

双靶点药物 NL-101 的抗多发性骨髓瘤活性及其机制研究

杨 岚^{1*}, 葛求富¹, 郭殿武¹, 徐伟良¹, 赵 丽²(¹杭州民生药物研究院有限公司, 杭州 311121; ²中国药科大学基础医学与临床药学院, 南京 210009)

摘要 研究具有组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)抑制和 DNA 损伤双靶点化合物 NL-101 的体内外抗多发性骨髓瘤活性及其机制研究。在 10 株多发性骨髓瘤细胞株中, 采用 CTG 法检测化合物 NL-101 对肿瘤细胞增殖的影响以及在 RPMI 8226 细胞中 NL-101 与硼替佐米的联用效果, 采用流式细胞仪检测 NL-101 对细胞周期的影响, Western blot 检测 NL-101 对乙酰化组蛋白 H3、乙酰化 α -Tubulin 和磷酸化 Histone H2A. X 的表达影响, 并在 RPMI 8226 多发性骨髓瘤细胞皮下移植瘤模型中考察 NL-101 单用以及与硼替佐米联用的抑瘤效果。研究结果表明, NL-101 能同时产生 HDAC 抑制剂和 DNA 烷化剂双重活性, 不但抑制肿瘤细胞组蛋白去乙酰化水平, 而且增加 DNA 损伤, 最终诱导细胞周期阻滞和细胞凋亡。在细胞水平和动物移植瘤模型中均表现出较强的抗肿瘤活性, 优于阳性对照药美法仑, 而且与硼替佐米联用具有协同增效作用。NL-101 有望成为一个全新的抗多发性骨髓瘤药物。

关键词 NL-101; DNA 损伤; HDAC 抑制剂; 双靶点; 抗肿瘤活性

中图分类号 R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)04-0469-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170412

引用本文 杨岚, 葛求富, 郭殿武, 等. 双靶点药物 NL-101 的抗多发性骨髓瘤活性及其机制研究[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(4): 469-475.

Cite this article as: YANG Lan, GE Qiufu, GUO Dianwu, et al. Antitumor effects and the mechanisms of dual-targeting drug NL-101 on human multiple myeloma. [J]. J China Pharm Univ, 2017, 48(4): 469-475.

Antitumor effects and the mechanisms of dual-targeting drug NL-101 on human multiple myeloma

YANG Lan^{1*}, GE Qiufu¹, GUO Dianwu¹, XU Weiliang¹, ZHAO Li²¹Hangzhou Minsheng Institutes for Pharma Research, Hangzhou 311121;²School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract The antitumor activities of NL-101, aHDACi/DNA damage dual-targeting drug, on human multiple myeloma *in vitro* and *in vivo* were studied. Furthermore, the primary mechanisms were revealed. We detected the anti-proliferative activity of NL-101 on 10 human multiple myeloma cell lines, and the combinational effect of NL-101 and bortezomib on RPMI 8226 cell line. The inducing effects of NL-101 on cell cycle arrest and apoptosis were detected by FACS. The effects of NL-101 on acetylated-Histone H3, total Histone H3, acetylated α -Tubulin, total α -Tubulin, phospho-Histone H2A. X and total Histone H2A. X were evaluated by Western blott. We also demonstrated the antitumor activity of NL-101 and the combinational effect of NL-101 and bortezomib on RPMI 8226 xenograft tumor model *in vivo*. Results showed that NL-101 possessed strong antitumor activities on human multiple myeloma cells *in vitro* and *in vivo*. NL-101 exhibited significant HDAC inhibitory activity and DNA alkylating activity. NL-101 not only inhibited histone deacetylation level, but also increased the DNA damage in multiple myeloma cells. Meanwhile, NL-101 induced cell cycle arrest and apoptosis. Also, the synergistic effect of NL-101 was discovered when combined with bortezomib *in vitro* and *in vivo*. These data demonstrated that NL-101 may be a potent agent for the treatment of human multiple myeloma in future.

