组蛋白去乙酰化酶抑制剂研究进展

谭玉梅, 黄文渊, 余聂芳*

(中南大学药学院分子设计与药物发现研究所, 湖南 长沙 410013)

摘要: 组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDACs)作为调控基因的关键蛋白酶, 其功能异常被证实与肿瘤的发生和发展有直接关系。通过对 HDAC 功能的抑制调节, 可以达到治疗肿瘤的目的。组蛋白去乙酰化酶抑制剂的作用机制已得到广泛研究, 已开发出各种组蛋白去乙酰化酶抑制剂。按结构类型, 组蛋白去乙酰化酶抑制剂大致可以分为: 异羟肟酸类化合物 (hydroxamic acid)、环状四肽类化合物、脂肪酸盐类化合物、苯甲酰胺类化合物和亲电酮类化合物等。本文对组蛋白去乙酰化酶抑制剂的各类结构及构效关系作一综述。

关键词: 组蛋白; HDAC 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 (2009) 10-1072-12

Structure-activity relationships of histone deacetylase inhibitors

TAN Yu-mei, HUANG Wen-yuan, YU Nie-fang*

(*Institute of Molecular Design and Drug Discovery, School of Pharmaceutical Science, Central South University, Changsha 410013, China*)

Abstract: Among those enzymes that regulate gene expression, histone deacetylases (HDACs) play important roles in cell cycles. Extensive studies were carried out in the field of HDACs and the applications of HDAC inhibitors (HDACIs) as chemotherapeutic interventions for diverse diseases. HDACIs have moved from laboratories to clinic uses. Huge bodies of related research results were well documented and dispersed in literature. According to our understanding, HDACIs can be broadly classified as hydroxamic acids, cyclic tetrapeptides, short chain fatty acids, benzamides and electrophilic ketones. Herein, we are going to review the design and their structure-activity relationships of HDACIs and according to their structural catalogs.

Key words: histone; HDAC inhibitor; structure-activity relationship

癌症是威胁人类健康的主要疾病之一。肿瘤的发病涉及到多种因素多个步骤的病理过程。研究表明, 肿瘤的发生与核小体核心组蛋白 N-端的赖氨酸残基的乙酰化和去乙酰化的失衡有着密切的关系。组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDACs) 抑制剂通过调节组蛋白 N-端的赖氨酸残基的乙酰化和去乙酰化, 激活抑癌基因, 抑制癌症基因, 从而抑制肿瘤细胞生长, 诱导肿瘤细胞凋亡[1]。

真核生物中, 染色质的基本单位是核小体 (图 1)。核小体由八聚体的核心组蛋白 (由一对 H_3-H_4 组成的四聚体、两个 H_2A-H_2B 二聚体呈两层对称排列)、

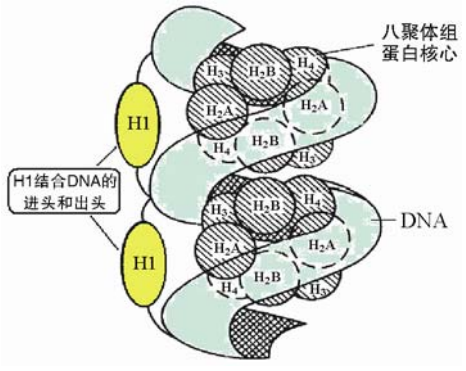


Figure 1　Nucleosome

收稿日期: 2009-03-02.
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30772645, 30873137).
*通讯作者 Tel / Fax: 86-731-2650458, E-mail: niefang_yu@yahoo.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

一段 146 个碱基对组成的 DNA 片段、组蛋白 H_1 和非组蛋白共同组成。核心组蛋白有两个结合区域: C-端疏水氨基酸位于核小体的内部; N-端的赖氨酸残基延伸出核小体外。染色质修饰酶可以对这些突出的 N-端进行修饰, 这种修饰包括位点特异性的磷酸化、乙酰化、甲基化和泛蛋白化等。

组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (histone deacetylase inhibitors, HDACIs) 已经成为抗肿瘤药物研究的热点, 其设计、合成已有较多的报道[2, 3]。本文将首先对组蛋白乙酰化酶 (histone acetyltransferase, HAT) 及 HDAC 做简单介绍, 然后着重针对 HDAC 抑制剂的结构类型及相应的构效关系进行综述。

1 HAT 和 HDAC

研究发现, 肿瘤的发生与核小体核心组蛋白 N-端的赖氨酸残基的乙酰化和去乙酰化的失衡有密切关系。在体内, 其动态平衡是由 HAT 和 HDAC 共同维持。它们分别通过催化组蛋白 N 端赖氨酸残基的乙酰化和去乙酰化, 改变核小体中碱性蛋白与 DNA 链之间的静电吸引力, 从而调节核小体之间的聚集状态, 激活或者抑制基因转录过程 (图 2)。在染色质基因转录活跃区, 其核心组蛋白的乙酰化活性增高; 相反, 在基因转录非活跃区, 其乙酰化程度偏低。

1.1 HAT 组蛋白乙酰化酶 (HAT) 对 H_3 与 H_4 组蛋白的氨基末端区域诸多赖氨酸残基的乙酰化能降低整个核小体对 DNA 的亲和性, 乙酰化还能促进或防止与其他转录或调节相关蛋白的相互作用。根据来源和功能, HAT 主要有两种: HAT-A 和 HAT-B, 前者存在于核中并参与基因表达调控, 后者存在于细胞质中并参与新合成的核心组蛋白的乙酰化。根据 HATs 的结构特点, 又可将其分为几个大的家族, 如 GNAT 家族 (Gcn5-related N-acetyltransferase), MYST 家族 (MOZ, Ybf2 / Sas3, Sas2 和 Tip60 等) 和 p300/CBP 等。组蛋白乙酰转移酶复合物参与转录激活、基因沉默、细胞周期调控、DNA 复制、修复以及染色体组装等许多重要的生理过程[4, 5]。

1.2 HDAC HDAC 是在当一个基因的转录不再需要时, 作为基因沉默过程的一部分, 随即发挥作用, 从而减少核小体的乙酰化, 使染色质恢复转录非活性状态。根据与酵母中组蛋白的同源性, 人类中 HDAC 家族可以分为三类: I 类包括 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8, 只存在于细胞核中; II 类包括 HDAC4、HDAC5、HDAC6、HDAC7、HDAC9、HDAC10 和 HDAC11, 在信号转导过程中穿梭于细胞核与细胞质之间, 其中 HDAC11 包含有 I 类和 II 类 HDACs 的催化位点; III 类与前 2 类有很大的区别, 其活性不是依赖 Zn^{2+}, 而是依赖辅酶 I (NAD), 与酵母的 Sir2 同源, 至少有 7 种亚型, 它不能被 I、II 类 HDAC 抑制剂所抑制[6, 7]。

2 HDACI

HDACI 的抗癌作用是通过多方面途径获得的: ① 调节平衡凋亡基因, 控制细胞凋亡; ② 诱导活性氧类产生; ③ 阻止血管生成。HDAC 抑制剂的金属结合区应能很好的与活性部位的锌离子直接作用、与组氨酸和酪氨酸等形成氢键, 连接区则恰好和狭窄的囊充分接触, 表面识别区应适宜与囊的边缘残基紧密接触。抑制剂与活性部位锌离子的直接作用是产生抑制活性所必须的[8]。

