Arg231 是 IDO1 蛋白的关键氨基酸, 与蛋白的稳定性、催化活性和底物识别有关<sup>[4, 5]</sup>。研究发现当将 Asp274 突变成 Ala 时, 会影响 IDO1 的催化活性<sup>[5]</sup>, 这是由于 Asp274 与 Arg343 形成盐桥, 而 Arg343 位于血红素卟啉环附近与 6 位丙酸基形成氢键从而稳定血红素。Phe226、Phe227、Arg231 通常与配体形成  $\pi$ - $\pi$  或者阳离子- $\pi$  相互作用, 从而对 IDO1 的催化活性和底物识别产生影响。Ser167Ala 的突变实验表

明, Ser167 既不位于底物识别区, 也不会影响酶的催化活性<sup>[4]</sup>, 然而许多晶体结构都证实, Ser167 会与配体形成氢键作用, 是 IDO1 结合口袋的关键氨基酸<sup>[6, 7]</sup>。

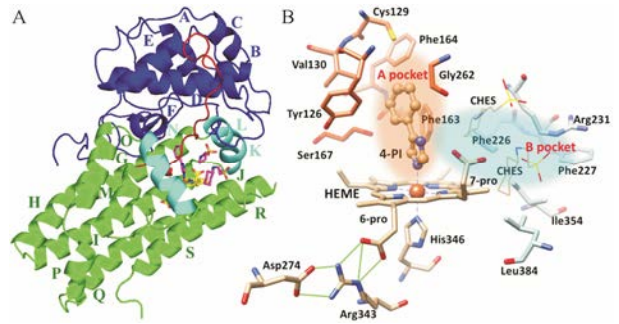


Figure 1 The crystal structure of IDO1-4PI complex (PDB code: 2D0T)

## 2 IDO1 的生物学功能

IDO1 是色氨酸沿犬尿氨酸途径代谢的限速酶, 是代谢途径的第一步<sup>[8]</sup>。如图 2 所示, 在 IDO1 的催化下, 色氨酸中吡咯环发生氧化裂解, 生成 *N*-甲酰犬尿氨酸, 经犬尿氨酸甲酰胺酶去甲酰化生成犬尿氨酸, 在犬尿氨酸酶的催化裂解下生成邻氨基苯甲酸, 随即转化为 2-氨基黏康酸、2-吡啶甲酸和喹啉酸, 喹啉酸在磷酸核糖转移酶的作用下生成  $\text{NAD}^+$ 。IDO1 通过催化色氨酸的氧化裂解反应, 调控体内色氨酸及代谢产物的水平, 发挥着重要的生物学功能。

## 3 IDO1 与肿瘤免疫逃逸的关系

IDO1 介导的肿瘤免疫逃逸是综合调节多种免疫细胞的结果, 其中最重要的是 T 细胞<sup>[9, 10]</sup>。包含两方面的作用, 一是抑制效应 T 细胞、NK 细胞等免疫杀伤性细胞活性或诱导其凋亡<sup>[11, 12]</sup>; 二是促进耐受性 DC 细胞的分化, 促进 Treg 细胞、髓系衍生抑制细

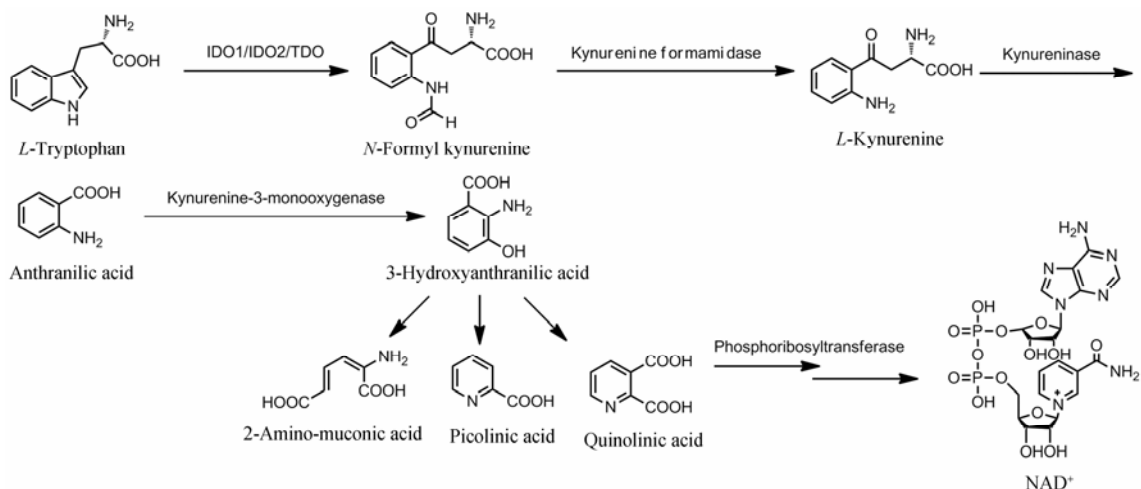


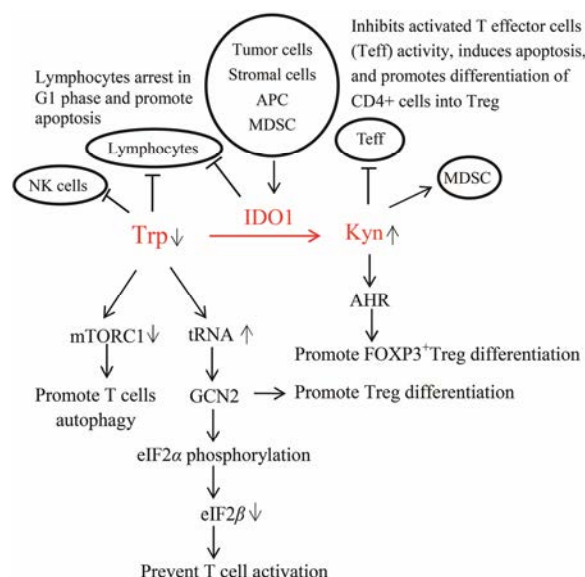
Figure 2 The kynurenine metabolic pathway

细胞 (MDSC) 等免疫负向调节细胞的增殖和提高其活性<sup>[13]</sup>, 二者协同作用产生免疫抑制, 帮助肿瘤细胞逃避免疫系统的杀伤。

如图 3 所示, IDO1 发挥免疫抑制作用的分子机制主要是通过调节色氨酸的代谢, 导致局部色氨酸含量降低和犬尿氨酸及其他代谢产物含量升高。在肿瘤微环境中, 肿瘤细胞自身可分泌 IDO1, 同时会招募周围的基质细胞及其他免疫细胞 (APC、MDSC、CAF、巨噬细胞等) 表达 IDO1, 过表达的 IDO1 会使肿瘤局部色氨酸水平降低, 犬尿氨酸及其他代谢产物水平升高。色氨酸的缺乏会通过多种分子机制抑制 T 细胞的活性, 包括 mTORC1 途径和 GCN/eIF2 途径等<sup>[14–16]</sup>。色氨酸含量下降会抑制 T 细胞中的 mTORC1, 抑制 T 细胞活性, 诱导 T 细胞发生自噬; 另外一个分子机制是色氨酸的缺乏导致不带电荷的色氨酸转运核糖核酸 (tRNA) 在细胞中积累, 激活 GCN2, 激活的 GCN2 使 eIF2 $\alpha$  磷酸化, 进而抑制 eIF2 $\beta$ , 抑制蛋白的合成, 阻止 T 细胞的活化。此外, 激活的 GCN2 也能促进 Treg 细胞的分化并增强活性<sup>[15]</sup>。同时, 色氨酸代谢导致犬尿氨酸及其他代谢产物增多, 犬尿氨酸作为 AHR 内源性的配体, 可以活化 AHR 的转录, 从而促进免疫抑制性白介素-10 (IL-10) 的表达, 促进 FOXP3<sup>+</sup>Treg 细胞的分化, 最终导致 T 细胞沉默, Treg 细胞被激活<sup>[17–19]</sup>。上述多个信号通路的共同作用, 导致肿瘤微环境产生免疫抑制作用, 促进了肿瘤细胞的免疫逃逸。