Key words NL-101; DNA damage; HDAC inhibitor (HDACi); dual-targeting; antitumor activity

组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)通过脱去组蛋白赖氨酸残基上的乙酰基,参与染色质的重塑,在基因表达的表现调控中发挥重要作用^[1]。在某些肿瘤中,HDAC 出现异常活化或过度表达,因此,近年来 HDAC 一直是抗肿瘤药物开发的热门靶点之一。HDAC 抑制剂可以改变组蛋白和非组蛋白的乙酰化状态,在肿瘤细胞的分化和凋亡等进程中产生调控作用,从而发挥抗肿瘤活性。

有研究发现,HDAC 抑制剂通过增加组蛋白的乙酰化来松弛染色质,使 DNA 损伤药物更容易进入^[2]。临床前试验已经证明 HDAC 抑制剂与传统的烷化剂联用具有协同效应^[3–5]。研究表明,苯达莫司汀(bendamustine)联合 HDAC 抑制剂能增强其抗多发性骨髓瘤的疗效^[6]。

基于 HDAC 抑制剂与 DNA 损伤药物(例如烷化剂)有协同作用的原理,将盐酸苯达莫司汀的 DNA 损伤核心基团与组蛋白抑制剂伏立诺他(vorinostat,也称 SAHA)的组蛋白去乙酰化酶抑制核心基团通过共价键巧妙融合而成的一个全新小分子化合物 NL-101(也称 EDO-S101,结构见图 1)。Mehrling 等^[7]研究报道,EDO-S101(即 NL-101)对重组的 I 类和 II 类 HDAC 酶亚型 1, 2, 3, 6, 8 和 10 都有抑制活性,IC₅₀与伏立诺他相当,而且低浓度就可引起 DNA 交联反应,在 HL-60 细胞中激活细胞凋亡通路,激活 caspases 3, 9 和 PARP 裂解以及下调抗凋亡蛋白 XIAP 和 Mcl-1,在 Daudi 人 Burkitt's 淋巴瘤移植瘤模型中也显示出较强的抑制作用。Yu 等^[8]研究表明,NL-101 对髓性白血病细胞(特别是 Kasumi-1 和 NB4 细胞)同样有效,能导致 S 期细胞阻滞和 caspase 3 依赖的细胞凋亡。同时,NL-101 还能诱导人原代急性白血病细胞的凋亡和 DNA 损伤。在共表达 ML1-ETO 和 C-KIT^{D816V}的 AML 小鼠模型中,NL-101 能够显著延长小鼠的生存率,且效果优于苯达莫司汀。

由于 HDAC 抑制剂在多发性骨髓瘤治疗中被广泛使用,因此,本研究通过一系列体内外实验验证 NL-101 是否具有抗多发性骨髓瘤活性,并探索其抗肿瘤作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂

NL-101(杭州民生药物研究院有限公司);美

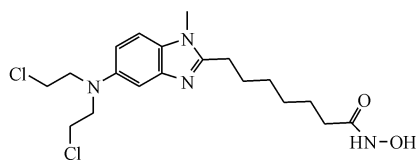


Figure 1 Structure of NL-101

法仑(melphalan)和硼替佐米(bortezomib)(大连美仑生物技术有限公司);伏立诺他(上海百世凯化学科技有限公司);CellTiter-Glo(CTG,美国普洛麦格公司);DMEM 培养基、RPMI 1640 培养基、胎牛血清(美国赛默飞世尔公司);乙酰化组蛋白 H3 抗体、总组蛋白 H3 抗体(德国默克密理博公司);乙酰化 α -Tubulin 抗体、总 α -Tubulin 抗体、磷酸化 H2A.X 抗体、总组蛋白 H2A.X 抗体(美国赛信通生物试剂有限公司)。

1.2 仪器

EnVision 2104 多标记微孔板检测仪(美国铂金埃尔默公司);显微镜(重庆光电仪器有限公司);Vi-Cell XR 活细胞计数仪(美国贝克曼库尔特公司);BD Calibur 流式细胞仪(美国 BD 公司);Odyssey 红外热像仪(美国力高公司)。

1.3 细胞株

AMO1、EJM、LP-1、MM. 1R、MM. 1S、MOLP-8、NCI-H929、OPM-2、RPMI 8226、U266B1 人源多发性骨髓瘤细胞株购自美国模式培养物集存库(ATCC)。