表 1 中列出了 11 种化合物/基团与锌离子结合能量。结合能越低, 理论上应该越易结合。这些数据为设计合成该类新化合物、寻找新的药效基团提供参考依据。

不过, 根据作者的实际经验, 上述计算结果与实际情况有一定的距离。在作者所设计合成的 HDACIs 中, 以异羟肟酸作为锌结合部的衍生物的酶结合活

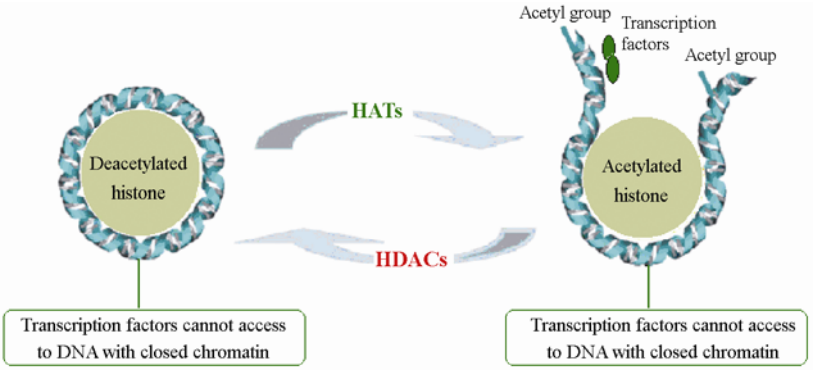
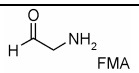
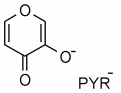
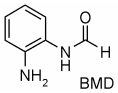
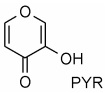


Figure 2 Acetylation and deacetylation of histone proteins regulate gene expression. HATs through acetylation allows transcription and gene expression; while HDACs through deacetylation can prevent transcription and gene expression

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Table 1　Calculated binding energies for 11 ligands (in kcal·mol^{-1}) relative to water ligand[9]

Ligand	ΔG	Ligand	ΔG
CH_3SH	10.6	 FMA	−0.1
CH_2O	9.8		−1.4
$HCONH_2$	2.1	CH_3S^-	−22.9
HCO_2H	3.5	 PYR$^-$	−20.3
 BMD	3.3		−25.0
 PYR	1.5		

性较强。以苯甲酰胺作为锌结合部所得衍生物的酶抑制活性较弱, 但其肿瘤细胞生长的抑制活性较强。

2.1　异羟肟酸 (hydroxamic acid)　异羟肟酸类化合物是现今研究较为广泛的一类 HDAC 抑制剂, 其抑酶作用较强, 结构也比较简单。异羟肟酸类 HDAC 抑制剂由环、脂肪链和异羟肟酸三部分组成, 它们分别为表面识别区、连接区和金属结合区 (锌结合区) (图 3)。

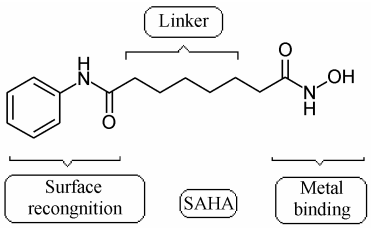


Figure 3　Schematic segmentation of the hydroxamic acid

这类化合物的典型代表有曲古抑菌素 (trichostatin A, TSA)、SAHA (suberoylanilide hydroxamic acid)、NVP-LAQ824、Pyroxamide、CBHA、Oxamflatin、Scriptaid、MM232 等。

在结构上, TSA (图 4) 与 SAHA 比较相似, 但是, TSA 对 HDAC 的抑制活性则要强得多。它们最大的不同在于 TSA 连接区含有双烯和一个 *R* 型甲基。不过, 研究人员发现双烯和 *R* 型甲基并不是导致活性提高的原因。TSA 的表面识别区芳胺环能与酶囊氨基酸残基相作用也可能是活性高的关键之一[10]。

将异羟肟酸类化合物的金属结合区分成 A 和 B 两部分 (图 5), 然后对 A 和 B 分别改造, 研究其对活性的贡献, 寻找结构优化的方向, 以发现活性更强的衍生物, 这是异羟肟酸抑制剂的主要研究方向之一。

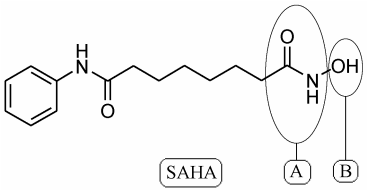
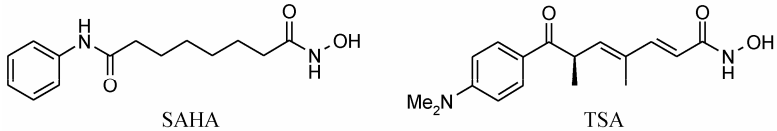


Figure 5　Schematic segmentation of the SAHA

首先, 对异羟肟酸类化合物的金属结合区 A 部分进行研究。把 SAHA (HDACs, IC_{50} = 0.37 μmol·L^{-1}) A 部分的酰胺基换成硫代酰胺基, 所得化合物 **3** (HDACs, IC_{50} > 10 μmol·L^{-1}) 的抑酶活性下降 25 倍。化合物 **5** (HDACs, IC_{50} = 2.44 μmol·L^{-1}) 转化成 **6** (HDACs, IC_{50} = 13.3 μmol·L^{-1}), 同样也是将金属结合区 A 部分的氧羰基换成硫羰基, 化合物 **6** 的抑酶活性比 **5** 下降近 6 倍。由此可见, 金属结合区 A 部分为氧酰胺时比硫酰胺更易与金属离子螯合。SAHA 金属结合区 A 部分酰胺基的亚胺基与另一侧的亚甲基交换位置, 所得化合物 **4** (HDACs, IC_{50} > 40 μmol·L^{-1}) 的抑酶活性大幅下降 (大于 100 倍); 若是 A 部分酰胺基的亚胺基直接被亚甲基取代, 抑酶活性也会下降, 如 SAHA 与化合物 **7** (HDACs, IC_{50} > 40 μmol·L^{-1}) 比较, **7** 的活性下降了 100 倍。再通过比较 **8** (HDACs, IC_{50} = 0.15 μmol·L^{-1}) 与 **5** 的结构和抑酶活性, 不难发现 A 部分的酰胺中的 N 在靠 B 部分一侧时, 化合物抑酶活性是增强的; N 被 C 取代时, 抑酶活性下降; N 在远离 B 部分一侧时, 抑酶活性减弱更多。显然, 异羟肟酸类化合物中金属结合区 A 部分的酰胺 N 上孤电子对在该部分与金属离子结合时起了不可忽略的作用。

异羟肟酸类化合物在与金属离子螯合时, 金属结合区的 B 部分作为螯合的另一臂, 其结构对整个化合物的生物活性有着巨大影响。将化合物的金属结



SAHA　　TSA

1　　**2**

Figure 4　Chemical structures of SAHA and TSA

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

合区 B 部分的羟基转换成巯基时, 活性将发生质的变化, 如由 **4** 的 B 部分转换后得到的化合物 **5** 的抑酶活性相对提高了 15 倍, 而由化合物 **7** 变化 B 部分后, 得到化合物 **8**, 相应的抑酶活性也明显提高。由此可知, 巯基与羟基相比, 作为金属结合区效果更佳。但巯基可能化学稳定性相对较差, 它的衍生物的结构对活性也存在着一定的影响: 化合物 **5** 中 B 部 分的巯基换成乙酰硫基, 所得化合物 **10** (HDACs, IC_{50} = 20.1 μmol·L^{-1}) 抑酶活性下降; 但是, 如果将 B 部分为 α-巯基酮的化合物 **8** 转换成 B 部分为 α-乙酰硫基酮的化合物 **9** (HDACs, IC_{50} = 0.081 μmol·L^{-1}), 抑酶活性又是增长的。通过结构分析认为, 酮羰基与乙酰硫基在与金属络合时可能存在协同作用。若 B 区巯基上的硫甲基化, 也会影响到巯基与金属离子螯合力, 抑酶活性下降, 如化合物 **11** 比 **8** 抑酶活性下降了 250 倍。