#### 4 IDO1 抑制剂的研究进展

近年来, IDO1 抑制剂的研究得到了广泛性的关



**Figure 3** Mechanism of IDO1 regulating T cell function and activity

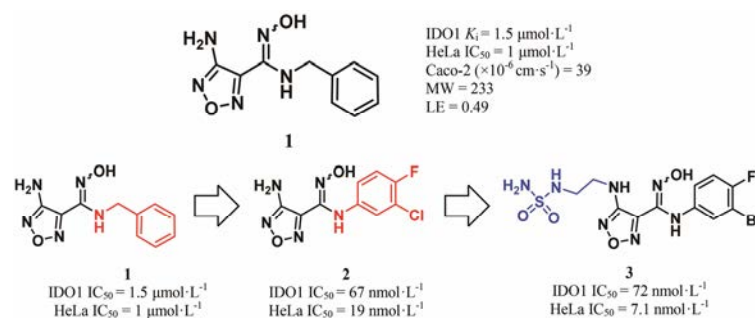
注, 吸引了众多制药公司和科研高校参与, 采用高通量筛选方法及基于结构的药物分子设计手段, 发现了多种结构类型的 IDO1 抑制剂。目前已有 10 个 IDO1 小分子抑制剂进入临床研究阶段 (表 1), 但仍没有药物上市。Incyte 公司开发的 Epacadostat 和百时美施贵宝公司开发的 BMS986205 进入临床 III 期研究阶段, 另外 NewLink 公司研发的 Indoximod 目前处于临床 II/III 期研究阶段。已有研究者对 IDO1 的生物学功能及抑制剂的研究进行了综述<sup>[20–25]</sup>, 本文将根据化合物的结构类型, 对代表性 IDO1 小分子抑制剂的最新研究进展进行综述。

#### 4.1 羟基脒类 IDO1 小分子抑制剂

**4.1.1 Epacadostat (INCB024360)** 如图 4 所示, 2009 年, Incyte 公司通过高通量筛选获得了 IDO1 选择性竞争性抑制剂 **1** ( $K_i = 1.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )。光谱学实验证实了苗头化合物 **1** 可以与血红素中的铁离子直接络合。对化合物 **1** 进行结构改造, 发现取代的苯胺替换苄胺, 可显著提高化合物的抑制活性, 获得了高活性的 IDO1 抑制剂 **2** (INCB14943)。研究者对化合物 **2** 进行了体内活性和药代动力学性质评价, 发现小鼠每天给药两次, 每次  $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 抑瘤率最高可达 50%<sup>[26]</sup>, 但是化合物 **2** 口服半衰期短 ( $t_{1/2} < 0.5 \text{ h}$ )。为了解决化合物 **2** 口服生物利用度低、半衰期短的缺陷, 研发者对化合物 **2** 继续进行结构改造, 期望获得药代性质优良的类药化合物。结构改造集中在伸向 B 口袋的氨基, 发现氨基上双取代 (NMe<sub>2</sub>) 时, 对 IDO1 抑制活性消失; 氨基上单取代 (NHMe、NHEt、NHBn) 时, 活性保留或稍有降低, 清除率降低, 但蛋白结合率高。为了降低化合物的血浆蛋白结合率, 研究人员在氨基上引入极性侧链, 获得了理化性质较好的候选药物 **3** (epacadostat)。采用 CT26 移植瘤模型小鼠, 每天口服给药  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 给药 13 天, 抑瘤率可达 56%。毒理和药代实验表明, 候选药物 **3** 安全性高、药代性质良好 (犬和灵猴的口服生物利用度分别为 59% 和 33%)<sup>[27]</sup>。2015 年 11 月, epacadostat 用于治疗黑色素瘤进入临床 I 期研究阶段。遗憾的是, 2018 年 4 月公布的 III 期临床 ECHO-301 的数据显示, epacadostat 联合 PD-1 单克隆抗体 pembrolizumab 治疗不可手术切除或者转移性黑色素瘤, 相比单独使用 pembrolizumab, 无进展生存时间 (PFS) 无明显改善。目前, epacadostat 联合 pembrolizumab 一线治疗非小细胞肺癌适应证开发, 进入 II 期临床研究阶段。Incyte 公司将继续开展 epacadostat 联合疗法 (除 PD-1 抗

**Table 1** IDO1 inhibitors in clinical trials

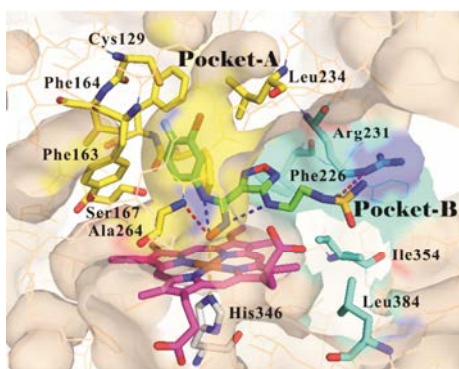
Compound	Structure	Organization	Phase	Condition
Epacadostat (INCB024360)		Incyte	Phase III	Melanoma
BMS986205 (F001287)		Bristol-Myers Squibb	Phase III	Solid tumor
Indoximod (D-1MT)		NewLink Genetics	Phase II/III	Prostate cancer Breast cancer Melanoma Pancreatic cancer Malignant brain tumor
PF-06840003 (EOS200271)		Pfizer iTeos	Phase I	Neuroglioma
Navoximod (NLG-919)		NewLink Genetics	Discontinued	Solid tumor
LY3381916		Lilly	Phase I	Solid tumor
SHR9146 (HTI-1090)	Undisclosed	Hengrui Pharma	Phase I	Malignant tumor
KHK2455	Undisclosed	Kyowa Hakko Kirin	Phase I	Solid tumor
NLG802	Indoximod prodrug	NewLink Genetics	Phase I	Solid tumor
IO102	Undisclosed	IO Biotech	Phase I	Solid tumor

**Figure 4** The optimization process of epacadostat (compound 3)

体外) 在多个肿瘤的早期临床研究, 这里的联合疗法主要包括 epacadostat + nivolumab + ipilimumab、epacadostat 联合疫苗、epacadostat 联合化疗疗法等。

2017年, Syun-Ru Yeh 课题组<sup>[7]</sup>获得了 epacadostat 与 IDO1 复合物的晶体结构 (PDB code: 5WN8)。如图 5 所示, 从该晶体结构中可以看到, epacadostat 中羟基脒的氧原子与血红素中心的铁离子形成配位键, 同时与 Ala264 的 NH 形成氢键相互作用。卤素取代的芳环伸向了 A 腔, 与周围氨基酸形成疏

水相互作用, 芳环上的氟原子 (4-F) 与 Cys129 上的巯基形成了较强的氟-硫相互作用。噁二唑环 4-位氨基上引入的极性侧链伸向 B 腔, 磺酰基上的氧原子与 Arg231 形成氢键。此外, 羟基脒上的氮原子与噁二唑上的氨基、羟基脒上的氧原子及芳胺上的 NH 分别形成了分子内氢键, 不仅使得该类化合物具有良好的膜渗透性和口服生物利用度, 同时使得化合物具有一定的刚性, 降低了化合物与 IDO1 结合时的熵损失, 有利于提高分子的活性。



**Figure 5** The binding mode of epacadostat with IDO1 (PDB code: 5WN8)

**4.1.2 其他羟基脒类化合物** 如图 6 所示, 基于 epacadostat 的结构, 研究者在伸入 B 腔的极性侧链上进行结构改造, 获得了结构新颖、活性相当或者稍有提高的 IDO1 抑制剂 (**4**<sup>[28]</sup>、**5**<sup>[29]</sup>)。维持羟基脒结构不变, 改变中间连接基团, 将噁二唑环替换成哌啶环 (**6**)<sup>[30]</sup>、苯并咪唑环 (**7**)<sup>[31]</sup>、苯并噁二唑 (**8**、**9**)<sup>[32]</sup>, 或者将噁二唑替换成疏水性脂肪环 (**10**)<sup>[33]</sup>, 均获得了具有较好抑制活性的 IDO1 抑制剂。