1.4 动物

NOD/SCID 小鼠,雌性,6~8 周,18~22 g,购自北京华阜康生物技术有限公司,动物合格证号:SCXK(京)2014-0004,饲养环境:SPF 级。

2 方法

2.1 CTG 方法测定 NL-101 对肿瘤细胞增殖的影响

收集处于指数生长期的细胞并用 Vi-Cell XR 细胞计数仪进行活细胞计数。用培养基将细胞悬液调整到适当的浓度。每孔加细胞悬液 100 μ L 于 96 孔细胞培养板,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱培养 24 h 后加入不同浓度的 NL-101 化合物或阳性对照药物美法仑作用 72 h,加入 CTG 溶液,于室温放置 10 min 后用多标记微孔板检测仪测定荧光信号。

2.2 CTG 方法测定 NL-101 与硼替佐米联合作用对细胞增殖的影响

在 RPMI 8226 细胞中,采用不同浓度的 NL-101 与 IC_{20} 、 IC_{50} 以及 IC_{70} 浓度的硼替佐米联合作用 72 h 后,通过 CTG 方法测定化合物对细胞增殖的抑制,并计算联用指数(CI)。

2.3 FACS 检测细胞周期分布

用 3 个不同浓度的 NL-101 (1、5 和 25 $\mu\text{mol/L}$) 及空白溶剂处理 RPMI 8226 细胞 2、24 及 48 h 后,收集细胞,用 PBS 2 mL 洗涤 1 次,离心,弃上清液。

加入 RNase A (工作浓度 20 $\mu\text{g/mL}$) 于 PBS 500 μL 中,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,离心,弃上清液。用 PBS 1 mL 洗涤 1 次,离心,弃上清液。加入 PI (工作浓度 50 $\mu\text{g/mL}$) 于 PBS 200 μL 中,室温避光孵育 30 min。混匀,过 300 目筛网,细胞滤液置流式管中,进样检测,收集数据,结果用 FlowJo 7.6 软件进行细胞周期分析。

2.4 Western blot 检测蛋白表达水平

3 个不同浓度的 NL-101 (1、5 和 25 $\mu\text{mol/L}$)、伏立诺他 (0.2、2 和 20 $\mu\text{mol/L}$)、美法仑 (5、50 和 500 $\mu\text{mol/L}$) 及空白溶剂处理 RPMI 8226 细胞 2、24 及 48 h 后,收集细胞,用 RIPA 缓冲液制备细胞裂解液,用 BCA 方法测定细胞裂解液的蛋白浓度,用 SDS 上样缓冲液稀释样品为 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。吸取稀释样品液 10 μL 上样于 4% ~ 15% 梯度 PAGE 胶电泳;然后以 GAPDH 作内参,通过 Western blot 方法,以伏立诺他处理后样品为阳性对照,检测不同样本的乙酰化组蛋白 H3 和总组蛋白 H3、乙酰化 α -Tubulin 和总 α -Tubulin 表达水平,以美法仑处理后样品为阳性对照,检测不同样本的磷酸化组蛋白 H2A.X 和总组蛋白 H2A.X 表达水平。

2.5 在 RPMI 8226 多发性骨髓瘤小鼠移植瘤模型中验证体内药效

单用实验中:RPMI 8226 细胞培养在含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中。收集指数生长期的 RPMI 8226 细胞 PBS 重悬至适合浓度并与 matrigel 1:1 混合后用于 NOD/SCID 小鼠皮下肿瘤接种。待肿瘤平均体积达到 100 ~ 200 mm^3 时开始分组并给予不同浓度 (10、20 和 30 mg/kg) NL-101、美法仑 (5 mg/kg),每组 6 只动物。NL-101 注射剂为尾静脉注射,连续给药 2 d,停药 12 d,2 周为一个给药周期,共给药 4 次。美法仑为腹腔注射,第

1 周给药 1 次,从第 2 周开始每周给药 2 次,共给药 6 次。

联用实验中:NOD/SCID 小鼠皮下接种 RPMI 8226 细胞,建立人源多发性骨髓瘤皮下移植肿瘤模型。试验分为 NL-101 10、20、30 mg/kg 治疗组,硼替佐米 0.4 mg/kg 治疗组,硼替佐米 0.4 mg/kg 联合 NL-101 20 mg/kg 治疗组及溶媒对照组,每组 6 只小鼠。NL-101 以及溶媒对照组为每天给药 1 次,连续给药 2 d,停药 12 d,再连续给药 2 d,共给药 4 次;硼替佐米为每周给药 2 次,共给药 8 次。NL-101,硼替佐米和溶媒对照组均为尾静脉注射给药。