金属结合区的酮羰基若被还原成醇, 整个金属结合区为 1 个邻二醇, 化合物的抑酶活性同样会降低, 如化合物 **7** 还原成 **12** (HDACs, IC_{50} > 40 μmol·L^{-1})。当整个金属结合区换成环氧乙烷或是硫杂丙环得到化合物 **13** 或 **14** 的活性太低, 无法对它们进行比较。A 部分与 B 部分的结构改造及活性数据分别见图 6 和表 2[11]。

连接区的长短也是影响活性的原因之一。研究表明, 连接区的碳数 n = 6 时表现为最好的酶抑制活性[12, 13]。

无连接单元的衍生物, 其酶抑制活性也可能较强。如苯并噻吩类 HDAC1 (图 7), 这类 HDAC1 具有较强的抑制 HDAC 活性, 能阻碍细胞分裂。取代基在 C-5 和 C-6 位时的抑制活性最强, 连接区为 3 个原子时, 对 HDAC1 有最佳的活性[14]。

Table 2 IC_{50} value of analogs of SAHA against HDACs and HDAC8[11]

Inhibitor	IC_{50} /μmol·L^{-1}	
	HDACs	HDAC8
SAHA (**1**)	0.37	0.82
3	>10	>10
4	>40	>40
5	2.44	3.89
6	13.3	>40
7	>40	>40
8	0.15	0.69
9	0.081	0.19
10	20.1	>40
11	>40	>40
12	>40	>40
13	>40	>40
14	>40	>40

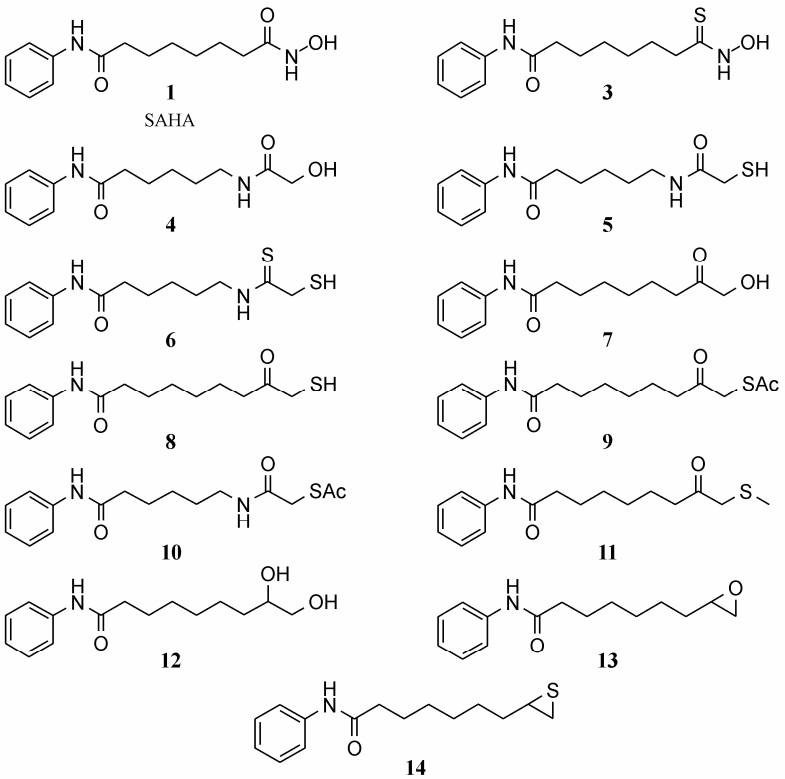
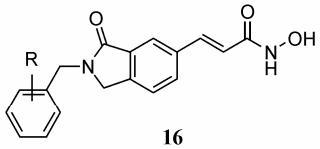
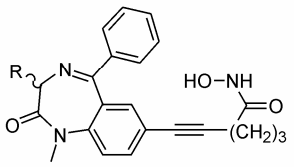


Figure 6 Chemical structures of compounds **3**−**14**

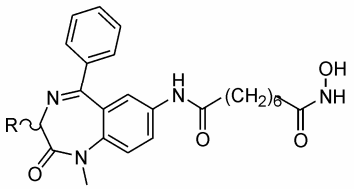
© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



16

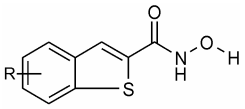


17a R=(*S*)-Me, HDACi, IC_{50}= 0.61 nmol·L^{-1}
17b R=(*R*)-Me, HDACi, IC_{50}= 4.80 nmol·L^{-1}
18 R=H, HDACi, IC_{50}= 0.62 nmol·L^{-1}



19a R=(*S*)-Me, HDACi, IC_{50}= 5.83 nmol·L^{-1}
19b R=(*R*)-Me, HDACi, IC_{50}= 3.71 nmol·L^{-1}
20 R=H, HDACi, IC_{50}= 2.50 nmol·L^{-1}

Figure 8　Structural development of HDAC inhibitors



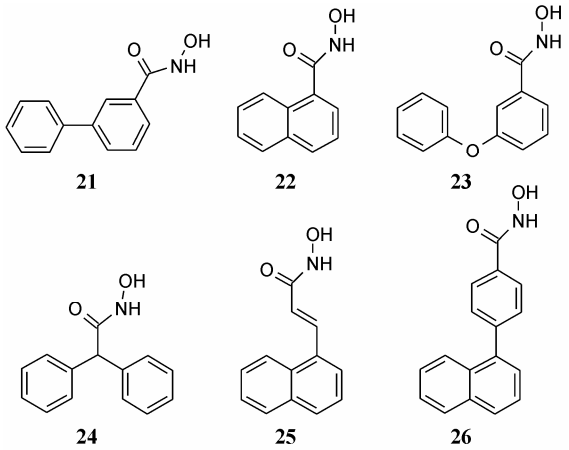
15

Figure 7　Benzo[b]thiophene HDAC inhibitors

表面识别区中取代基的位置不同, 相应衍生物的酶抑制活性也有很大的变化。如 **16** 中, R= 4-(pyridin-3-yl) (HDAC1, IC_{50} = 0.092 μmol·L^{-1}) 时, 抑制作用比 SAHA (HDAC1, IC_{50} = 0.290 μmol·L^{-1}) 强, 与 TSA (HDAC1, IC_{50} = 0.016 μmol·L^{-1}) 相当; 而 R = 4-(pyridin-4-yl) (HDAC1, IC_{50} = 3.300 μmol·L^{-1}) 时, 活性相对低很多。从连接口袋来看, 4-(pyridin-3-yl) 取代吡啶上的 N 原子与表面识别区附近的酸性氨基酸残基能更好的结合[15]。

另外还有一种异羟肟酸 HDACI, 它是以 1, 4-苯并二氮䓬类环作为表面识别区, 1 个酰胺功能团或 1 个碳碳三键作为链接区。该类化合物表面识别区的 R 基团对活性产生影响的同时, R 的立体异构对活性也起着较大作用。链接区为短链的活性比长链的好。通过对该类化合物活性的研究, 发现不同的连接单元 (酰胺或碳碳三键) 与不同长度的亚甲基链连接后, 与立体异构的表面识别区结合产生不同的效果, 化合物的生物活性是几个活性基团共同影响的结果。如 **17a** 活性大于 **17b**, 但是 **19b** 却比 **19a** 强, **17a** 和 **18** 的活性强于 **19** 和 **20**[16] (图 8)。

上述介绍的均是典型表面识别区—连接区—金属结合区结构的异羟肟酸类化合物, 但是一些小分子的异羟肟酸类化合物只有金属结合区和表面识别区, 而无连接区。有报道针对 HADC8 合成了一些无连接区的抑制剂, 其表面识别区是一些联苯衍生物。抑制剂的表面识别区立体空间位置太接近锌离子结合区时, 活性会大大降低, 这主要是与狭窄的活性作用囊相抵制而导致的。所以, 活性比较是 **26** > **25** > **23** > **22** > **21** > **24** (图 9)[17]。**25** 和 **26** 的双键和苯环作为连接区的功能基团。