该类化合物构效关系研究表明: ① 占据 A 腔的苯环上 3-位引入卤素活性较好, 3,4-位双卤素取代时, 酶学水平和细胞水平抑制活性可以保持, 且体内清除率显著降低<sup>[26,27]</sup>; ② 当羟基脒的 *N*-OH 替换成 *N*-OMe、NH、*N*-NH<sub>2</sub>、O、S 后, 活性均消失, 提示羟基脒与铁离子的络合对活性贡献显著<sup>[26]</sup>; ③ 中间连接片段噁二唑环可以替换; ④ 伸向 B 腔的磺酰胺侧链可以替换成其他极性基团, 侧链的长度也有较高的容忍度, 中间碳原子可以维持在 1~4 个<sup>[28,29]</sup>, 可以利用侧链调整化合物的理化性质和药代动力学性质。

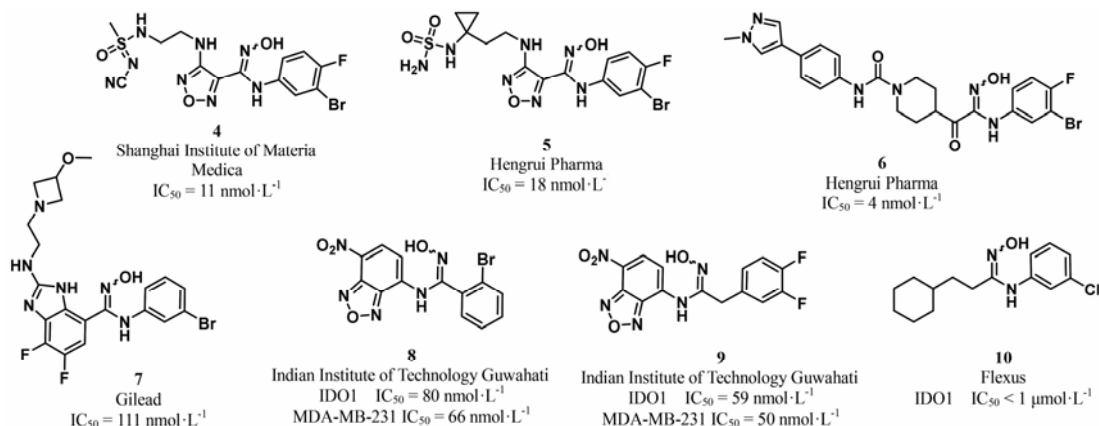
## 4.2 喹啉类 IDO1 小分子抑制剂

2015 年 BMS (百时美施贵宝) 收购 Flexus Biosciences, 获得了其 IDO1 小分子抑制剂的开发权力,

即 BMS-986205 (图 7, 化合物 **11**)。BMS-986205<sup>[34]</sup>是一个可口服的 IDO1 小分子抑制剂, 与 PD-1 抑制剂 nivolumab 联合用药, 处于临床 III 期研究阶段。如图 7 所示, 将化合物 **11** 中的酰胺键反转 (**12**) 或者替换成脲基 (**13**)、磺酰胺基 (**14**)<sup>[35]</sup>时, 所得化合物均有较强的抑制活性; 当喹啉环替换成三氟甲基取代的吡啶环 (**16**) 时<sup>[27]</sup>, 抑制活性仍然保留; 当以 4-羟基哌啶作为连接基团时, 活性降低 (**15**、**17**)<sup>[36]</sup>。值得关注的是, 与其他类型 IDO1 抑制剂不同, 该类化合物是与不含亚铁血红素的 IDO1 蛋白结合, 具有独特的结合模式, 如图 8 所示: 4-氰基取代的苯环位于 A 腔, 与 Tyr126 形成  $\pi$ - $\pi$  相互作用, 酰胺上的 NH 与 Ser167 的侧链 OH 形成氢键作用; 环己烷作为连接基团, 将喹啉环导向一个新的疏水性结合腔, 喹啉环占据了由 Phe270、Phe214、His346 及 Arg343 等组成的结合口袋, 与 Phe270 形成  $\pi$ - $\pi$  相互作用, 喹啉上的氮原子与 Arg343 的侧链 NH 形成氢键作用<sup>[37]</sup>。该类化合物独特的结合模式, 是否会产生独特的药理学特征, 还有待于临床结果验证。这种结合模式, 为设计结构多样化的 IDO1 抑制剂提供了新的思路。

## 4.3 吡啶类 IDO1 小分子抑制剂

**4.3.1 PF-06840003** PF-06840003 是由 iTeos 公司发现, 辉瑞公司联合开发的一个高选择性的可口服的 IDO1 抑制剂。如图 9 所示, PF-06840003 的苗头化合物 **19** 是通过高通量筛选发现的, 对 hIDO1 具有中等抑制活性 ( $IC_{50} = 3.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 且对 TDO 无抑制活性, 是一个高选择性的 hIDO1 抑制剂。以化合物 **19** 作为苗头化合物, 分别对吡啶 3-位的琥珀酰亚胺、吡啶骨架、4,7-位取代基、5,6-位取代基进行结构优化。研究表明, 琥珀酰亚胺对抑制活性贡献显著; 当吡啶环的 1,2,4,7 位分别被不同基团取代时, 活性均显著降低或消失; 当采用其他环系替换吡啶骨架时, 仅



**Figure 6** Some examples of *N*-hydroxyamidines-based IDO1 inhibitors

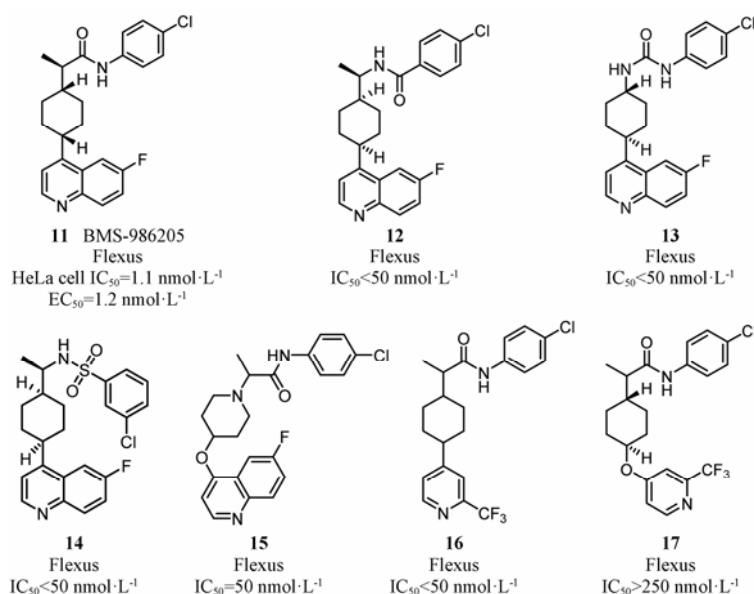


Figure 7 Representative structures of quinolones

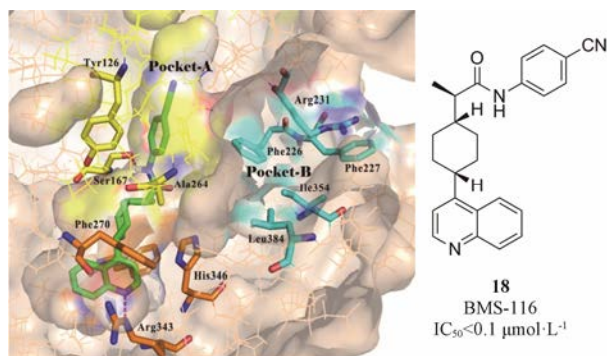


Figure 8 The binding mode of BMS-116 with IDO1 (PDB code: 6AZW)