根据肿瘤体积计算相对肿瘤体积 (RTV), $RTV = V_t/V_0$, V_0 为分组时该动物的瘤体积, V_t 为治疗后该动物的瘤体积;并与阴性对照组 RTV 比较,计算相对肿瘤增殖率 (T/C, %) 和相对肿瘤抑制率 (TGI, %)。

2.6 统计分析

所有实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对照组与各治疗组或各治疗组之间用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 比较相对肿瘤体积有无显著性差异。随后用 Contrast 比较对照组与各治疗组及各治疗组之间相对肿瘤体积的显著性差异, $P < 0.05$ 为差异显著。

3 结 果

3.1 体外抗肿瘤细胞增殖作用

在 10 株多发性骨髓瘤细胞株中检测了 NL-101 作用 72 h 的 IC_{50} (表 1)。实验结果表明, NL-101 对多发性骨髓瘤细胞均有显著的抑制细胞增殖的作用。在所有测试的人多发性骨髓瘤细胞系中, NL-101 的 IC_{50} 均小于对照药美法仑的 IC_{50} , 特别在 EJM、OPM2、U266B1 和 RPMI 8226 细胞系中两个化合物 IC_{50} 之间差别将近 10 倍。说明 NL-101 对所测试的人多发性骨髓瘤细胞的增殖抑制活性高于美法仑。

3.2 与硼替佐米联用协同增效作用

硼替佐米 (bortezomib, 商品名:万珂) 是目前临床上治疗多发性骨髓瘤的一线药物。因此,在多发性骨髓瘤细胞中考察了 NL-101 与硼替佐米联合使用效果。实验结果 (图 2) 显示, NL-101 与 IC_{20} 浓度 (1.58 nmol/L) 的硼替佐米联用处理 RPMI 8226 细

胞,没有明显协同效应。但是 NL-101 与 IC₅₀ 或 IC₇₀ 浓度(2.30 和 2.95 nmol/L)硼替佐米联用处理 RPMI 8226 细胞,NL-101 在所有浓度下对应的联用指数 CI < 1,且大多数 CI 小于 0.5,说明 NL-101 与 IC₅₀ 和 IC₇₀ 浓度下硼替佐米联用在 RPMI 8226 细胞有较好的协同效应。该实验重复 1 次,两次实验结果相似。

3.3 诱导细胞周期阻滞及细胞凋亡

用不同浓度 NL-101 处理 RPMI 8226 细胞,不同时间后用细胞流式仪检测细胞的周期分布。实验结果(图 3)显示,NL-101 能时间、浓度依赖性地诱导 RPMI 8226 细胞的凋亡。NL-101 作用 2 h,细胞周期分布和凋亡细胞(sub-G₁)没有明显的变化;作用 24 h,可引起细胞周期分布的明显变化,随着浓度增加,sub-G₁ 细胞比例明显增加,提示凋亡细胞增多;25 μmol/L 剂量下作用 48 h,约 80% 细胞发生了凋亡。

Table 1 Anti-proliferative activity of NL-101 on multiple myeloma cell lines

Cell line	IC ₅₀ /(μmol/L)			
	NL-101		Melphalan	
	Test 1	Test 2	Test 1	Test 2
AMO1	3.3	2.7	4.1	3.6
EJM	2.5	3.3	20.4	22.2
MM1R	0.6	0.7	2.9	2.9
MM1S	1.4	1.1	3.2	2.9
MOLP8	1.2	1.1	1.5	1.5
NCI-H929	1.2	0.9	4.8	5.2
OPM2	2.0	2.1	13.0	14.5
U266B1	4.9	2.5	23.6	20.5
LP-1	5.0	7.1	47.0	54.9
RPMI 8226	2.6	2.6	22.9	24.9

