

· 药学前沿 ·

## 组蛋白去乙酰化酶 8 选择性抑制剂的研究进展

钮家琪,朱 雍,赵 爽,汤啸天,张智敏,陆 涛\*

(中国药科大学理学院,南京 211198)

**摘 要** 组蛋白去乙酰化酶 8(HDAC8)属于 I 类锌离子依赖性的组蛋白去乙酰化酶,与人类病理生理学密切相关。HDAC8 参与体内多种关键信号通路,是多种疾病的治疗靶点。随着对 HDAC8 晶体结构研究的不断深入,多种结构类型的 HDAC8 抑制剂被报道,主要分为苯基羟肟酸类、吲哚类、邻芳基 *N*-羟基肉桂酰胺类和氮杂环丁酮类等。寻找比泛 HDAC 抑制剂不良反应小的高效选择性 HDAC8 抑制剂是目前研究的热点。本文综述了 HDAC8 的结构、功能及选择性抑制剂的研究进展。

**关键词** 组蛋白去乙酰化酶 8;结构;功能;选择性抑制剂;靶点;抗肿瘤活性;进展

**中图分类号** R914.2 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2016)03-0251-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160301

**引用本文** 钮家琪,朱雍,赵爽,等.组蛋白去乙酰化酶 8 选择性抑制剂的研究进展[J].中国药科大学学报,2016,47(3):251-258.

**Cite this article as:** NIU Jiaqi, ZHU Yong, ZHAO Shuang, *et al.* Advances in histone deacetylase 8 selective inhibitors[J]. *J China Pharm Univ*, 2016,47(3):251-258.

## Advances in histone deacetylase 8 selective inhibitors

NIU Jiaqi, ZHU Yong, ZHAO Shuang, TANG Xiaotian, ZHANG Zhimin, LU Tao\*

*School of Sciences, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China*

**Abstract** Histone deacetylase 8 (HDAC8) is a zinc-dependent class I histone deacetylase, closely related to human pathophysiology. HDAC8 involves in various critical signaling networks and is implicated as a therapeutic target in various diseases, including cancer, X-linked intellectual disability and parasitic infections. More and more selective HDAC8 inhibitors have been developed based on deepening study of its well-characterized crystal structure. They are mainly divided into several categories such as phenyl hydroxamic acids, indoles, *ortho*-aryl-*N*-hydroxycinnamides, azetidinones etc. . Current challenges remain in the development of potent selective inhibitors that would specifically target HDAC8 with fewer adverse effects compared with pan-HDAC inhibitors. Herein, we reviewed the progress in the study of structure and functions of HDAC8 as well as the development of selective HDAC8 inhibitors.

**Key words** histone deacetylase 8; structure; function; selective inhibitor; target; antitumor activity; advance

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81202410); and the Ph. D. Programs Foundation of Ministry of Education of China (No. 20120096120010)

表观遗传学是指在 DNA 序列不发生改变的前提下,研究基因表达的可遗传变化的学科。组蛋白的共价修饰是其重要表现形式之一,与基因的表达

调控密切相关。其中,组蛋白乙酰化/去乙酰化是其调控基因表达的主要驱动力。组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)作为表观遗传学

调控的重要功能蛋白,近些年已经引起科学家的广泛关注。HDACs 可将组蛋白及其他蛋白的赖氨酸上乙酰化的  $\epsilon$ -氨基的乙酰基去除,降低体内乙酰化水平,从而导致全面的核染色体聚集和转录抑制。乙酰化水平下调和很多疾病密切相关,包括肿瘤、神经变性疾病、代谢失调、自身免疫和抗炎疾病等。此外,HDACs 参与体内多种关键信号通路,是很多疾病治疗的潜力靶点<sup>[1]</sup>。

迄今,在哺乳动物中已确认有 4 类 HDAC, I、II 和 IV 类为  $\text{Zn}^{2+}$  依赖型, III 类为  $\text{NAD}^+$  依赖型。I 类包括 HDAC1-3、8; II 类分为 II a 类(HDAC4、5、7、9)和 II b 类(HDAC6、10); III 类包括 SIRT1-7; IV 类为 HDAC11。HDAC 抑制剂(histone deacetylases inhibitors, HDACis)可通过有效上调抑癌基因、阻断肿瘤生长、诱导肿瘤细胞选择性凋亡以及抑制肿瘤细胞迁移、侵袭、转移和抗肿瘤血管生成来治疗肿瘤。目前已上市的 HDAC 抑制剂有 SAHA、FK-228、Belinostat、LBH-589 和 Chidamide(2014 年 FDA 批准注册,CFDA 批准上市),多为广谱 HDAC 抑制剂。这些抑制剂作用于多个亚型,可能会带来不必要的不良反应,例如 SAHA 治疗皮肤 T 细胞淋巴瘤时存在腹泻、血细胞减少和肌痛等毒性<sup>[2]</sup>,因此寻找不良反应小的高效亚型选择性 HDAC 抑制剂十分必要。HDAC8 是 I 类组蛋白去乙酰化酶,其与各种疾病,包括肿瘤、X 连锁智力障碍和寄生虫感染有关,已成为这些疾病的治疗靶点之一,针对 HDAC8 的选择性抑制剂研究已越来越引起人们的重视<sup>[3]</sup>。本文将对 HDAC8 的结构、功能及其选择性抑制剂的研究进展进行综述。