萘环替换吲哚环时, 所得化合物具有抑制活性, 但活性有所降低; 在吲哚的 5-位引入卤素时活性明显提高, 且  $F > Br > Cl$  (5-F、5-Br 和 5-Cl 的  $IC_{50}$  分别为 0.15、0.37 和 0.83  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ); 6-位引入不同的基团时, 仅氰基 ( $IC_{50}=1.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和 Br ( $IC_{50}=0.42 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 取代时活性有所提高; 但当 5-氟-6-溴双取代时, 活性较 5-氟单取代略有降低。因此, 选择了 5-氟取代的化合物 **20** 作为候选药物。酶学活性评价表明, *R* 构型化合物 **20a** ( $IC_{50}=0.12 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 是一个高选择性的

hIDO1 抑制剂, 而 *S* 构型的 **20b** ( $IC_{50}=54 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 对 hIDO1 抑制活性弱。然而在细胞水平活性评价中, **20b** (HeLa cell,  $IC_{50}=13 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 仅比 **20a** (HeLa cell,  $IC_{50}=1.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 的活性低 13 倍, 推测可能是由于手性碳原子可以通过烯醇式互变, 导致 **20b** 部分消旋, 活性提高。因此, 选择了消旋体 **20** 进入临床前和临床研究<sup>[6]</sup>。

化合物 PF-06840003 与 IDO1 的结合模式如图 10 所示, 吲哚环占据了 IDO1 的疏水性口袋 A 腔, 1 位的 NH 与 Ser167 形成氢键作用, 苯环与 Tyr126、Phe163、Phe164 形成  $\pi-\pi$  相互作用; 3 位琥珀酰亚胺上的 NH 与吡啶上 7-丙酸基形成氢键, 两个羰基分别与 Ala264、Thr379 形成氢键; 这些氢键网络的形成及吲哚环与结合口袋之间的疏水相互作用, 使得该候选药物虽然没有与铁离子络合, 但仍具有较高的抑制活性<sup>[6]</sup>。

PF-06840003 是一类不与铁离子络合的 hIDO1 小分子抑制剂, 具有适宜的酶学水平抑制活性 ( $IC_{50}=0.15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )、高配体效率 ( $LE=0.53$ )、低血浆蛋白结合率 ( $f_u=0.45$ )、良好的药代性质, 可预测的半衰期为 19 h, 生物利用度为 64%, 目前正在美国开展临床

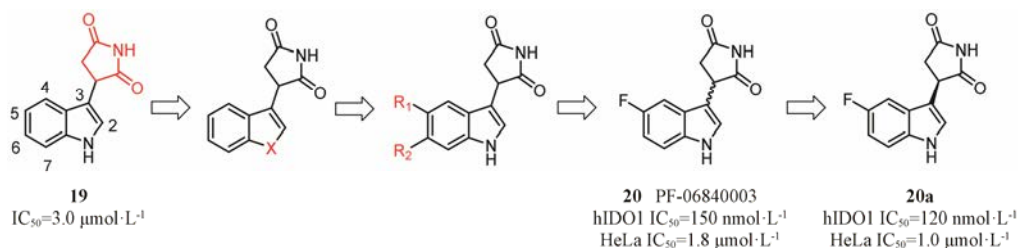
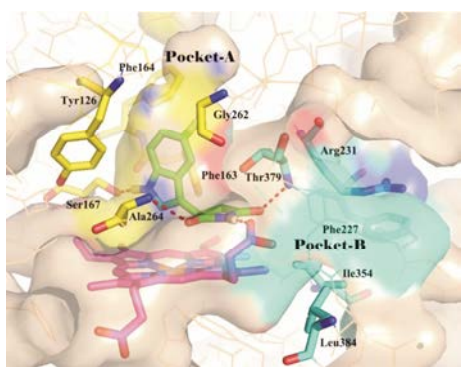


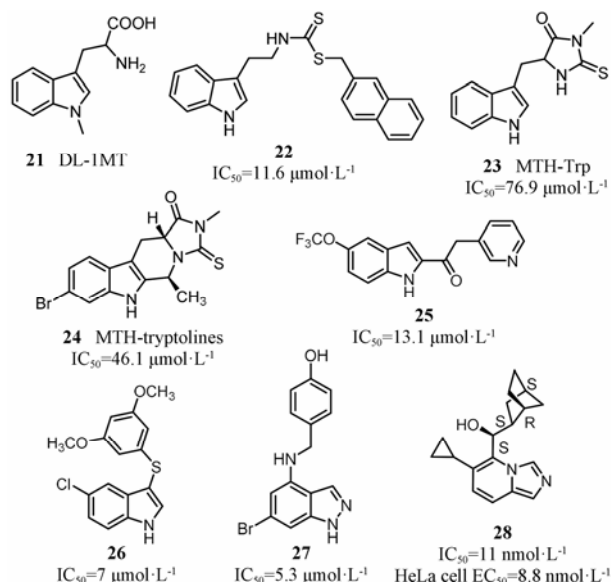
Figure 9 The optimization process of PF-0684003



**Figure 10** The binding mode of PF-06840003 with IDO1 (PDB code: 5WHR)

I 期试验, 用于治疗神经胶质瘤。

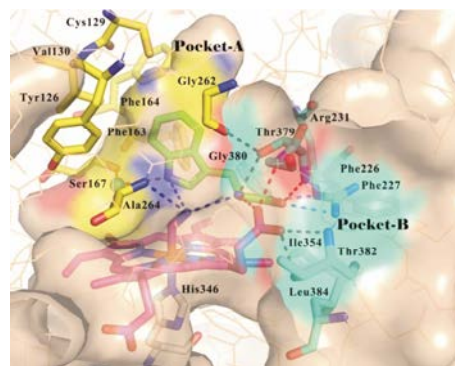
**4.3.2 Indoximod 和其他吲哚类化合物** 1991 年报道的 *DL*-1MT (图 11, 化合物 **21**)<sup>[38,39]</sup> 是弱的 IDO1 抑制剂, 手性拆分后, 发现 *L*-1MT 对 IDO1 的酶抑制浓度  $K_i$  值为  $34 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[39]</sup>, 而 *D*-1MT 对 IDO1 无抑制作用, 但体内实验结果表明, 与 *L*-1MT 相比, *D*-1MT (indoximod) 单用或者与化疗药物合用时, 具有更好的抗肿瘤活性。目前普遍认为 indoximod 的抗肿瘤机制是其可以调节色氨酸跨膜运输<sup>[40]</sup>, 另外模拟色氨酸调控 IDO1 下游信号通路, 被称为 IDO1 旁路抑制剂<sup>[41]</sup>。Indoximod 作为色氨酸的类似物, 使 T 细胞中因色氨酸减少而被抑制的 mTORC1 脱阻抑, 从而上调效应 T 细胞中的共调节受体 ICOS, 发挥免疫调节作用<sup>[42-44]</sup>。Indoximod 由 NewLink Genetic 公司开发, 目前正在进行临床 II/III 期研究, 主要与其他肿瘤免疫治疗药物 pembrolizumab 或者 nivolumab 联用, 用于治疗转移性前列腺癌、急性髓样白血病、原发性恶



**Figure 11** Some examples of indole analogs

性脑肿瘤、转移性胰腺癌、转移性乳腺癌、转移性黑色素瘤、非小细胞性肺癌等。

2017 年, Syun-Ru Yeh 课题组<sup>[7]</sup> 通过引入氰基与铁离子络合, 获得了色氨酸与 IDO1 复合物的晶体结构, 如图 12 所示, 氰基上的氮原子分别与 Ala264、吲哚 NH 及色氨酸上的氨基形成氢键相互作用。色氨酸的吲哚环占据了 A 腔, 吲哚 NH 通过一分子水介导与 Ser167 形成氢键作用。吲哚 3-位侧链伸向 B 腔, 侧链上的氨基与吡啶环的 7-丙酸基及 Thr379 形成氢键网络; 羧基通过与 Arg231 及 Thr379 形成离子键进一步稳固结合。