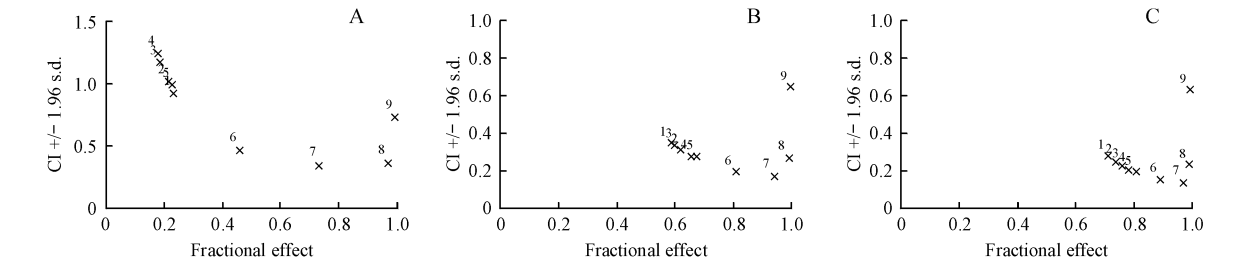


Figure 2 CI values of combination of NL-101 and three concentrations of bortezomib (A:IC₂₀;B:IC₅₀;C:IC₇₀). Additive effect: CI = 1.0; Synergistic effect: CI < 1.0; Antagonistic effect: CI > 1.0. Biological synergistic effect usually requires CI < 0.5

3.4 抑制肿瘤细胞中 HDAC 活性

用不同浓度 NL-101 处理 RPMI 8226 细胞,不同时间,用蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测细胞中乙酰化组蛋白 H3 及乙酰化 α-Tubulin 表达的变化。

实验结果(图 4)显示:NL-101 能浓度和时间依赖性地抑制 RPMI 8226 细胞中 HDAC3 的活性,引起肿瘤细胞中乙酰化组蛋白 H3 表达的增加,最强活性出现在 25 μmol/L 剂量下作用 24 h 时;并能诱导组蛋白 H3 表达增加。NL-101 也可浓度和时间依赖性地引起 RPMI 8226 肿瘤细胞中乙酰化 α-Tubulin 表达的增加,最强活性出现在 5、25 μmol/L 作用 2 h 时。NL-101 的作用均与阳性对照药伏立诺他(SAHA)类似。这说明 NL-101 具有一定的 HDAC 抑制活性。

3.5 DNA 损伤作用

磷酸化组蛋白 H2A.X 表达水平可反映细胞 DNA 损伤的程度。用不同浓度的 NL-101 处理

RPMI 8226 细胞不同时间,检测细胞中 H2A.X 和磷酸化 H2A.X(γ-H2A.X)的表达。结果(图 5)显示,NL-101 能浓度和时间依赖性地引起 RPMI 8226 细胞 DNA 损伤。当 NL-101 作用 2 h 时,对磷酸化组蛋白 H2A.X 表达没有明显影响;作用 24 和 48 h 时,磷酸化组蛋白 H2A.X 表达明显增加,并随浓度增加而增加。实验结果说明,NL-101 具有 DNA 损伤的活性,且活性强于阳性对照美法仑。

3.6 抑制多发性骨髓瘤 RPMI 8226 异种移植肿瘤的生长

如表 2 所示,在 RPMI 8226 移植瘤模型中,NL-101 可显著抑制 RPMI 8226 移植瘤的生长,并具有剂量依赖性。NL-101 20 mg/kg、30 mg/kg 剂量给药 2 个周期后,相对肿瘤增殖率 T/C(%)均小于 40%,与溶剂对照组相比,具有显著性差异。在此模型中,阳性对照药美法仑的抗肿瘤活性与 NL-101 20 mg/kg 组相当(P > 0.05)。