21　22　23　24　25　26

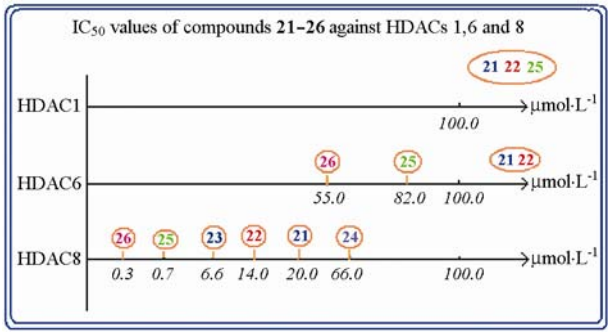


Figure 9　Structures of linkerless hydroxamates designed to bind the sub-pocket of HDAC8 active site and IC_{50} values of these HDACi

化合物 **25** 的分子结构中 (图 9), 如在链接区的双键和芳香环之间增加 1 个双键, 或增加 1 个氧原子, 或 1 个环己烷, 使链接区的长度增加, 则其韧性也相对增加。研究结果表明其细胞毒性也增加 (机制不明)。如只是将链接区的双键饱和, 那么链接区链的

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

屈曲性应该增强, 但是其活性却降低, 说明链接区的双键对活性很重要[18]。

2.2 环状四肽类 (cyclic tetrapeptide) 环肽类化合物是结构最为复杂的一类 HDAC 抑制剂, 根据官能团可以分为两小类: 一类是含 (*S*) 2-氨基-9,10-环氧-8-氧代癸酸 [(2*S*, 9*S*)-2-amino-9, 10-epoxy-8-oxodecanoic acid, Aoe] 和环氧酮, 另一类不含 Aoe 结构。环状四肽类 HDAC 抑制剂主要包括 Trapoxin、Apicidin、FK228、WF3161、CHAP31 和 HC-toxin 等。

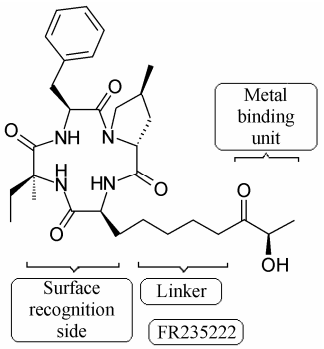


Figure 10 Schematic segmentation of the cyclic tetrapeptide into typical HDAC inhibitor fragments

此类化合物的分子中均含有一个环四肽结构 (图 10), 与 HDAC 抑制剂药效团模型 (表面识别区−连接区−金属结合区) 一致, 氨基酸大环是疏水的表面识别区, 烷链为连接区, 金属结合区含功能基团, 环肽类 HDAC 抑制剂作用 HDAC 酶的方式与异羟肟酸类一致。环肽类抑制剂是纳摩尔级的 HDAC 抑制剂[19, 20]。

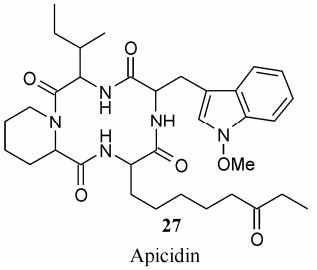
Trapoxin A、B, Chlamydocin 等是含有环氧酮的环肽类化合物 (图 11)。Aoe 除了能与金属离子结合外, 还能与金属离子附近的亲和性功能体不可逆结合。这也是该类化合物为不可逆抑制剂的原因[20]。具有 Aoe 结构的环四肽类抑制剂的大环是用 *D*-氨基酸和环氨基酸 (Pro 和 Pip) 排列结合而成的, 氨基酸一侧是连接区, 大量内部氢键生成 1 个受限的 12 元环结构。推测 *D*-构型的氨基酸是与活化位点边缘紧密结合所必须的[19]。

Apicidin 类抑制剂不含环氧酮基 (图 11), 连接区链上 C-8 酮是 HDAC 抑制剂的金属结合区, 是活性必需基团[21]。

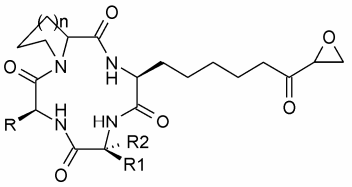
对 Apicidin 的金属结合区进行改造, 如化合物 **37**, *N*-甲酰基羟胺和 *N*-乙酰基羟胺作为锌离子结合区时, HDAC 酶抑制活性大致与 TSA 相当, 但一般比 CHAP31 低[22] (图 12)。

胍类在生物学和化学上是一类非常重要的化合物, 当环四肽类化合物的金属结合区用胍代替时, 由于胍的亲水性较强, 还能与蛋白质通过氢键结合, 因此这类衍生物的抑制活性也较强。这是一种新的金属结合单元, 基于 FR23522 合成了化合物 **38**[23]。

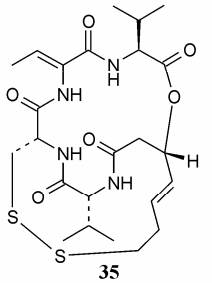
Microsporin A 也是 Apicidin 的衍生物 (图 13), 它作用于 HDACs (IC_{50} = 0.14 μmol·L^{-1}) 和 HDAC8 (IC_{50} = 0.55 μmol·L^{-1}) 的活性高于 SAHA (HDACs, IC_{50} = 0.29 μmol·L^{-1}; HDAC8, IC_{50} = 0.78 μmol·L^{-1})[24]。Chlamydocin 是具有很高活性的 HDAC 抑制剂, 将其



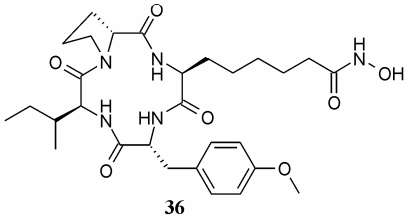
27 Apicidin



28 Trapoxin A (TPX)(R=R1=benzyl, R2=H, n=2)
29 Trapoxin B (R=R1=benzyl, R2=H, n=1)
30 Chlamydocin (R=benzyl, R1=methyl, R2=methyl, n=1)
31 HC-Toxin (R=R1=methyl, R2=H, n=1)
32 Cyl-1 (R=sec-butyl, R1=H, R2=4-MeObenzyl, n=1)
33 Cyl-2 (R=sec-butyl, R1=H, R2=4-MeObenzyl, n=2)
34 WF-3161 (R=sec-butyl, R1=benzyl, n=2)