**Figure 12** The crystal structure of IDO1-Trp complex (PDB code: 5WUM)

众所周知, IDO1 内源性配体为色氨酸, 所以早期 IDO1 抑制剂多为吲哚或色氨酸衍生物, 如图 11 所示。这些化合物多数采用普筛方法, 获得苗头化合物, 通过结构改造, 获得抑制活性在微摩尔水平的 IDO1 抑制剂 (**22~26**)<sup>[45-50]</sup>。可能是由于多数吲哚类化合物缺少与铁离子络合的基团, 因此对 IDO1 的抑制活性均不高。此外, 将吲哚骨架用生物电子等排体咪唑 (**27**)<sup>[51,52]</sup> 或吡啶并咪唑 (**28**)<sup>[53]</sup> 替换后, 4-位引入疏水性基团伸向 B 腔, 活性有所提高, 特别是化合物 **28**, 对 IDO1 的抑制活性达到纳摩尔水平。

#### 4.4 含咪唑或三氮唑类化合物

**4.4.1 Navoximod (NLG919)** 1989 年, 4-苯基咪唑 (**29**, 4-PI,  $\text{IC}_{50}=48 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 被确认为是弱的非竞争性 IDO1 抑制剂。如图 1B 所示, 2006 年报道了 4-PI 与 IDO1 复合物的晶体结构 (2D0T)<sup>[4]</sup>, 使得该结构类型 IDO1 小分子抑制剂的研究再一次成为热点。晶体结构显示, 4-PI 占据了 IDO1 疏水性结合口袋 A 腔, 咪唑 1 位 NH 位于铁离子第六配位附近, 与铁离子络合, 苯环与 Phe163 形成  $\pi$ - $\pi$  相互作用。在该复合物晶体结构中, 两个反向平行的 CHES (2-环己胺基乙磺酸) 占据了 B 腔, 与吲哚环上的 7-丙酸基形成氢

键。该结构信息提示,可以在 4-PI 结构的基础上,引出侧链,伸向 B 腔,利用其与咪唑环上 7-丙酸基的氢键作用及 B 腔的疏水作用提高抑制剂与 IDO1 的结合强度。随后,基于复合物的晶体结构 (2D0T),多个团队<sup>[54-56]</sup>对 4-PI 进行了结构改造,可以归结为三方面:① 在咪唑的 N-1、C-2、N-3 位引入基团,占据 CHES 所在的空腔,提高活性;② 在苯环的邻、间、对位分别引入小体积的取代基,与 A 腔中的 Cys129、Ser167 产生相互作用,增强结合;③ 利用生物电子等排策略,优化铁离子络合基团。如图 13 所示,该类抑制剂构效关系结果显示:① N-3 位可以引入苄基 (30,  $IC_{50}=32 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ );② 苯环邻位引入羟基,可与 Ser167 形成氢键,显著提高活性 (31,  $IC_{50}=4.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ );③ 咪唑、三氮唑 (32,  $IC_{50}=86 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )<sup>[56]</sup>可以与铁离子络合。在化合物 32 的基础上,对三氮唑类化合物的苯环上取代基进行结构优化,获得 IDO1 抑制剂 33,抑制活性在  $1\times 10^{-7} \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  水平,  $IC_{50}$  值为  $0.33 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

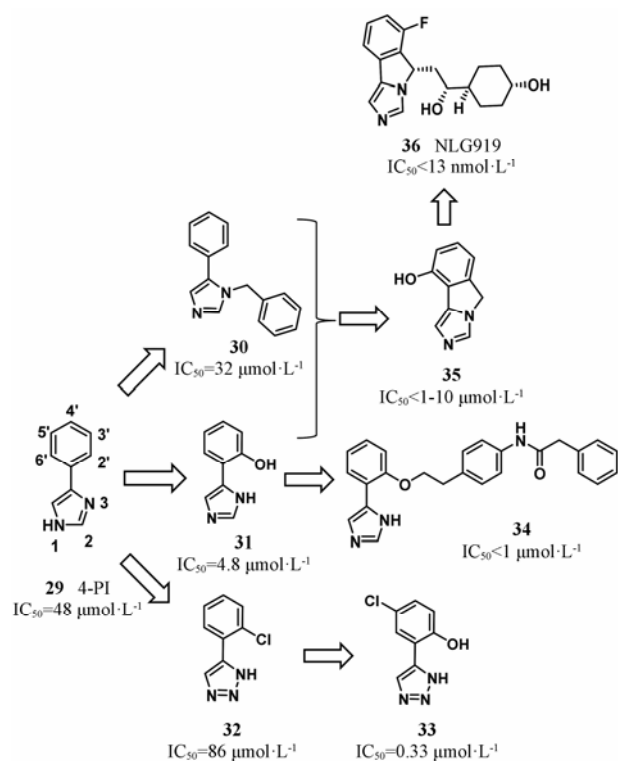


Figure 13 The optimization process of navoximod

在咪唑类 IDO1 小分子抑制剂的结构改造中, NewLink 公司做了很多尝试。在确定咪唑 N-3 和苯环 2'位可以引入基团后<sup>[55]</sup>,在 2'位通过氧原子引入脂肪性或芳香性含杂原子的疏水性侧链 (34,  $IC_{50}<1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),通过增强在 B 腔的结合来提高活性;同时尝试将 N-3 位与 2'位通过稠环连接,合成三环类化

合物 35,  $IC_{50}$  值在  $1\sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 活性得到保留<sup>[58]</sup>。在三环骨架上,引入侧链,伸向 B 腔<sup>[59]</sup>,结构优化后,获得候选药物 navoximod (36,  $IC_{50}=13 \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。Navoximod 小鼠口服给药时,可使血浆和组织中的犬尿氨酸浓度下降 50%,同时可以促进效应 T 细胞的增殖,使肿瘤体积减少。在重复给药毒性实验中,连续给药 28 天,每天给药两次,剂量为  $80 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,无明显毒副作用<sup>[60]</sup>。2014 年,罗氏制药公司旗下的 Genetech 与 NewLink 公司签署协议合作开发 navoximod,遗憾的是,navoximod 联合紫杉烷类化疗药(多西紫杉醇或紫杉醇)治疗转移性乳腺癌 II 期临床研究结果并不理想。数据显示,与紫杉烷单用相比,navoximod 联合紫杉烷化疗在无进展生存期、总生存期、客观缓解率方面均未表现出统计学显著性差异。2016 年 Wu Su-Ying 及其团队<sup>[61]</sup>获得了 NLG919 类似物与 IDO1 复合物的晶体结构(图 14, PDB code: 5EK3)。从该结构中可以看出,异咪唑并咪唑环占据了结合口袋的 A 腔,咪唑的 N 原子与铁离子络合,环己烷伸向 B 腔,与周围氨基酸形成疏水作用。侧链上的羟基与异咪唑上的 N 原子形成分子内氢键,同时与 7-丙酸基形成氢键网络。分子内氢键的形成,对于稳定构象、提高活性及改善化合物的理化性质发挥着重要的作用。当用羰基代替羟基或者将五元环替换成六元环,不能形成分子内氢键,化合物的抑制活性显著降低甚至消失。该化合物含有两个手性中心,为 4 个立体异构体的混合物。手性拆分后,分别测试异构体的活性,发现异咪唑环上 C-1 位为 S 构型的两个异构体具有较

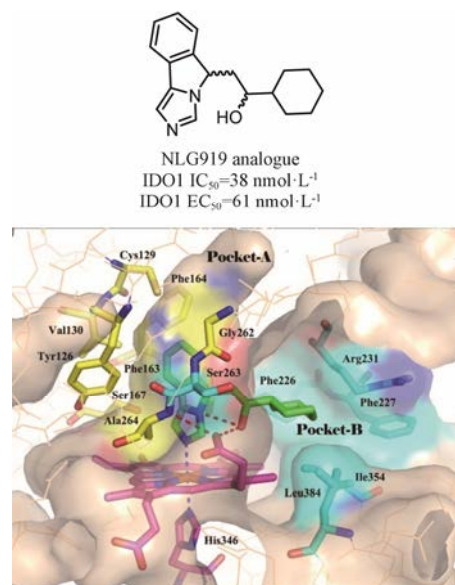


Figure 14 The binding mode of NLG919 analogue with IDO1 (PDB code: 5EK3)