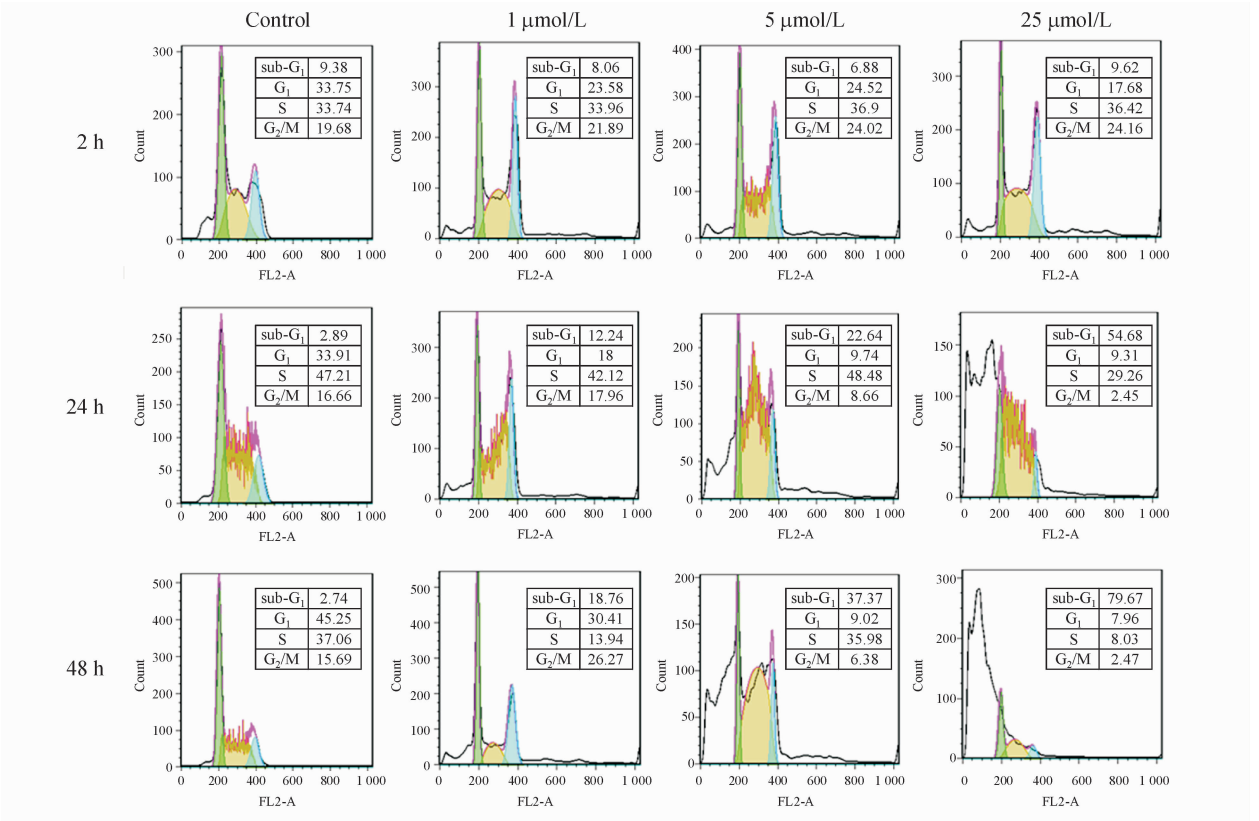


Figure 3 Time- and dose-dependent effects of NL-101 on cell cycle. RPMI 8226 cell was treated three concentrations (1,5 and 25 μmol/L) NL-101 and control agent DMSO for 2,24 and 48 h, respectively. The percentage of cell cycle distribution was performed by flow cytometry

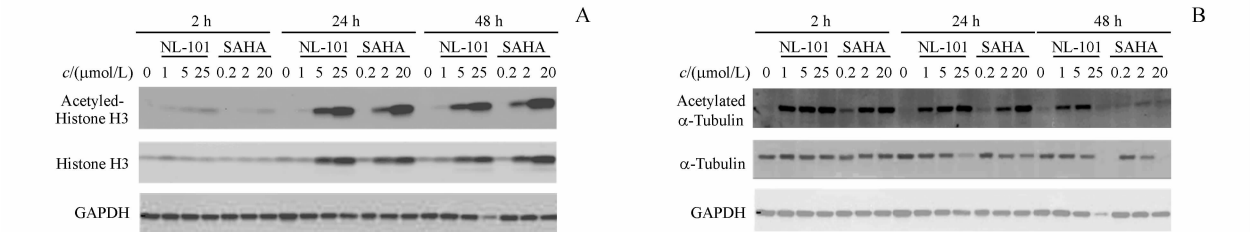


Figure 4 NL-101 inhibited histone deacetylation. RPMI 8226 Cell incubated with variable concentrations of NL-101 or SAHA for 2,24 and 48 h, respectively. A: Western blot analysis to detect the effect of NL-101 on acetylation of histone H3 (Ac-H3) and total histone H3; B: Western blot analysis to detect the effect of NL-101 on acetylated α-Tubulin and total α-Tubulin. GAPDH was determined as a loading control