## 1 HDAC8 的生理功能

不同于 HDAC1-3, HDAC8 较早产生分歧进化,这可能产生不同的功能特化<sup>[4]</sup>。Li 等<sup>[5]</sup>发现 HDAC8 在人、鼠平滑肌的细胞质和细胞核中都有表达,可将皮肌动蛋白去乙酰化,增强皮肌动蛋白的聚合作用,可调节平滑肌的收缩。HDAC8 的磷酸化对调节组蛋白乙酰化水平起重要作用<sup>[6]</sup>。HDAC8 控制多种细胞进程,包括姐妹染色单体分离<sup>[7]</sup>、体内稳态、微管完整和肌肉收缩等<sup>[5]</sup>。

## 2 HDAC8 的底物研究

虽然 HDAC8 的结构已被研究得比较深入,但

其生物学功能仍不十分明确。而研究 HDAC 的底物有助于解析其生物学功能。研究发现,HDAC8 在体外可将非组蛋白和组蛋白(核心组蛋白和组蛋白尾部衍生肽<sup>[8]</sup>)去乙酰化,但在体内,HDAC8 的底物主要是非组蛋白,组蛋白是否为 HDAC8 的体内底物仍存在争议。Balasubramanian 等<sup>[9]</sup>发现强效 HDAC8 特异性抑制剂 PCI34051 处理 T 细胞淋巴瘤/白血病细胞后,并未诱导组蛋白的全面高度乙酰化。Scholz 等<sup>[10]</sup>发现 PCI34051 并没有提高 N 末端组蛋白尾肽的乙酰化水平,HDAC8 仅仅对少数蛋白有选择性去乙酰化作用。

目前已报道的 HDAC8 的体内底物为某些特殊的非组蛋白,包括 cAMP 应答元件结合蛋白 CREB<sup>[11]</sup>、染色体结构维持蛋白 SMC3<sup>[7]</sup>、抑癌因子 p53<sup>[12]</sup>、雌激素受体  $\text{ERR}\alpha$ <sup>[13]</sup>、inv(16) 融合蛋白<sup>[11]</sup>和皮肌动蛋白等。Olson 等<sup>[14]</sup>结合 SILAC(细胞培养条件下稳定同位素标记技术)的质谱鉴定及分析方法来观测整体的乙酰化水平和基因表达变化,发现 PCI34051 抑制 MCF-7 细胞中的 HDAC8,会影响乙酰化水平并最终影响下游蛋白的表达,由此确定了几个 HDAC8 的新型非组蛋白内源性底物,如 RAI1(维 A 酸诱导基因)、ZNRANB2(锌指 RAN 结合域)、NCOA3(细胞核受体辅激活因子)、THRAP3(甲状腺受体相关蛋白)和 ARID1A(AT 丰富结合域)。这些蛋白参与了体内多种生理进程,包括有丝分裂、转录、染色质重塑、RNA 剪接等<sup>[15]</sup>,表明 HDAC8 在维持细胞稳态中有一定作用。

另外,HDAC8 可直接去乙酰化某些蛋白底物如 SMC3,也可能会作为支架蛋白,以复合物方式募集底物蛋白。例如,在人胚肾上皮细胞 HEK293 中,HDAC8 可与 PP1(蛋白磷酸酶)和 CREB 组成复合物,并抑制 CREB 介导的基因转录,说明 HDAC8 作为支架蛋白可提高与 PP1 和 CREB 的相互作用<sup>[15]</sup>。对于 inv(16) 融合蛋白,HDAC8 可直接将其去乙酰化,也可作为支架蛋白与其形成复合物<sup>[11]</sup>。然而因 HDAC8 和底物的作用时间很短,目前很难区分体内 HDAC8 的去乙酰化作用和支架蛋白功能。

HDAC8 在上述提到的一些蛋白中,对某些去乙酰化位点有选择性,如  $\text{ERR}\alpha$  中的 RKac129<sup>[16]</sup>和 p53 中的 RHKK<sup>[17]</sup>等特殊模序。Saha 等<sup>[18]</sup>通

过染色质免疫沉淀法(CHIP法)发现HDAC8抑制剂将组蛋白H3去乙酰化趋向于特定基因区域。组蛋白H4衍生肽的KAc(乙酰化的赖氨酸)16和KAc20是HDAC8的去乙酰化位点<sup>[11,19]</sup>,H4蛋白里的类似的KRHR模序也可被HDAC8去乙酰化<sup>[20]</sup>。总体上,N末端KAc相邻位置的精氨酸和C末端KAc相邻位置的芳香环如苯丙氨酸构成最有效的去乙酰化位点<sup>[16]</sup>。

此外,Kannan等<sup>[21]</sup>发现某些HDAC8抑制剂的IC<sub>50</sub>可能会随着底物的不同而有高达20倍的差异。如SAHA在底物为三氟乙酰化底物Z(Tfa)lys-AMC(ZMTFAL)、市售寡肽Fluor de Lys时,对HDAC8的IC<sub>50</sub>分别为7.39和0.40 μmol/L。