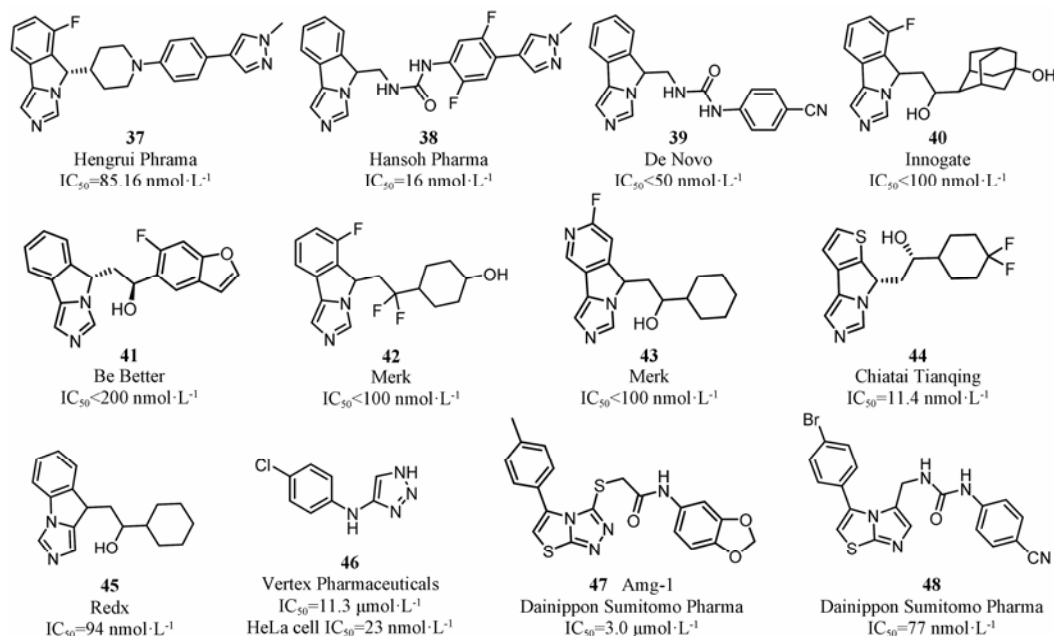


Figure 15 Some examples of imidazole and triazole IDO1 inhibitors

强的抑制活性，这与晶体结构的解析结果一致。

**4.4.2 其他咪唑及三氮唑类 IDO1 抑制剂** 随着 navoximod 进入 I 期临床研究，该类化合物的衍生物也相继出现。对伸向 B 腔的疏水性基团及三环骨架进行结构改造，获得了新结构的高活性 IDO1 小分子抑制剂 (图 15, 37~45)<sup>[62-67]</sup>。其中 37~42 是维持三环骨架不变，改造深入 B 腔的环己基及中间连接基团，伸向 B 腔的大体积的疏水性基团可以是脂肪环或者芳环，允许较大的结构变换，有利于提高化合物的结构新颖性和药代性质。化合物 43~45 则主要对三环骨架进行改造，苯环替换成吡啶<sup>[65]</sup>、噻吩<sup>[66]</sup>或者改变咪唑环上 N 原子的位置<sup>[64]</sup>均得到了较强抑制活性的 IDO1 抑制剂。

4-氨基三氮唑化合物 46 (图 15) 是一个新结构骨架的 IDO1 抑制剂，在细胞水平具有显著的抑制活性。如图 16 所示，其与 IDO1 复合物的晶体结构 (PDB

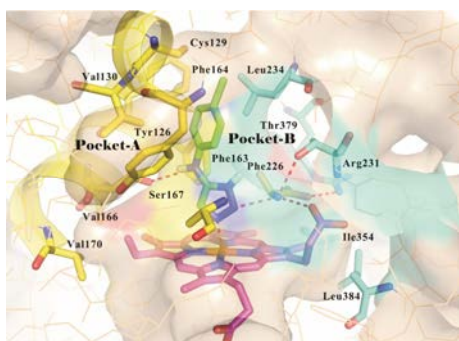
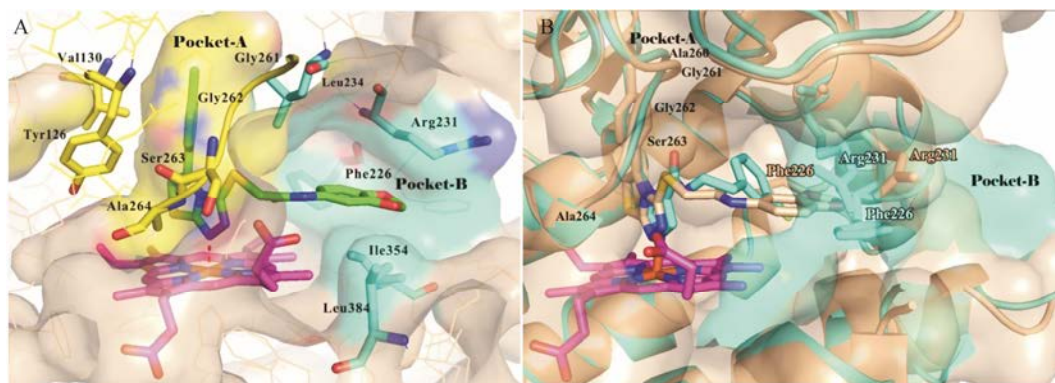


Figure 16 The binding mode of 4-aminotriazole 46 with IDO1 (PDB code: 6F0A)

code: 6F0A) 显示，化合物 46 的结合模式与 4-PI 类似，主要占据 A 腔，对氯苯基与周围氨基酸 Tyr126、Cys129、Val130、Gly262、Phe164 等形成疏水相互作用，三氮唑 1-位 N 与卟啉环上铁离子络合，4-位氨基与 Ser167 形成氢键作用。化合物 46 细胞活性较酶学活性高出近 500 倍，主要是由于化合物 46 与 IDO1 的  $\text{Fe}^{2+}$  会缓慢的形成稳固的结合，解离速度慢。相较于酶学水平实验，细胞水平实验具有适宜的 pH、较长的孵育时间及还原性的环境，使化合物 46 与 IDO1 的  $\text{Fe}^{2+}$  形成牢固的结合<sup>[68]</sup>。

2014 年日本住友制药有限公司 (Dainippon Sumitomo Pharma Co, Ltd.) 报道了化合物 47 (图 15, Amg-1) 与 IDO1 复合物的晶体结构 (图 17A, PDB code: 4PK5)<sup>[69]</sup>。其噻唑并三氮唑环上的氮原子与铁离子络合，对甲基苯基占据了 A 腔，酰胺键延伸出的侧链亚甲二氧基苯基占据了 B 腔，与关键氨基酸 Phe226 和 Arg231 形成相互作用。由于配体的碱性对形成金属络合物至关重要，当采用咪唑代替三氮唑，提高化合物的碱性，侧链仍采用 4 个原子长度的刚性连接基团，优化得到化合物 48 (图 15,  $IC_{50}=77 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )，活性提高近 40 倍，伸向 B 腔的苯环与 Phe226 形成  $\pi$ - $\pi$  相互作用，4 位的氰基与 Arg231 形成静电相互作用。如图 17B 所示，与化合物 48 和 IDO1 复合物的晶体结构 (PDB code: 4PK6) 相比，化合物 47 以完全不同于化合物 48 的延展构象结合于 B 腔，IDO1 的结合口袋呈现了明显的诱导契合，主要表现在 Ala260-Ser263