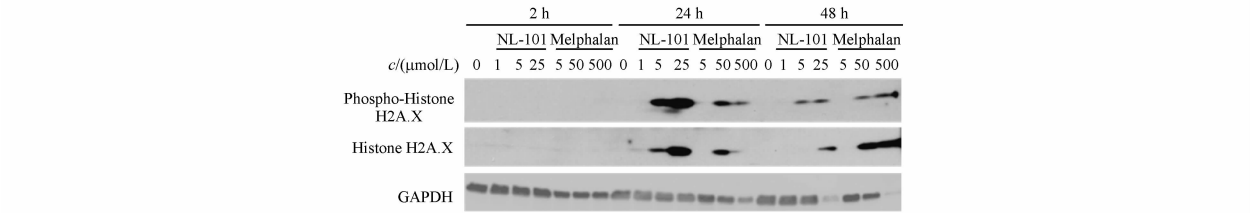


Figure 5 NL-101 induce DNA damage. RPMI 8226 Cell incubated with variable concentrations of NL-101 or melphalan for 2,24 and 48 h, respectively. Western blot analysis of the expression of phospho-Histone H2A.X (γ-H2A.X) and Histone H2A.X. GAPDH was determined as a loading control

Table 2 Effect of NL-101 on RPMI 8226 xenograft tumor model($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Group	D34 after xenograft				
	Tumor volume/mm ³	RTV	TGI/%	T/C/%	P
Control	2 150 ± 166	16.7 ± 1.4	—	—	—
Melphalan 5 mg/kg	786 ± 82	6.0 ± 0.7	64	36	<0.001
NL-101 10 mg/kg	1 152 ± 58	8.9 ± 0.6	47	53	0.001
NL-101 20 mg/kg	724 ± 80	5.6 ± 0.7	66	34	<0.001
NL-101 30 mg/kg	319 ± 21	2.5 ± 0.3	85	15	<0.001

RTV:Relative tumor volume;TGI:Tumor growth inhibition

3.7 与硼替佐米联用对 RPMI 8226 异种移植肿瘤生长的抑制作用

在体外细胞联用实验中,NL-101 与硼替佐米联用表现出协同增效作用。因此,在 RPMI 8226 皮下移植瘤模型中再次考察 NL-101 与硼替佐米联用是否具有协同增效作用。实验结果显示(表 3),NL-101 的低、中、高剂量(10、20 和 30 mg/kg)治疗组在接种后第 35 天时均表现出显著的抑瘤作用,

相较对照组统计学上均有显著性差异(统计结果均为 $P < 0.001$),T/C 分别为 66%,35% 和 11%,显示出很好的剂量依赖性药效关系。硼替佐米(0.4 mg/kg)和 NL-101(20 mg/kg)联合治疗组的疗效显著优于任一单药的药效,并且相对瘤体积分分析,硼替佐米(0.4 mg/kg)与 NL-101(20 mg/kg)联用给药有显著的协同作用。

Table 3 Combinational effect of NL-101 and bortezomib on RPMI 8226 xenograft tumor model ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Group	D35 after xenograft				
	Tumor volume/mm ³	RTV	TGI/%	T/C/%	P
Control(Group 1)	1 950 ± 286	17.0 ± 1.1	—	—	—
Bortezomib(Group 2) 0.4 mg/kg	1 111 ± 131	9.8 ± 0.5	42	58	<0.001
NL-101(Group 3) 10 mg/kg	1 231 ± 111	11.3 ± 1.0	34	66	<0.001
NL-101(Group 4) 20 mg/kg	710 ± 112	6.0 ± 0.5	65	35	<0.001
NL-101(Group 5) 30 mg/kg	210 ± 58	1.9 ± 0.3	89	11	<0.001
Combination(Group 6)(bortezomib 0.4 mg/kg + NL-101 20 mg/kg)	346 ± 27	3.3 ± 0.6	81	19	<0.001

Note: Group 6 vs Group 2, $P < 0.001$; Group 6 vs Group 4, $P = 0.049$; The combination of bortezomib and NL-101 showed significant synergistic reaction by Two-way ANOVA analysis($P = 0.015$)

4 讨论

在抗肿瘤药物中,烷化剂应用最早而且最广泛。自 1942 年应用氮芥治疗恶性淋巴瘤以来,烷化剂已成为肿瘤化学治疗药物中最主要的一类药物。目前,临床上常用的 DNA 烷化剂包括美法仑、环磷酰胺、异环磷酰胺、盐酸苯达莫司汀等,对血液瘤如多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病、实体瘤如乳腺癌等都有较好的疗效。盐酸苯达莫司汀是 19 世纪 60 年代开发的烷化剂,近年研究发现它在治疗多发性骨髓瘤方面具有很好的疗效^[9]。