35 FK228



36 CHAP31

Figure 11 Cyclic tetrapeptides HDACI

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

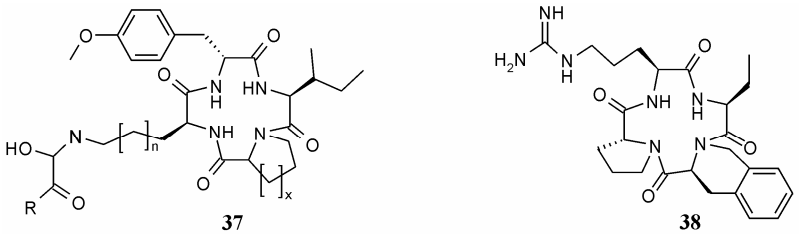


Figure 12　Derivatives of cyclic tetrapeptides

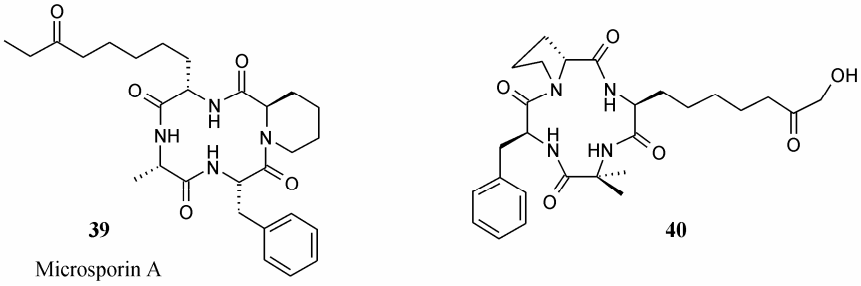


Figure 13　Derivatives of Apicidin

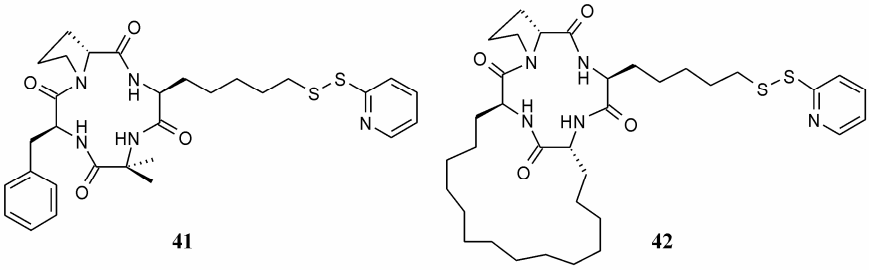


Figure 14　Derivatives of Chlamydocin

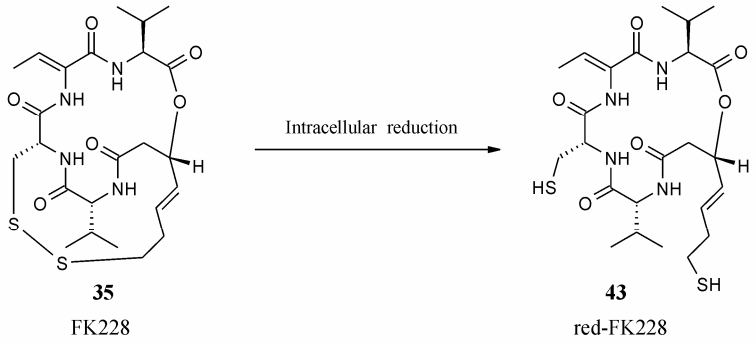


Figure 15　Mechanism of FK228 activation an route to HDAC inhibition

环氧基换成 *α*-羟甲基酮所得到的衍生物 **40** 对 HDAC1、HDAC4 和 HDAC6 均具有较好的活性和选择性[21] (图 13)。

文献[25, 26]报道, 二硫醚可以作为潜在的锌结合单元。如 **41** (HDAC1, IC_{50} = 0.003 9 μmol·L^{-1}) 的酶抑制活性较强。在表面识别部的环四肽外, 再引入一个软性大环所得到衍生物 **42** (HDAC1, IC_{50} = 0.035 μmol·L^{-1}; HDAC6, IC_{50} = 4.9 μmol·L^{-1}) 对 HDAC1 有较高的选择性 (图 14)。

FK228 以环状二硫醚的形式存在, 在体内, FK228 的二硫键断裂 (图 15), 生成能与锌离子结合的硫醇, 其治疗范围较广, 活性较强[27, 28]。

2.3　短链脂肪酸类 (short-chain fatty acid)　短链脂肪酸类 HDAC 抑制剂结构比较简单, 主要有丁酸、戊酸和苯丁酸及其盐类化合物 (图 16)。脂肪酸类抑制剂的金属结合区是其羧酸基团[29]。这类药物的选

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

择性较差, 酶抑制活性较低, 在体内代谢也较快, 生物利用度低, 所以需要在较高浓度下给药。为了解决这类药物的不良药用性质, 研究人员对其前药进行了研究。Pivanex 就是其中的一个前药, 在体内, Pivanex 水解生成正丁酸 (BA), 从而发挥作用[30]。

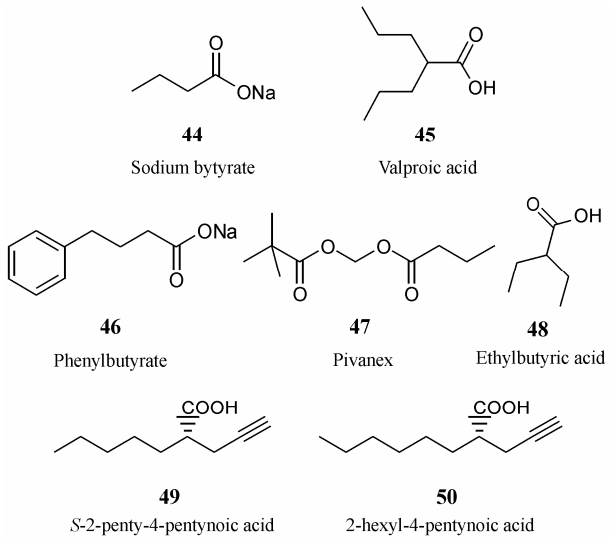


Figure 16 Short-chain fatty acid inhibitors of histone deacetylases

大多数羧酸类 HDAC 抑制剂的有效剂量为毫摩尔级, 主要对 HDAC2、HDAC3、HDAC8 起抑制作用[31], 研究表明表面识别区对 HDAC 抑制活性很重要[29], 大部分为烷基链。

化合物 **48** 的抑酶活性较强, 它与丙戊酸都是通过提升 GRP78 水平而发挥作用。丙戊酸的 2 位为不饱和双键时, 活性大大降低, 苯丁酸的活性更低[32]。化合物 **49**、**50** 是 **45** 的衍生物, 作为 HDACI 在 K562 和 HL60 细胞中的活性是 **45** 的 10 倍[33]。图 17 中的化合物是 **45** 的一类新的衍生物, 活性更强, 其结构中都含有 dithiolethiones (**51**) 或 thiosulfonates (**52**, **53**) 基团, 为锌离子结合单元。**54** 中含有一个酚羟基, 在体内 pH 的环境下, 可解离为离子状态 **55**, **55** 与锌离子结合的更牢固[34] (图 18)。

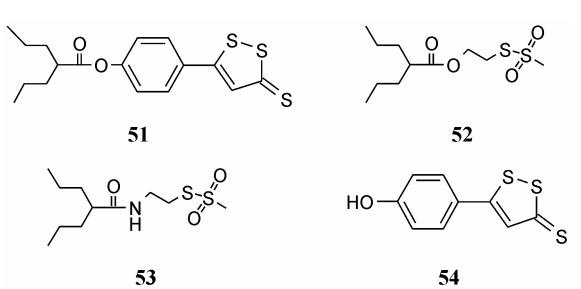


Figure 17 Derivatives of VPA

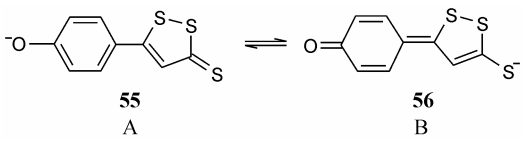


Figure 18 The transition of **54** *in vivo*

2.4 苯甲酰胺类化合物 (benzamides) 苯甲酰胺类 HDAC 抑制剂的金属结合区是苯甲酰胺基团, 如果氨基被取代, 则活性丧失。这类抑制剂通常比对应的异羟肟酸类和环肽类化合物活性低[35]。典型的有 MS275 和 MGCD0103[36] (图 19)。