### 3 HDAC8与疾病

目前研究表明,HDAC8与多种疾病的发生发展相关,尤其是肿瘤。HDAC8不仅在很多成人肿瘤组织(包括结肠、乳腺、肺、胰腺<sup>[22]</sup>)中有表达,在儿童神经母细胞瘤中也有表达<sup>[23]</sup>。运用RNA干扰技术敲除HDAC8可抑制人肺癌、结肠癌和宫颈癌细胞株的增殖<sup>[24]</sup>。HDAC8的表达上调可抑制肝癌细胞的凋亡,促进肝癌细胞的增殖<sup>[12]</sup>。Park等<sup>[25]</sup>研究发现HDAC1,HDAC6和HDAC8的过度表达可促进乳腺癌的侵袭转移。siRNA敲除HDAC8则可抑制成人T细胞白血病/淋巴瘤细胞的生长<sup>[26]</sup>。Oehme等<sup>[23]</sup>发现HDAC8的高表达与神经母细胞瘤晚期、预后不良和低存活率显著相关。相比泛HDAC抑制剂,HDAC8抑制剂对鼠神经细胞瘤的效果更高,毒性更小<sup>[27]</sup>。

HDAC8影响某些肿瘤关键基因的表达,并与多种肿瘤关键蛋白存在相互作用。例如,HDAC8的磷酸化可保护人类永恒短端粒hEST1B免受蛋白泛素诱导的降解,从而影响端粒末端转移酶的活性,避免因端粒变短而造成细胞衰老<sup>[28]</sup>。在急性髓性白血病(AML)中,HDAC8联合inv(16)融合蛋白和其他共阻遏剂如mSin3A来抑制AML-1调节基因(如p21),影响造血细胞增殖<sup>[29-30]</sup>。转录调节因子DEC1可募集HDAC8到抑癌基因TAp73启动子上,从而激活转录提高TAp73的表达,说明HDAC8可间接控制肿瘤抑癌基因的平衡<sup>[31]</sup>。敲除人慢性髓原白血病细胞K562和红白血病细胞HEL中的HDAC8可显著上调SOCS1、SOCS3(细胞

因子信号转导抑制基因)的表达,从而抑制酪氨酸蛋白激酶2/信号转导子和转录激活子(JAK2/STAT)的表达和细胞生长<sup>[32]</sup>。Kang等<sup>[33]</sup>发现在人结肠癌细胞中HDAC8可与STAT3相互作用来抑制BMF(Bcl-2修饰因子)的转录。作为HDAC8抑制剂之一的人体代谢产物——甲基硒基丙酮酸盐(MSP)可触发BMF介导的细胞凋亡。HDAC8可调节同源异型盒基因HoxA5来控制抑癌基因p53的表达,HDAC8表达的定向阻断可显著触发突变型而非野生型p53的增生缺陷,这表明HDAC8抑制剂或许能作为携有突变型p53的肿瘤的辅助治疗手段<sup>[34]</sup>。

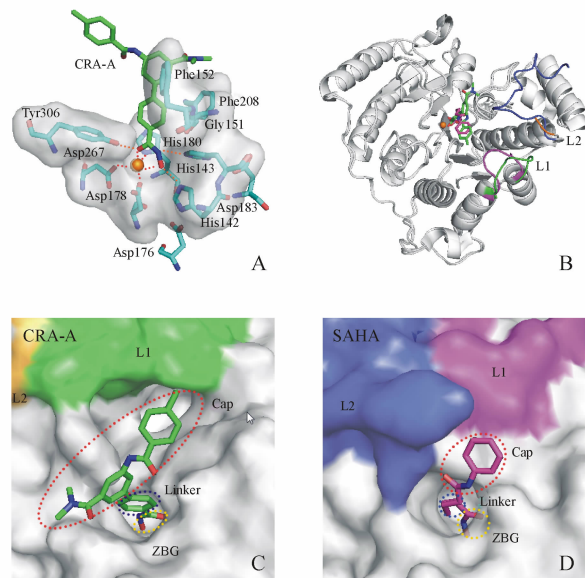
此外,HDAC8近期被发现是治疗血吸虫病的重要靶点<sup>[35]</sup>。以曼氏血吸虫(*Schistosoma mansoni*)为例,其感染控制主要依赖于吡喹酮,但是吡喹酮会对不成熟的蠕虫产生耐药,使感染持续<sup>[36]</sup>。研究发现smHDAC8(*Schistosoma mansoni* histone deacetylase 8)抑制剂可诱导体外培养的血吸虫童虫死亡,也可改变成虫的生殖器官,导致虫对分离和排卵停止<sup>[35]</sup>。Yamauchi等<sup>[37]</sup>还发现siRNA敲除HDAC8可降低A型流感病毒和尤库尼米病毒的感染。清除HDAC8将导致中心体分离、微管损失,使核内体不能到达核周区,分散在细胞质中,不能调节合适的酸度从而影响病毒的入侵。

### 4 HDAC8的结构

HDAC8是第1个被确定晶体结构的人源I类HDAC,与HDAC同源蛋白HDLF的序列相似度达31%。它包含377个氨基酸(42 kD)<sup>[38]</sup>,缺少HDAC1-3中C端50~111位氨基酸的蛋白结合域。通过分析CRA19156(CRA-A)与HDAC8的晶体复合物结构得知,HDAC8由8个平行的β折叠区和11个α螺旋区组成<sup>[24]</sup>,余下约半数氨基酸组成连接α/β结构域的环链区(Loop),活性口袋为狭长的管状通道,由疏水性氨基酸如Gly151、Phe152、His180、Phe208等组成。催化区域在活性口袋底部,中心是锌离子,可与Asp178、Asp267羧基的氧原子和His180的氮原子螯合。锌离子剩下的两个螯合位点若与氧肟酸抑制剂结合时,被氧肟酸的羰基氧和羟基占据;若与底物结合时则被底物乙酰基的羰基氧和水分子占据。Tyr306、His142、His143可能会通过氢键作用协助锌离子去