**Figure 17** (A) The binding mode of Amg-1 with IDO1 (PDB code: 4PK5); (B) Superposition of 4PK5 (gold) and 4PK6 (blue)

链的移动及 Phe226 和 Arg231 侧链的摆动, 导致结合口袋 B 腔形状和大小明显改变。

#### 4.5 其他 IDO1 抑制剂

除上述进入临床研究阶段的 IDO1 抑制剂外, 还有其他结构类型多样的 IDO1 抑制剂被报道 (图 18)。其中苯磺酰肼化合物 **49** 是通过对苯基咪唑 4-PI 的结构优化得到的, 是一个活性、选择性和口服生物利用度等性质均较优的 IDO1 抑制剂<sup>[70, 71]</sup>。化合物 **50** 是复旦大学通过高通量筛选获得的活性较好的 1-茛酮类抑制剂, 结构改造发现去除或改变酮羰基的位置会使抑制活性降低, 推测 1-茛酮类化合物的酮羰基可能与 IDO1 的血红素中心  $\text{Fe}^{2+}$  配合<sup>[72]</sup>。色胺酮衍生物 **51** 在酶和细胞 IDO1 抑制试验、T 细胞增殖试验、表面等离子体共振结合试验、Lewis 肺癌肿瘤小鼠试验中均显示活性<sup>[73]</sup>。澳大利亚悉尼新南威尔士大学的 Andrew 课题组推测消炎镇痛药依布罗啉 **52** 通过与 IDO1 蛋白上的多个半胱氨酸残基形成硒硫共价键结合, 降低 IDO1 蛋白的螺旋含量和稳定性, 进而抑制 IDO1 酶活性<sup>[74]</sup>。氨基腈类化合物 **53**<sup>[75]</sup>和二氮

基取代咪喃吡啶化合物 **54**<sup>[76]</sup>均由 Curadev 制药公司研发, 是同时作用于 IDO1、IDO2、TDO 的多靶点抑制剂。

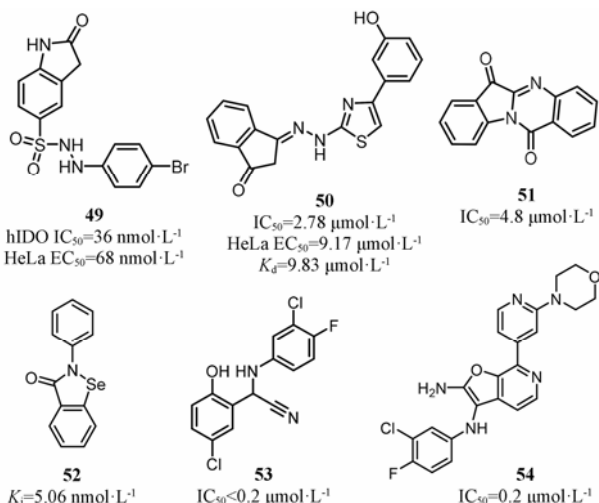
#### 5 总结与展望

IDO1 通过调控色氨酸代谢途径, 影响肿瘤微环境中效应 T 细胞和免疫耐受调节性 T 细胞的凋亡与功能, 进而帮助肿瘤细胞逃脱免疫系统的杀伤。因此, IDO1 在肿瘤细胞的免疫逃逸中发挥着重要作用, IDO1 是一个潜在的肿瘤免疫治疗药物靶标。IDO1 蛋白与其抑制剂复合物晶体结构的解析为基于结构的药物分子设计提供了结构基础。IDO1 的结合腔主要包括 A、B 两个疏水性结合腔和 A 腔底部与血红素中铁离子络合的位点。IDO1 蛋白结合口袋存在诱导契合现象, 尤其是 B 腔随着抑制剂形状和体积的改变, B 腔的形状和体积会有较大的改变。这种诱导契合的存在, 既为设计结构多样的小分子抑制剂带来了机遇, 同时也是获得高活性 IDO1 小分子抑制剂的难点所在。值得关注的是, BMS-986205 与不含有亚铁血红素的 IDO1 结合, 这种结合方式为设计新结构的小分子抑制剂提供了另一种选择。

到目前为止, 已报道了多种结构类型的 IDO1 小分子抑制剂, 并且有多个候选药物进入临床研究。遗憾的是, 最近报道的 IDO1 抑制剂的临床试验结果并不理想, 这也提示 IDO1 抑制剂及其作用机制的研究还有待进一步探索。发现新结构类型、新作用模式的 IDO1 抑制剂, 既可为肿瘤免疫治疗机制研究提供物质基础, 也可能为靶向 IDO1 的肿瘤免疫治疗带来新的突破。

#### References

- [1] van Baren N, Van den Eynde BJ. Tryptophan-degrading enzymes in tumoral immune resistance [J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 1–9.



**Figure 18** Other IDO1 inhibitors with various scaffolds

- [2] King NJ, Thomas SR. Molecules in focus: indoleamine 2,3-dioxygenase [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39: 2167–2172.
- [3] Ball HJ, Sanchez-Perez A, Weiser S, et al. Characterization of an indoleamine 2,3-dioxygenase-like protein found in humans and mice [J]. *Gene*, 2007, 396: 203–213.
- [4] 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.
- [5] Littlejohn TK, Takikawa O, Truscott RJ, et al. Asp274 and his346 are essential for heme binding and catalytic function of human indoleamine 2,3-dioxygenase [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 29525–29531.
- [6] 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 (EOS200271/PF-06840003) and its characterization as a potential clinical candidate [J]. *J Med Chem*, 2017, 60: 9617–9629.
- [7] Lewis-Ballester A, Pham KN, Batabyal D, et al. Structural insights into substrate and inhibitor binding sites in human indoleamine 2,3-dioxygenase 1 [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 1693–1701.
- [8] Tomek P, Palmer BD, Flanagan JU, et al. Discovery and evaluation of inhibitors to the immunosuppressive enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1): probing the active site-inhibitor interactions [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 126: 983–996.
- [9] Munn DH, Shafizadeh E, Attwood JT, et al. Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism [J]. *J Exp Med*, 1999, 189: 1363–1372.
- [10] Munn DH, Mellor AL. Indoleamine 2,3 dioxygenase and metabolic control of immune responses [J]. *Trends Immunol*, 2013, 34: 137–143.
- [11] Pietra G, Vitale M, Moretta L, et al. How melanoma cells inactivate NK cells [J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1: 974–975.
- [12] Wang D, Saga Y, Mizukami H, et al. Indoleamine-2,3-dioxygenase, an immunosuppressive enzyme that inhibits natural killer cell function, as a useful target for ovarian cancer therapy [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40: 929–934.
- [13] Fallarino F, Grohmann U, Hwang KW, et al. Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells [J]. *Nat Immunol*, 2003, 4: 1206–1212.
- [14] Hornyak L, Dobos N, Koncz G, et al. The role of indoleamine-2,3-dioxygenase in cancer development, diagnostics, and therapy [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 151.
- [15] Prendergast GC, Malachowski WP, DuHadaway JB, et al. Discovery of IDO1 inhibitors: from bench to bedside [J]. *Cancer Res*, 2017, 77: 6795–6811.
- [16] Cheong JE, Sun L. Targeting the IDO1/TDO2-KYN-AhR pathway for cancer immunotherapy – challenges and opportunities [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2018, 39: 307–325.
- [17] Dinatale BC, Murray IA, Schroeder JC, et al. Kynurenic acid is a potent endogenous aryl hydrocarbon receptor ligand that synergistically induces interleukin-6 in the presence of inflammatory signaling [J]. *Toxicol Sci*, 2010, 115: 89–97.
- [18] Opitz CA, Litzenburger UM, Sahm F, et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor [J]. *Nature*, 2011, 478: 197–203.
- [19] Nguyen NT, Kimura A, Nakahama T, et al. Aryl hydrocarbon receptor negatively regulates dendritic cell immunogenicity via a kynurenine-dependent mechanism [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107: 19961–19966.
- [20] Cheong JE, Ekkati A, Sun L. A patent review of IDO1 inhibitors for cancer [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2018, 28: 317–330.
- [21] Weng T, Qiu X, Wang J, et al. Recent discovery of indoleamine-2,3-dioxygenase 1 inhibitors targeting cancer immunotherapy [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 143: 656–669.
- [22] 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.
- [23] Xu YY, Wu JJ. Advances in the development of IDO1 inhibitors [J]. *Chin J New Drugs (中国新药杂志)*, 2016, 25: 425–432.
- [24] Cheng YL, Men JX, Zhou JP, et al. Advances in indoleamine 2,3-dioxygenase 1 inhibitors [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2017, 48: 361–370.
- [25] 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.
- [26] Yue EW, Douty B, Wayland B, et al. Discovery of potent competitive inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase with *in vivo* pharmacodynamic activity and efficacy in a mouse melanoma model [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 7364–7367.
- [27] 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.
- [28] Wang ZY, Guo W, Zhu JD. Indoleamine-2,3-dioxygenase inhibitor and preparation method therefor: CN, 089666 [P]. 2016-03-24.
- [29] Lv HJ, Gui B, Dong Q, et al. Sulfamyl-containing 1,2,5-oxadiazole derivative, preparation method therefor and use