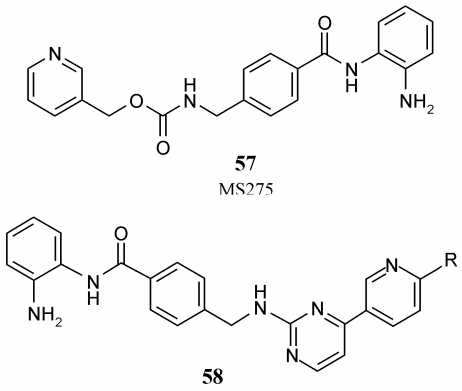


Figure 19 Benzamides as histone deacetylase inhibitors

针对 HDAC1, 人们对其表面识别区进行结构改造[37, 38], 以期得到活性更高的化合物 (图 20)。**59a**、**59b** 的 IC_{50} 分别是 0.070 μmol·L^{-1} 和 0.060 μmol·L^{-1}, 可能是孤电子对越多, 越易与周围形成氢键, 从而活性越好。如果 R1 被平面的共轭体系取代, 如 **59c** (HDAC1, IC_{50} = 0.011 μmol·L^{-1}) 和 **59d** (HDAC1, IC_{50} = 0.008 μmol·L^{-1}), 其活性比氢取代的 **59a** 与 **59b** 增强。螺环结构上的 N 具有孤电子对能增强与外周囊的结合力, 且这种螺环结构的屈曲性要比芳香环好, 这也是 **59c**、**59d** 活性增强的因素。另外螺环上五元环亚胺的位置对该化合物活性也有一定的影响, 在间位时于囊泡边缘距离更近[39–41], 更有利于提高活性。

2.5 亲电酮类 (eletrophilic ketones) 亲电酮主要包括各种三氟甲基酮和 *α*-酮酰胺 (图 21)。三氟甲基酮是第一个亲电酮 HDAC 抑制剂, 该类抑制剂结构特点是表面识别区含芳基, 在连接区通过酰胺键连接脂肪链, 在金属结合区含三氟甲基酮。由于三氟甲基酮在体内和体外都易还原为对应的醇, 所以半衰期很短[42]。**61** 中的 X 为不饱和键、小环或杂原子 (如 O 和 S) 时也同饱和直链一样有活性, 连接区含 5 或 6 个亚甲基活性最高, 这又一次证明了连接区链的长

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

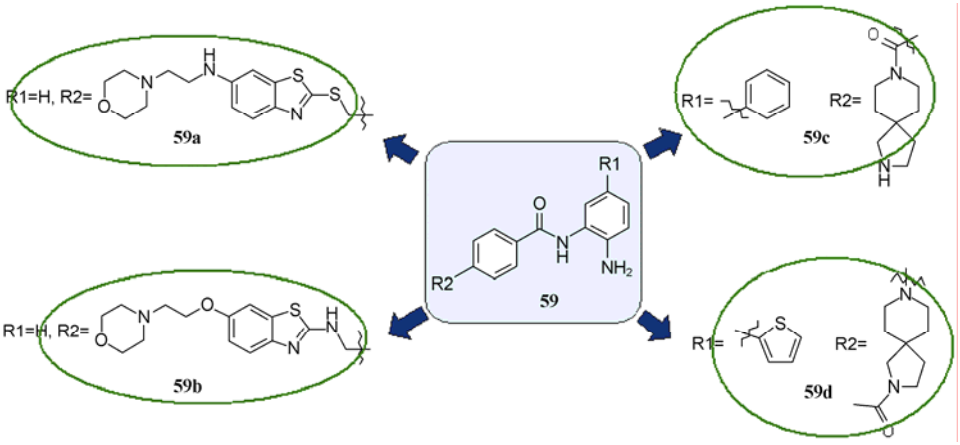


Figure 20 Benzamides HDAC1 inhibitors

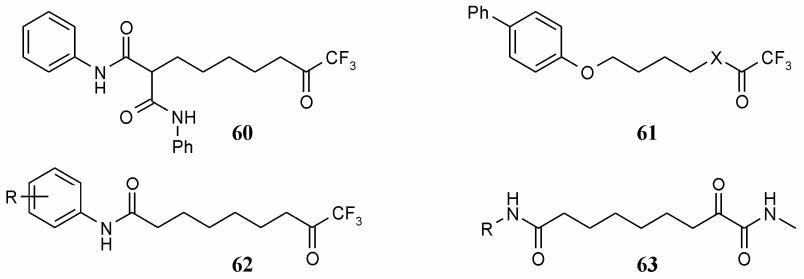


Figure 21 Electrophilic ketone histone deacetylase inhibitors

度、韧性在化合物活性上起了很大作用。在 **62** 的苯环上间位或对位取代的化合物比对应的邻位取代的类似物的活性高，如：R = 4-Ph, HDAC IC_{50} = 3.0 μmol·L^{-1}; R = 3-Ph, HDAC IC_{50} = 0.38 μmol·L^{-1}; R = 2-Ph, HDAC IC_{50} = 16 μmol·L^{-1} [42, 43]。

三氟甲基酮是这类化合物抑制活性的必要基团。当酮羰基还原成羟基时，或三氟甲基酮转变成羧基或甲基酮时，都会导致活性丧失。这类化合物是由三氟甲基酮在活性部位与锌形成锌氧键，螯合成二齿结构后起作用的。当三氟甲基酮衍生成五氟乙基酮或二氟甲基酮时，活性也会下降。通过 X 射线晶体结构研究，三氟甲基酮的大小刚好适合活性部位口袋；当三氟甲基酮被换成异羟肟酸时，活性明显增强，但选择性相应下降，对 I 类和 II 类 HDAC 同时具有纳摩尔级的活性[44]。

当 **64** 上的 X = S 时，活性和选择性比氧取代时强近 10 倍。将酯基换成酰胺基，如 **65**, N 上的取代基将影响该类化合物的活性和选择性[44, 45] (图 22)。

2.6 三硫代碳酸 (trithiocarbonates) 这是一种新型的 HDAC 抑制剂，羰基−亚甲基−三硫代碳酸 (HEAD) 是锌离子结合部位 (图 23)，连在 HEAD 上的烷基通过与酶囊相互作用来影响药物的活性。

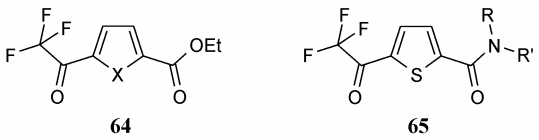


Figure 22 The trifluoromethyl ketone histone deacetylase inhibitors

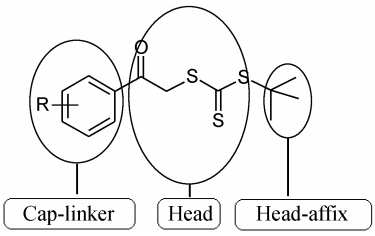


Figure 23 Schematic segmentation of the trithiocarbonates into typical HDAC inhibitor fragments

66 中 R′ 为体积大且亲脂性的叔丁基时，其活性较好，被一系列其他烷基或芳基取代时，抑制活性不改变。虽然 **67** 的细胞活性很低，但抑制 HDAC 活性却与 SAHA 相当，细胞活性很低的原因是该化合物具有高的亲脂性和高的蛋白结合能力。**68** 是 MS275 的三硫代碳酸衍生物，与 MS275 相比，HDAC 的活性似乎完全被抑制，解释是 **68** 也是一种同功酶抑制剂。**69** 中 R 为不同烷基时，不管是电子供体还是电子受