乙酰化(图 1-A)。

HDAC8 的活性口袋比 HDAC1-3 宽,且柔性更大,可通过改变构象来匹配底物<sup>[39]</sup>。将 HDAC8-CRA-A 晶体复合物和 HDAC8-SAHA 晶体复合物进行叠合,发现 HDAC8 的活性口袋在这两种晶体中发生了构象改变。这种构象改变主要涉及 L1 Loop (Ser30 到 Lys36) 和 L2 Loop (Pro91 到 Thr105),其中 L1 loop 的这种动态变化极大改变了活性口袋的大小。L1 Loop 可远离催化位点,使口袋开口变宽,也可靠近催化位点,使口袋接近闭合。例如,HDAC 抑制剂一般都有表面识别区(Cap)、疏水连接部分(Linker)和锌离子结合部分(ZBG)。CRA-A 的 Cap 区大且疏水,当与 HDAC8 结合时,CRA-A 倾向进入深宽的活性口袋以降低溶剂暴露(L1 loop 为绿色,L2 loop 为橘色);而 SAHA 的 Cap 区小且亲水,当与 HDAC8 结合时,SAHA 倾向与 HDAC8 闭合状态的表面结合,L1 loop 和 L2 loop 发生了构象改变(如图 1-B,C,D),L1 loop 变为紫红色所示,L2 loop 变为蓝色所示。



**Figure 1** Structural specificities for HDAC8 inhibitors

A: Interaction of CRA-A (green) at the HDAC8-binding site (PDB ID: 1VKG). Hydrogen bonds and metal interactions are shown as broken lines (red). B: Superimposition of HDAC8; CRA-A (green), L1 loop (green), L2 loop (orange), PDB ID: 1VKG; and SAHA (magenta), L1 loop (magenta), L2 loop (blue), PDB ID: 1T69. C-D: Transition between HDAC8 conformations; wide-open (CRA-A, PDB ID: 1VKG) and closed (SAHA, PDB ID: 1T69) conformational states

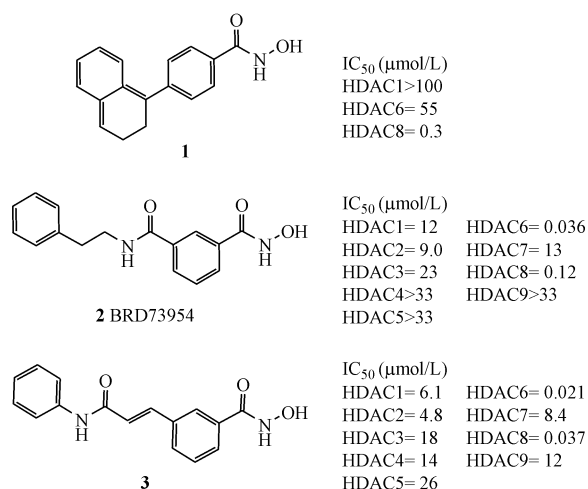
## 5 HDAC8 抑制剂

随着对 HDAC8 晶体结构研究的不断深入,越来越多的以 HDAC8 为靶标的小分子抑制剂陆续被报道。根据其结构特点,HDAC8 抑制剂可分为苯基氧肟酸类、吡啶类、邻芳基 *N*-羟基肉桂酰胺类和氮杂环丁酮类等。

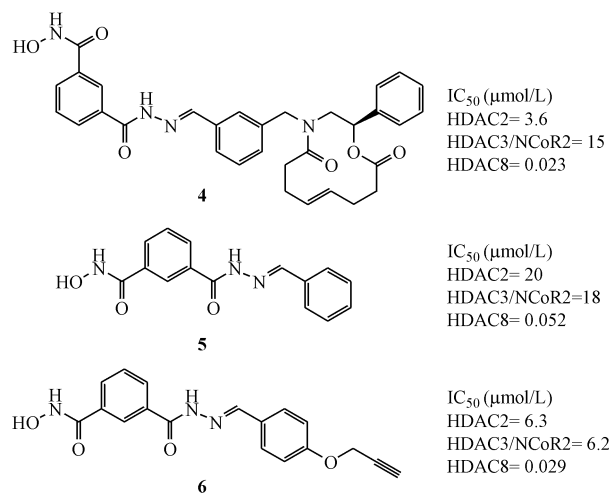
### 5.1 苯基氧肟酸类

HDAC8 的结构柔性大,可通过改变构象来匹配底物的大小、形状和化学性质。当 CRA-A 与 HDAC8 结合时,因 Cap 区大且疏水,倾向与大的口袋结合,会诱导 HDAC8 表面的 Phe152 和 Met274 分开,产生一个亚口袋(如图 1-C)。Krennhrubec 等<sup>[40]</sup>发现 CRA-A 的 Linker 部分为芳香基团,不与该亚口袋结合。而改造 Cap 区以期获得 HDAC 选择性亚型抑制剂比较困难。为了探究 Linker 部位对选择性的作用,研究人员设计并合成了一系列无 Linker 部分的化合物,得到了一系列化合物,其中化合物 **1** 对 HDAC8 的活性是 HDAC1、HDAC6 的 100 倍以上,这为开发治疗急性髓性白血病的先导化合物奠定了基础。