- thereof in pharmaceuticals: CN, 076975 [P]. 2016-10-06.
- [30] Yang FL, Gui B, Hu QY, et al. Hydroxy amidine derivative, preparation method and use in medicine thereof: CN, 093584 [P]. 2017-02-16.
- [31] Bartlett MJ, Codelli JA, Corkey BK, et al. Benzimidazole and imidazopyridine carboximidamide compounds: US, 1515357 [P]. 2016-11-17.
- [32] 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.
- [33] Jaen JC, Osipov M, Powers JP, et al. Immunoregulatory agents: US, 034449 [P]. 2015-12-10.
- [34] Beck HP, Jaen JC, Osipov M, et al. Immunoregulatory agents: US, 059311 [P]. 2016-05-12.
- [35] Beck HP, Jaen JC, Osipov M, et al. Immunoregulatory agents: US, 059316 [P]. 2016-05-12.
- [36] Beck HP, Jaen JC, Osipov M, et al. Immunoregulatory agents: US, 059271 [P]. 2016-05-12.
- [37] 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.
- [38] Cady SG, Sono M. 1-Methy-*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.
- [39] Muller AJ, Malachowski WP, Prendergast GC. Indoleamine 2,3-dioxygenase in cancer: targeting pathological immune tolerance with small-molecule inhibitors [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2005, 9: 831–849.
- [40] Kudo Y, Boyd C. The role of 1-tryptophan transport in 1-tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase in human placental explants [J]. *J Physiol*, 2001, 531: 417–423.
- [41] Metz R, Rust S, Duhadaway JB, et al. IDO inhibits a tryptophan sufficiency signal that stimulates mTOR: a novel IDO effector pathway targeted by *D*-1-methyl-tryptophan [J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1: 1460–1468.
- [42] Fu T, He Q, Sharma P. The ICOS/ICOSL pathway is required for optimal antitumor responses mediated by anti-CTLA-4 therapy [J]. *Cancer Res*, 2011, 71: 5445–5454.
- [43] Xie DL, Wu J, Lou YL, et al. Tumor suppressor TSC1 is critical for T-cell energy [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 14152–14157.
- [44] Colwell J. Indoximod combo triggers responses in melanoma [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7: 542–543.
- [45] Caspari P, Banerjee T, Malachowski WP, et al. Structure-activity study of brassinin derivatives as indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2006, 49: 684–692.
- [46] Muller AJ, DuHadaway JB, Donover PS, et al. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase, an immunoregulatory target of the cancer suppression gene Bin1, potentiates cancer chemotherapy [J]. *Nat Med*, 2005, 11: 312–319.
- [47] Tanaka M, Li X, Hikawa H, et al. Synthesis and biological evaluation of novel tryptoline derivatives as indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21: 1159–1165.
- [48] Dolusic E, Larrieu P, Blanc S, et al. Indol-2-yl ethanones as novel indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2011, 19: 1550–1561.
- [49] Dolusic E, Larrieu P, Blanc S, et al. Discovery and preliminary SARs of keto-indoles as novel indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2011, 46: 3058–3065.
- [50] Coluccia A, Passacantilli S, Famigliani V, et al. New inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase 1: molecular modeling studies, synthesis, and biological evaluation [J]. *J Med Chem*, 2016, 59: 9760–9773.
- [51] Qian S, He T, Wang W, et al. Discovery and preliminary structure-activity relationship of 1*H*-indazoles with promising indoleamine-2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibition properties [J]. *Bioorg Med Chem*, 2016, 24: 6194–6205.
- [52] Qian S, Wang ZY, Yang LL, et al. 1*H*-indazole derivative and use thereof as IDO inhibitor: CN, 099845 [P]. 2017-08-10.
- [53] Wang H, Zhang G, Guo Y, et al. Novel 5 or 8-substituted imidazo[1,5-*a*]pyridines as indoleamine and/or tryptophane 2,3-dioxygenases: US, 078787 [P]. 2016-10-13.
- [54] Kumar S, Jaller D, Patel B, et al. Structure based development of phenylimidazole-derived inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 4968–4977.
- [55] Mautino MR, Kumar S, Jaipuri F, et al. IDO inhibitors: US, 041609 [P]. 2009-10-29.
- [56] Huang Q, Zheng M, Yang S, et al. Structure-activity relationship and enzyme kinetic studies on 4-aryl-1*H*-1,2,3-triazoles as indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2011, 46: 5680–5687.
- [57] Rohrig UF, Majjigapu SR, Grosdidier A, et al. Rational design of 4-aryl-1,2,3-triazoles for indoleamine 2,3-dioxygenase 1 inhibition [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 5270–5290.
- [58] Mautino MR, Kumar S, Jaipuri F, et al. Imidazole derivatives as IDO inhibitors: US, 054289 [P]. 2011-05-12.
- [59] Mautino M, Kumar S, Waldo J, et al. Fused imidazole derivatives useful as IDO inhibitors: US, 033245 [P]. 2012-10-18.
- [60] Mautino MR, Jaipuri FA, Waldo J, et al. NLG919, a novel indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO)-pathway inhibitor drug

- candidate for cancer therapy [J]. *Cancer Res*, 2013, 73: 491.
- [61] 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.
- [62] Li Q, Gao D. Fused-ring compounds, pharmaceutical composition and uses thereof: CN, 073260 [P]. 2016-08-25.
- [63] Zhang H, Liu S. Heterocycles useful as IDO and TDO inhibitors: CN, 079104 [P]. 2016-10-20.
- [64] Armer R, Bingham M, Pesnot T, et al. 4*H*-Imidazo[1,5-*a*]indole derivatives and their use as indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) and/or tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO2) modulators: GB, 052868 [P]. 2016-04-07.
- [65] Sherer BA. Cyclohexyl-ethyl substituted diaza- and triaza-tricyclic compounds as indole-amine-2,3-dioxygenase (IDO) antagonists for the treatment of cancer: US, 048474 [P]. 2016-03-10.
- [66] Liu SL, Wang DH, Liang GB, et al. Tricyclic compound serving as immunomodulator: CN, 074141 [P]. 2017-08-24.
- [67] Tu WY, Xu GJ, Zhang HT, et al. Imidazo isoindole derivative, preparation method therefor and medical use thereof: CN, 079054 [P]. 2016-10-27.
- [68] Alexandre JAC, Swan MK, Latchem MJ, et al. New 4-amino-1,2,3-triazole inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase form a long-lived complex with the enzyme and display exquisite cellular potency [J]. *Chembiochem*, 2018, 19: 552–561.
- [69] 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.
- [70] Cheng MF, Hung MS, Song JS, et al. Discovery and structure-activity relationships of phenyl benzenesulfonylhydrazides as novel indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24: 3403–3406.
- [71] 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.
- [72] Gao D, Li Y. Identification and preliminary structure-activity relationships of 1-indanone derivatives as novel indoleamine-2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2017, 25: 3780–3791.
- [73] Williams DE, Steino A, de Voogd NJ, et al. Halicloic acids A and B isolated from the marine sponge *Haliclona* sp. collected in the Philippines inhibit indoleamine 2,3-dioxygenase [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75: 1451–1458.
- [74] Terentis AC, Freewan M, Sempertegui Plaza TS, et al. The selenazal drug ebselen potently inhibits indoleamine 2,3-dioxygenase by targeting enzyme cysteine residues [J]. *Biochemistry*, 2010, 49: 591–600.
- [75] Banerjee M, Middya S, Shrivastava R, et al. Aminonitriles as kynurenine pathway inhibitors: IB, 059705 [P]. 2014-09-18.
- [76] Banerjee M, Middya S, Shrivastava R, et al. Inhibitors of the kynurenine pathway: US, 024920 [P]. 2014-11-20.