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

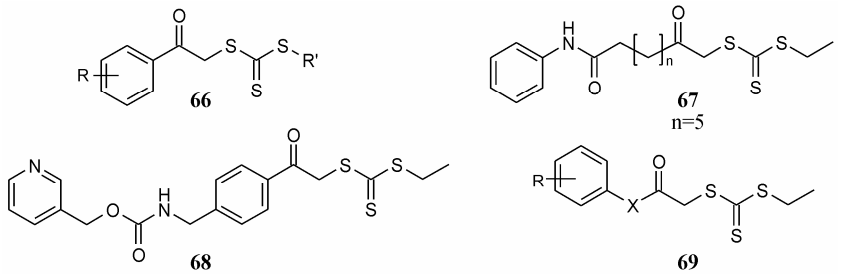


Figure 24 Trithiocarbonates into typical HDAC inhibitors

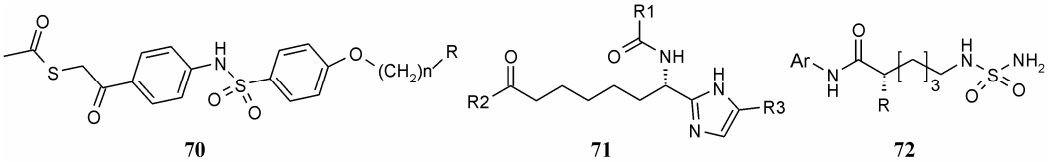


Figure 25 The other HDACIs

体, 其活性都会保持, R 在抑制剂中的影响作用很小, R 的取代位置却对其活性有较大的影响, 对位取代对活性有轻微的提高, 而邻位取代则会使活性降低近 100 倍 (图 24)。同样, 研究人员也对金属结合区羰基−亚甲基−三硫代碳酸进行改造, 发现羰基、羰基与三硫代碳酸之间的距离和三硫代碳酸都是影响活性的部分。该类化合物并不是硫醇的前药[46]。

2.7 其他类 化合物 **70** (图 25) 中的金属结合区为硫酰胺结构, 相应衍生物的酶抑制活性弱于异肟羟酸类, 但其选择性相对较高。当硫酰胺的端头氨基氢甲基化或是酰基化后都将使该化合物的活性消失, 硫酰胺另一侧的亚氨基被氧取代时, 活性也会消失。硫酰胺上两个氮原子是活性必需的, 当氨基发生取代, 产生空间位阻, 会使其亲和力大大下降。该类化合物活性还受连接区长度的影响, 最佳长度为 5 个亚甲基的链长。表面识别区中, 当 R 取代为 H 时, 该结构对 HDAC6 具有较高的选择性, 其 Ar 为苯并吡啶时, 化合物活性高于单独为苯环时化合物的活性, 可能是苯并吡啶对环境氨基酸残基的亲和力大于苯造成的; R 为 NH-Cbz 时, 对 HDACIs 活性增强, 且对 HDAC1 和 HDAC6 同时有选择性[47]。

化合物 **71** (图 25) 的金属结合结构是烃基酮类。R1 为缺电子不饱和基团时的活性比富电子饱和基团活性高。咪唑上 R3 为邻位取代苯基时活性低于间位和对位取代苯基; R3 为 -Br, -Cl, -Ph 时, 可增加活性; R3 为极性取代基如 -F, -CN 和一些极性杂环化合物基团时, 活性降低; 如果 R3 为萘基, 活性则明显提高。锌结合区 R2 依次为甲基、乙基、丙基、丁基时, 活性逐渐降低, 但对 I 类 HDAC 的选择性增高[48]。

72 (图 25) 是一种前药, 在体内硫代乙酰基水解生成巯基, 该活性部位与锌离子结合, 产生药效。当 n = 3 或 4 时, 链的长度更易使该基团与周边氨基酸残基相互作用, R 上有孤电子对时, 活性会更高, N 比 O 取代时活性高, 当 N 在不饱和环上时, 活性降低与 O 相似; 若苯酚侧链 (-Ph-O-CH_2-R) 被苯并杂环代替时, 杂环的类型、杂原子的位置对其活性都有较大影响, 苯并六元杂环比苯并五元杂环的化合物活性高[49, 50]。

3 小结

HDAC 抑制剂是一类新的靶向抗癌药。它们主要是通过组蛋白的乙酰化程度来改变染色质结构, 从而达到调控基因表达。这类药物可使转化细胞出现生长停滞、分化、凋亡或活性氧相关的细胞死亡。目前已经有大量的 HDACIs 报道。虽然 HDACIs 存在生物利用度低、代谢快、酶抑制选择性低等缺点, 但其临床疗效及抗肿瘤谱仍然有发展的空间。由于 HDACs 异构酶较多, 活性部位的结合形式不尽相同, 因此, 较难完全依靠计算机进行 HDACs 抑制剂的设计。现有的 HDAC 抑制剂结构大多数由 3 部分组成, 即表面识别区、连接区和金属结合区。异肟羟酸类被认为拥有最好金属结合区, 其异肟羟酸结构在体内能很好的螯合锌离子, 但是化合物的活性还要受到其他两部分的影响, 只有当整个化合物能很好的和酶相互作用, 才能保证化合物的高活性。

References

[1] Armeanu S, Pathil A, Venturelli S, et al. Apoptosis on hepatoma cells but not on primary hepatocytes by histone

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

deacetylase inhibitors valproate and ITF2357 [J]. J Hepatol, 2005, 42: 210−217.

[2] Eot-Houllier G, Fulcrand G, Magnaghi-Jaulin L, et al. Histone deacetylase inhibitors and genomic instability [J]. Cancer Lett, 2009, 274: 169−176.

[3] Carew JS, Giles FJ, Nawrocki ST. Histone deacetylase inhibitors: mechanisms of cell death and promise in combination cancer therapy [J]. Cancer Lett, 2008, 269: 7−17.

[4] Mai A, Rotili D, Tarantino D, et al. Identification of 4-hydroxyquinolines inhibitors of p300/CBP histone acetyltransferases [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2009, 19: 1132−1135.

[5] Hidehiko K, Tatsuo N. GCN5 and BCR signaling collaborate to induce pre-mature B cell apoptosis through depletion of ICAD and IAP2 and activation of caspase activities [J]. Gene, 2008, 419: 48−55.

[6] MacDonald JL, Roskams AJ. Epigenetic regulation of nervous system development by DNA methylation and histone deacetylation [J]. P Neurobiol, 2009, 88:170−183.

[7] Gregoretti IV, Lee YM, Goodson HV. Molecular evolution of the histone deacetylase family: functional implications of phylogenetic analysis [J]. J Mol Biol, 2004, 338: 17−31.

[8] Botrugno OA, Santoro F, Minucci S. Histone deacetylase inhibitors as a new weapon in the arsenal of differentiation therapies of cancer [J]. Cancer Lett, 2009, 280: 134−144.

[9] Wang DF, Helquist P, Wiest O. Zinc binding in HDAC inhibitors: a DFT study [J]. J Org Chem, 2007, 72: 5446−5449.

[10] Noh EJ, Lim DS, Jeong G, et al. An HDAC inhibitor, trichostatin A, induces a delay at G2/M transition, slippage of spindle checkpoint, and cell death in a transcription-dependent manner [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 378: 326−331.

[11] Gu WX, Nusinzon I, Smith RD Jr, et al. Carbonyl- and sulfur-containing analogs of suberoylanilide hydroxamic acid: potent inhibition of histone deacetlases [J]. Bioorg Med Chem, 2006, 14: 3320−3329.

[12] Lin T, Chen HZ, Koustova E, et al. Histone deacetylase as therapeutic target in a rodent model of hemorrhagic shock: effect of different resuscitation strategies on lung and liver [J]. Surgery, 2007, 141: 784−794.

[13] Mai A, Massa S, Rotili D, et al. Exploring the connection unit in the HDAC inhibitor pharmacophore model: novel uracil-based hydroxamates [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2005, 15: 4656−4661.

[14] Jarak I, Kralj M, Suman L, et al. Novel cyano- and *N*-isopropylamidino-substituted derivatives of benzo [b] thiophene-2-carboxanilides and benzo[b]thieno[2,3-c]quinolones: synthesis, photochemical synthesis, crystal structure determination, and antitumor evaluation [J]. J Med Chem, 2005, 48: 2346−2360.

[15] Krennhrubec K, Marshall BL, Hedglin M, et al. Design and evaluation of 'Linkerless' hydroxamic acids as selective HDAC8 inhibitors [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17: 2874−2878.