Olson 等<sup>[41]</sup>以第 1 个 HDAC6 和 HDAC8 的双重抑制剂 BRD73954 (**2**) 为基础,设计了一系列化合物,其中化合物 **3** 对 HDAC6 和 HDAC8 的活性最高。构效关系表明 HDAC8 的活性和选择性的关键是要有能与亚口袋结合的间位疏水取代基团,Linker 的长度对 HDAC6 和 HDAC8 的活性影响不大。



Tang 等<sup>[42]</sup>以含 12 元大环内酰胺的醇类和其他小分子醇类作为起始结构,在 96 孔板上将其氧化成相应的醛类,再分别与含酰肼的不同氧肟酸类结构块组合,然后筛选出针对不同亚型的 HDAC 抑制剂。其中化合物 **4**、**5** 和 **6** 含有相同的锌离子结合区,均选择性抑制 HDAC8。

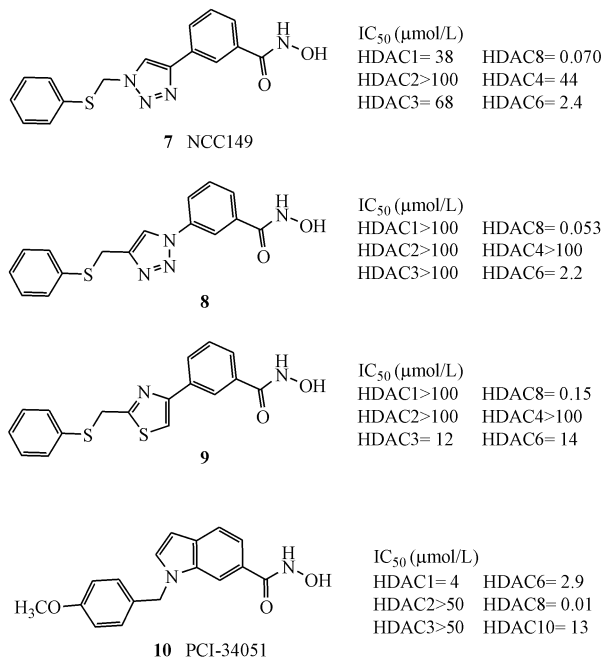


Suzuki 等<sup>[43]</sup>运用点击化学从含有 151 个三氮唑类化合物库中筛选出强效选择性 HDAC8 抑制剂 NCC149 (**7**)。NCC149 与 HDAC8 对接显示三氮唑环对固定氧肟酸基团和与疏水口袋结合的苯硫醚的走向起重要作用。他们将三氮唑环替换为苯环、噻吩环和噻唑环等,发现五元杂环上微小的结构改变对 HDAC8 的抑制活性和选择性都有影响。化合物 **8** 对 HDAC8 的酶活性比 NCC149 活性稍高一些,但对 T 细胞淋巴瘤细胞株如 Jurkat、HH、MT4 和 Hut78 的抑制作用不强,这可能与血浆蛋白结合力、细胞膜渗透性、代谢稳定性、定位等有关。化合物 **9** 抑制 HDAC8 的抑制活性虽稍弱于 NCC149,但在剂量依赖下只有它提高 HeLa 细胞中粘连蛋白 (HDAC8 的底物之一) 的乙酰化水平,说明化合物 **9** 对 HDAC8 的选择性最好。另外,化合物 **9** 抑制 T 细胞淋巴瘤比 NCC149 更强。

## 5.2 咪唑类

Pharmacyclics 公司的 Balasubramanian 等<sup>[9]</sup>发现 PCI-34051 (**10**) 是高度选择性的 HDAC8 抑制剂,对 HDAC8 的抑制活性比 HDAC1、HDAC6 强 200 倍以上,比 HDAC2、HDAC3 和 HDAC10 强 1 000 倍以上。PCI-34051 可诱导 T 细胞恶性肿瘤衍生的细胞系如 Jurkat、Hut78、HSB-2 和 Molt-4 产

生钙离子介导的和 caspase 依赖的细胞凋亡,而对 B 细胞和骨髓性淋巴瘤及实体瘤无作用,如它对乳腺癌 MCF-7、非小细胞肺癌 A549 等几乎没有显示诱导细胞凋亡的作用。用 PCI-34051 处理敏感细胞系,低于 25 μmol/L 下观察不到显著的微管蛋白和组蛋白乙酰化;5 μmol/L 下,在 12、24、48 h 分别测量 caspase-3 的活性,观察到活性水平提高。此外,PCI-34051 还可诱导细胞色素 C 从线粒体中释放。稳定的钙水平也强烈影响 PCI-34051 诱导的凋亡。



## 5.3 邻芳基 *N*-羟基肉桂酰胺类

Huang 等<sup>[44]</sup>将氧肟酸类泛 HDAC 抑制剂 LBH-589 的 *N*-羟基肉桂酰胺部分保留,在邻对位分别引入 PCI-34051 的苄基,进行融和改造,发现苄基取代在邻位时 HDAC8 的酶活性较高。在此基础上研究人员又修饰了邻位苄基来调整 Linker 的长度,得到了 HDAC8 酶活性接近 PCI-34051 的先导化合物 (图 2)。通过与 HDAC8 的分子对接进行结构优化,得到了几个 HDAC8 选择性抑制剂。其中,在先导化合物上引入溴原子得到了化合物 **11**,其抑制 HDAC8 的活性比 PCI-34051 高,是目前体外测试最有效的选择性 HDAC8 抑制剂。化合物 **12** 抑制人类肺癌细胞株 (A549、H1299、CL1-1 和 CL1-5) 的活性也强于 PCI-34051,抑制肺癌细胞 CL1-5 的活性与 SAHA 类似,同时对正常的人肺细

胞 IMR-90 无毒性。

#### 5.4 氮杂环丁酮类

Galletti 等<sup>[45]</sup>设计并合成了一系列以氧杂环丁酮为锌离子结合区的化合物,构效关系表明修饰 Cap 和 Linker 部分对选择性影响不大,而  $\beta$ -内

酰胺环上氮原子上的取代基团对 HDAC8 选择性影响较大。其中 Linker 部分的碳碳双键的 *E/Z* 构型对活性无影响。氮原子上为甲硫基的化合物 **13** 和其异构体 **14** 对 HDAC8 活性和选择性

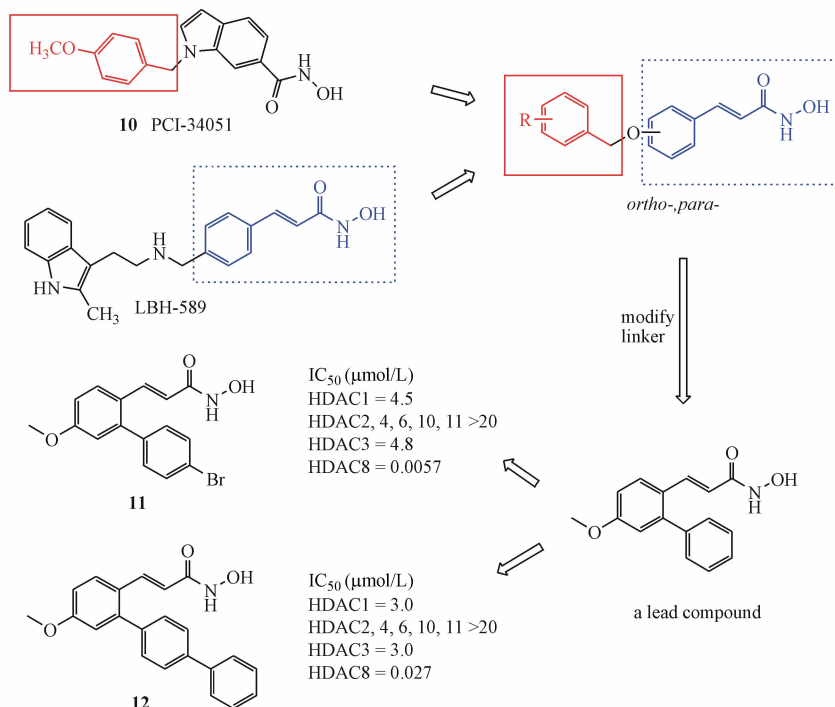
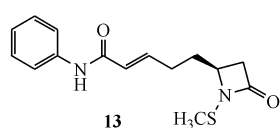
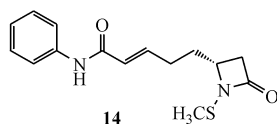


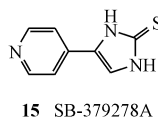
Figure 2 Design of potent HDAC8 inhibitors **11** and **12**



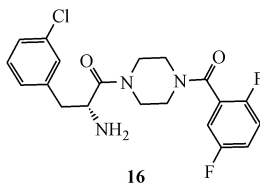
IC<sub>50</sub> (μmol/L)  
HDAC8 = 10.1  
HDAC1, 2, 3, 4, 6 >1 000



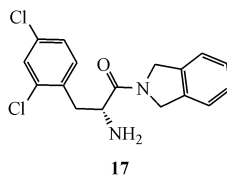
IC<sub>50</sub> (μmol/L)  
HDAC8 = 4.5  
HDAC1, 2, 3, 4, 6 >1 000



IC<sub>50</sub> (μmol/L)  
HDAC8 = 0.5  
HDAC1, 3 = no inhibition



IC<sub>50</sub> (μmol/L)  
HDAC1 > 30  
HDAC2 > 30  
HDAC6 > 30  
HDAC8 = 0.2



IC<sub>50</sub> (μmol/L)  
HDAC1 = 1.7  
HDAC2 = 3.9  
HDAC6 > 30  
HDAC8 = 0.09

#### 5.5 其他类

Hu 等<sup>[46]</sup>基于 HDAC8 酶活性的高通量筛选得到了环状硫脲类化合物 SB-379278A(**15**)。作为一个强效的 HDAC8 抑制剂,SB-379278A(**15**)不影响人结肠癌细胞 SW620 中组蛋白的乙酰化水平,也不影响 SV40 启动子的活性。Whitehead 等<sup>[47]</sup>通过高通量筛选得到  $\alpha$ -氨基酮类化合物,以化合物 **16** 和 **17** 为例,对 HDAC8 有较好的选择性。其中手性氨基酸部分是锌离子结合区。