[16] Dallavalle S, Cincinelli R, Nannei R, et al. Design, synthesis, and evaluation of biphenyl-4-yl-acrylohydroxamic acid derivatives as histone deacetylase (HDAC) inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2009, 44: 1900−1912.

[17] Riedinger C, Endicott JA, Kemp SJ, et al. Analysis of chemical shift changes reveals the binding modes of isoindolinone inhibitors of the MDM2-p53 interaction [J]. J Am Chem Soc, 2008, 130: 16038−16044.

[18] Sailhamer EA, Li Y, Smith EJ, et al. Acetylation: a novel method for modulation of the immune response following trauma / hemorrhage and inflammatory second hit in animals and humans [J]. Surgery, 2008, 144: 204−216.

[19] Sandor V, Bakke S, Robey RW, et al. Phase Ⅰ trial of the histone deacetylase inhibitor, depsipeptide (FR901228, NSC630176), in patients with refractory neoplasms [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8: 718−728.

[20] Komatsu Y, Tomizaki KY, Tsukamoto M, et al. Cyclic hydroxamic-acid-containing peptide 31, a potent synthetic histone deacetylase inhibitor with antitumor activity [J]. Cancer Res, 2001, 61: 4459−4466.

[21] Watanabe S, Hiratsuka R, Kasai Y, et al. Caged compounds with a steroid skeleton: synthesis, liposome–formation and photolysis [J]. Tetrahedron, 2002, 58: 1685−1691.

[22] Nishino N, Yoshikawa D, Watanabe LA, et al. Synthesis and histone deacetylase inhibitory activity of cyclic tetrapeptides containing a retrohydroxamate as zinc ligand [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2004, 14: 2427−2431.

[23] Gomez-Paloma L, Bruno I, Cini E, et al. Design and synthesis of cyclopeptide analogs of the potent histone deacetylase inhibitor FR235222 [J]. ChemMedChem, 2007, 2: 1511−1519.

[24] Gu WX, Cueto M, Jensen PR, et al. Microsporins A and B: new histone deacetylase inhibitors from the marine-derived fungus Microsporum gypseum and the solid-phase synthesis of microsporin A [J]. Tetrahedron, 2007, 63: 6535−6541.

[25] Hirashima Y, Watanabe LA, Bhuiyan MPI, et al. Design and synthesis of histone deacetylase inhibitors containing hydroxyimino-acids as the capping group [J]. Pept Sci, 2006, 43: 255−256.

[26] Nishino N, Jose B, Okamura S, et al. Cyclic tetrapeptides bearing a sulfhydryl group potently inhibit histone deacety-

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

lases [J]. Orga Lett, 2003, 5: 5079−5082.

[27] Mays JR, Restituyo JA, Katzenberger RJ, et al. Cyclic disulfides as functional mimics of the histone deacetylase inhibitor FK-228 [J]. Tetrahedron Lett, 2007, 48: 4579−4583.

[28] Yurek-George A, Habens F, Brimmell M, et al. Total synthesis of spiruchostatin A, a potent histone deacetylase inhibitor [J]. J Am Chem Soc, 2004, 126: 1030−1031.

[29] Chen JS, Faller DV, Spanjaard RA. Short chain fatty acid inhibitors of histone deacetylases: promising anticancer therapeutics? [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2003, 3: 219−236.

[30] Entin-Meer M, Rephaeli A, Yang XD, et al. Butyric acid prodrugs are histone deacetylase inhibitors that show antineoplastic activity and radiosensitizing capacity in the treatment of malignant gliomas [J]. Mol Cancer Ther, 2005, 4: 1952−1961.

[31] Blackwell L, Norris J, Suto CM, et al. The use of diversity profiling to characterize chemical modulators of the histone deacetylases [J]. Life Sci, 2008, 82: 1050−1058.

[32] Shao L, Sun XJ, Xu L, et al. Mood stabilizing drug lithium increases expression of endoplasmic reticulum stress proteins in primary cultured rat cerebral cortical cells [J]. Life Sci, 2006, 78: 1317−1323.

[33] Deubzer H, Busche B, Rönndahl G, et al. Novel valproic acid derivatives with potent differentiation-inducing activity in myeloid leukemia cells [J]. Leuk Res, 2006, 30: 1167−1175.

[34] Perrino E, Cappelletti G, Tazzari V, et al. New sulfurated derivatives of valproic acid with enhanced histone deacetylase inhibitory activity [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2008, 18: 1893−1897.

[35] Charrier C, Roche J, Gesson JP, et al. Antiproliferative activities of a library of hybrids between indanones and HDAC inhibitor SAHA and MS-275 analogues [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17: 6142−6146.

[36] Kell J, Serradell N. MGCD-0103: histone deacetylase inhibitor apoptosis inducer oncolytic [J]. Drugs Future, 2008, 33: 323−327.

[37] Ryu JK, Lee WJ, Lee KH, et al. SK-7041, a new histone deacetylase inhibitor, induces G2-M cell cycle arrest and apoptosis in pancreatic cancer cell lines [J]. Cancer Lett, 2006, 237: 143−154.

[38] Feng J, Xie P, Weng ZJ, et al. Synthesis and anti-tumor activities of N-substituted benzamide derivatives [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2009, 44: 603−608.

[39] Kattar SD, Surdi LM, Zabierek A, et al. Parallel medicinal chemistry approaches to selective HDAC1/HDAC2 inhibitor (SHI-1:2) optimization [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2009, 19: 1168−1172.

[40] Ye F, Chen Y, Hoang T, et al. HDAC1 and HDAC2 regulate oligodendrocyte differentiation by disrupting the β-catenin-TCF interaction [J]. Nat Neurosci, dol:10.1038/ nn.2333.

[41] Methot JL, Hamblett CL, Mampreian DM, et al. SAR profiles of spirocyclic nicotinamide derived selective HDAC1/HDAC2 inhibitors (SHI-1:2) [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2008, 18: 6104−6109.

[42] Ideo A, Sasaki M, Nakamura C, et al. Cytotoxic activity of selected trifluoromethyl ketones against oral tumor cells [J]. Anticancer Res, 2006, 26: 4335−4342.

[43] Hirashima Y, Kato T, Nishino N, et al. Design and synthesis of histone deacetylase inhibitors containing trifluoromethylketone moiety as the functional group [J]. Pept Sci, 2006, 42: 141−144.

[44] Ferrigno F, Jones P, Muraglia E, et al. Thiophene and thiazole substituted trifluoroethanone derivatives as histone deacetylase (HDAC) inhibitors: WO 2007093827 [P]. 2007-08-23.

[45] Katja E, Marijana H, Ivo P, et al. Novel derivatives of pyridylbenzo[b]thiophene-2-carboxamides and benzo[b]thieno [2,3-c]naphthyridin-2-ones: minor structural variations provoke major differences of antitumor action mechanisms [J]. J Med Chem, 2009, 52: 2482−2492.

[46] Dehmel F, Weinbrenner S, Julius H, et al. Trithiocarbonates as a novel class of HDAC inhibitors: SAR studies, isoenzyme selectivity, and pharmacological profiles [J]. J Med Chem, 2008, 51: 3985−4001.

[47] Feng RT, Ma HH, Hassig CA, et al. KD5170, a novel mercaptoketone-based histone deacetylase inhibitor, exerts antimyeloma effects by DNA damage and mitochondrial signaling [J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7: 1494−1505.

[48] Paris M, Porcelloni M, Binaschi M, et al. Histone deacetylase inhibitors: from bench to clinic [J]. J Med Chem, 2008, 51: 1505−1529.

[49] Somoza JR, Skene RJ, Katz BA, et al. Structural snapshots of human HDAC8 provide insights into the class I histone deacetylases [J]. Structure, 2004, 12: 1325−1334.

[50] Marks PA, Breslow R. Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug [J]. Nat Biotechnol, 2007, 25: 84−90.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net