## 6 小结与展望

近几年对 HDAC8 的结构、功能及其抑制剂的研究已经取得了一定成果。与广谱 HDACs 抑制剂相

比,特异性针对 HDAC8 的强效选择性抑制剂具有不良反应较少的特点,但是仍有许多制约 HDAC8 抑制剂发展应用的问题有待解决。例如,HDAC8 特有的结构柔性给设计选择性抑制剂带来不确定性;其他人源 HDAC 亚型结构数据的缺乏给 HDAC8 选择性的合理优化带来了困难。尽管如此,HDAC8 作为新型药物治疗靶点已经引起了广泛关注,寻找选择性更高、生物活性更强、安全性更高的 HDAC8 选择性抑制剂必将成为今后研究的热点。

### 参考文献

- [1] Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, **10**(1): 32–42.
- [2] Balasubramanian S, Verner E, Buggy JJ. Isoform-specific histone deacetylase inhibitors: the next step[J]? *Cancer Lett*, 2009, **280**(2): 211–221.
- [3] Chakrabarti A, Oehme I, Witt O, et al. HDAC8: a multifaceted target for therapeutic interventions[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2015, **36**(7): 481–492.
- [4] Gregoret I, Lee YM, Goodson HV. Molecular evolution of the histone deacetylase family: functional implications of phylogenetic analysis[J]. *J Mol Biol*, 2004, **338**(1): 17–31.
- [5] Li J, Chen S, Rachel A. Cleary, et al. Histone deacetylase 8 regulates cortactin deacetylation and contraction in smooth muscle tissues[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014, **307**: C288–C295.
- [6] Lee H, Rezai-Zadeh N, Seto E. Negative regulation of histone deacetylase 8 activity by cyclic AMP-dependent protein kinase A[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, **24**(2): 765–773.
- [7] Dearnof MA, Bando M, Nakato R, et al. HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle[J]. *Nature*, 2012, **489**(7415): 313–317.
- [8] Buggy JJ, Dd. MPL, McIntosh B, et al. Cloning and characterization of a novel human histone deacetylase, HDAC8[J]. *Biochem J*, 2000, **350**: 199–205.
- [9] Balasubramanian S, Ramos J, Luo W, et al. A novel histone deacetylase 8 (HDAC8)-specific inhibitor PCI-34051 induces apoptosis in T-cell lymphomas[J]. *Leukemia*, 2008, **22**(5): 1026–1034.
- [10] Scholz C, Weinert BT, Wagner SA, et al. Acetylation site specificities of lysine deacetylase inhibitors in human cells[J]. *Nat Biotechnol*, 2015, **33**(4): 415–423.
- [11] Wolfson NA, Pitcairn CA, Fierke CA. HDAC8 substrates: histones and beyond[J]. *Biopolymers*, 2013, **99**(2): 112–126.
- [12] Wu J, Du C, Lv Z, et al. The up-regulation of histone deacetylase 8 promotes proliferation and inhibits apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Dig Dis Sci*, 2013, **58**(12): 3545–3553.
- [13] Wilson BJ, Tremblay AM, Deblois G, et al. An acetylation switch modulates the transcriptional activity of estrogen-related receptor alpha[J]. *Mol Endocrinol*, 2010, **24**(7): 1349–1358.
- [14] Olson DE, Udeshi ND, Wolfson NA, et al. An unbiased approach to identify endogenous substrates of "histone" deacetylase 8[J]. *ACS Chem Biol*, 2014, **9**(10): 2210–2216.
- [15] Gao J, Siddoway B, Huang Q, et al. Inactivation of CREB mediated gene transcription by HDAC8 bound protein phosphatase[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, **379**(1): 1–5.
- [16] Gurard-Levin ZA, Kilian KA, Kim J, et al. Peptide arrays identify isoform selective substrates for profiling endogenous lysine deacetylase activity[J]. *ACS Chem Biol*, 2010, **5**(9): 863–873.
- [17] Gurard-Levin ZA, Kim J, Mrksich M. Combining mass spectrometry and peptide arrays to profile the specificities of histone deacetylases[J]. *Chembiochem*, 2009, **10**(13): 2159–2161.
- [18] Saha A, Pandian GN, Sato S, et al. Synthesis and biological evaluation of a targeted DNA-binding transcriptional activator with HDAC8 inhibitory activity[J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, **21**(14): 4201–4209.
- [19] Dose A, Liokatis S, Theillet FX, et al. NMR profiling of histone deacetylase and acetyl-transferase activities in real time[J]. *ACS Chem Biol*, 2011, **6**(5): 419–424.
- [20] Gurard-Levin ZA, Mrksich M. The activity of HDAC8 depends on local and distal sequences of its peptide substrates[J]. *Biochemistry*, 2008, **47**(23): 6242–6250.
- [21] Kannan S, Melesina J, Hauser AT, et al. Discovery of inhibitors of *Schistosoma mansoni* HDAC8 by combining homology modeling, virtual screening, and *in vitro* validation[J]. *J Chem Inf Model*, 2014, **54**(10): 3005–3019.
- [22] Nakagawa M, Oda Y, Eguchi T, et al. Expression profile of class I histone deacetylases in human cancer tissues[J]. *Oncol Rep*, 2007, **18**: 769–774.
- [23] Oehme I, Deubzer HE, Wegener D, et al. Histone deacetylase 8 in neuroblastoma tumorigenesis[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, **15**(1): 91–99.
- [24] Vannini A, Volpari C, Filocamo G, et al. Crystal structure of a eukaryotic zinc-dependent histone deacetylase, human HDAC8, complexed with a hydroxamic acid inhibitor[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, **101**(42): 15064–15069.
- [25] Park SY, Jun JA, Jeong KJ, et al. Histone deacetylases 1, 6 and 8 are critical for invasion in breast cancer[J]. *Oncol Rep*, 2011, **25**(6): 1677–1681.
- [26] Higuchi T, Nakayama T, Arao T, et al. SOX4 is a direct target gene of FRA-2 and induces expression of HDAC8 in adult T-cell leukemia/lymphoma[J]. *Blood*, 2013, **121**(18): 3640–3649.
- [27] Rettig I, Koenke E, Trippel F, et al. Selective inhibition of HDAC8 decreases neuroblastoma growth *in vitro* and *in vivo* and enhances retinoic acid-mediated differentiation[J]. *Cell Death Dis*, 2015, **6**: e1657.
- [28] Lee H, Sengupta N, Villagra A, et al. Histone deacetylase 8 safeguards the human ever-shorter telomeres 1B (hEST1B) protein

- from ubiquitin-mediated degradation[J]. *Mol Cell Biol*, 2006, **26**(14):5259–5269.
- [29] Lutterbach B, Hiebert SW. Role of the transcription factor AML-1 in acute leukemia and hematopoietic differentiation[J]. *Gene*, 2000, **245**:223–235.
- [30] Durst KL, Lutterbach B, Kummalu T, et al. The inv(16) fusion protein associates with corepressors via a smooth muscle myosin heavy-chain domain[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, **23**(2):607–619.
- [31] Qian YJ, Zhang J, Jung YS, et al. DEC1 coordinates with HDAC8 to differentially regulate TAp73 and  $\Delta$ Np73 expression[J]. *PLoS One*, 2014, **9**(1):e84015.
- [32] Gao SM, Chen CQ, Wang LY, et al. Histone deacetylases inhibitor sodium butyrate inhibits JAK2/STAT signaling through upregulation of SOCS1 and SOCS3 mediated by HDAC8 inhibition in myeloproliferative neoplasms[J]. *Exp Hematol*, 2013, **41**(3):261–270.
- [33] Kang Y, Nian H, Rajendran P, et al. HDAC8 and STAT3 repress BMF gene activity in colon cancer cells[J]. *Cell Death Dis*, 2014, **5**:e1476.
- [34] Yan W, Liu S, Xu E, et al. Histone deacetylase inhibitors suppress mutant p53 transcription via histone deacetylase 8[J]. *Oncogene*, 2013, **32**(5):599–609.
- [35] Marek M, Kannan S, Hauser AT, et al. Structural basis for the inhibition of histone deacetylase 8 (HDAC8), a key epigenetic player in the blood fluke *Schistosoma mansoni*[J]. *PLoS Pathog*, 2013, **9**(9):e1003645.
- [36] Colley DG, Bustinduy AL, Secor WE, et al. Human schistosomiasis[J]. *The Lancet*, 2014, **383**(9936):2253–2264.
- [37] Yamauchi Y, Boukari H, Banerjee I, et al. Histone deacetylase 8 is required for centrosome cohesion and influenza A virus entry[J]. *PLoS Pathog*, 2011, **7**(10):e1002316.
- [38] Van den Wyngaert I, De Vries W, Kremer A, et al. Cloning and characterization of human histone deacetylase 8[J]. *FEBS Lett*, 2000, **478**(1/2):77–83.
- [39] 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**(7):1325–1334.
- [40] Krennhubec 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**(10):2874–2878.
- [41] Olson DE, Wagner FF, Kaya T, et al. Discovery of the first histone deacetylase 6/8 dual inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2013, **56**(11):4816–4820.
- [42] Tang W, Luo T, Greenberg EF, et al. Discovery of histone deacetylase 8 selective inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, **21**(9):2601–2605.
- [43] Suzuki T, Muto N, Bando M, et al. Design, synthesis, and biological activity of NCC149 derivatives as histone deacetylase 8-selective inhibitors[J]. *ChemMedChem*, 2014, **9**(3):657–664.
- [44] Huang WJ, Wang YC, Chao SW, et al. Synthesis and biological evaluation of ortho-aryl-N-hydroxycinnamides as potent histone deacetylase (HDAC) 8 isoform-selective inhibitors[J]. *ChemMedChem*, 2012, **7**(10):1815–1824.
- [45] Galletti P, Quintavalla A, Ventrici C, et al. Azetidinones as Zinc-binding groups to design selective HDAC8 inhibitors[J]. *ChemMedChem*, 2009, **4**(12):1991–2001.
- [46] Hu E, Dul E, Sung CM, et al. Identification of novel isoform-selective inhibitors within class I histone deacetylases[J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2003, **307**(2):720–728.
- [47] Whitehead L, Dobler MR, Radetich B, et al. Human HDAC isoform selectivity achieved via exploitation of the acetate release channel with structurally unique small molecule inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem*, 2011, **19**(15):4626–4634.