HDAC 抑制剂是一类新型的靶向抗肿瘤药物。伏立诺他(SAHA)是第 1 个获美国 FDA 批准于 2006 年上市的 HDAC 抑制剂,用于治疗其他药物治疗失败或效果不佳或复发的皮肤 T 细胞淋巴瘤(CTCL)。伏立诺他与其他药物联合治疗有很好的

疗效,如伏立诺他与硼替佐米联用治疗多发性骨髓瘤正在进行Ⅲ期临床^[10]。伏立诺他与 PARP 抑制剂 ABT-888 联用在对 ABT-888 固有抵抗的肿瘤中有很好的抗肿瘤效果^[11]。目前 FDA 已经批准了 4 个 HDAC 抑制剂上市,分别是伏立诺他(SAHA)、罗咪酯肽(romidepsin, FK-228)、贝利司他(belinostat, PXD-101)和帕比司他(panobinostat, LBH-589)。在国内,HDAC 抑制剂西达本胺被 CFDA 批准用于治疗复发和难治性外周 T 细胞淋巴瘤。

根据化合物的构效分析,新分子 NL-101 可能具有独特的抗肿瘤活性:抑制肿瘤细胞 HDAC 活性,可使 DNA 双链和组蛋白结合变得疏松,使得烷化基团更容易攻击 DNA,使得 DNA 烷化剂能发挥更大的作用,从而产生显著的抗肿瘤活性。实验结果也证实达到了最初的设计目的:NL-101 能有效抑制 HDAC3 和 HDAC6 的活性,导致乙酰化组蛋

白 H3 和乙酰化 α -Tubulin 水平增加;同时也发挥了 DNA 损伤作用,使肿瘤细胞中的磷酸化 H2A. X 水平增加。体外在多株多发性骨髓瘤细胞株中都表现出显著的抗增殖活性,而且在 RPMI 8226 小鼠异种移植瘤模型中,单用以及与硼替佐米联用都有令人满意的抑制肿瘤生长作用。

基于 NL-101 优异的抗肿瘤活性,有望将其开发成一个全新的抗肿瘤药物,其他活性有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Manal M, Chandrasekar MJ, Gomathi Priya J. Inhibitors of histone deacetylase as antitumor agents: a critical review [J]. *Bioorg Chem*, 2016, **67**: 18 – 42.

[2] Groselj B, Sharma NL, Hamdy FC, *et al.* Histone deacetylase inhibitors as radiosensitisers: effects on DNA damage signalling and repair [J]. *Bri J Cancer*, 201, **108** (4): 748 – 754.

[3] Sanchez E, Shen J, Steinberg J, *et al.* The histone deacetylase inhibitor LBH589 enhances the anti-myeloma effects of chemotherapy *in vitro* and *in vivo* [J]. *Leuk Res*, 2011, **35**: 373 – 379.

[4] Lee CK, Wang S, Huang X, *et al.* HDAC inhibition synergistically enhances alkylator-induced DNA damage responses and apoptosis

in multiple myeloma cells [J]. *Cancer Lett*, 2010, **296**: 233 – 240.

[5] Ai T, Cui H, Chen L. Multi-targeted histone deacetylase inhibitors in cancer therapy [J]. *Curr Med Chem*, 2012, **19**: 475 – 487.

[6] Cai B, Lyu H, Huang J, *et al.* Combination of bendamustine and entinostat synergistically inhibits proliferation of multiple myeloma cells via induction of apoptosis and DNA damage response [J]. *Cancer Lett*, 2013, **335**: 343 – 350.

[7] Mehrling T, Chen Y. The alkylating-HDAC inhibition fusion principle: taking chemotherapy to the next level with the first in class molecule EDO-S101 [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2016, **16** (1): 20 – 28.

[8] Yu J, Qiu S, Ge Q, *et al.* A novel SAHA-bendamustine hybrid induces apoptosis of leukemia cells [J]. *Oncotarget*, 2015, **6** (24): 20121 – 20131.

[9] Gentile M, Vigna E, Recchia AG, *et al.* Bendamustine in multiple myeloma [J]. *Eur J Haematol*, 2015, **95** (5): 377 – 388.

[10] Dimopoulos M, Siegel DS, Lonial S, *et al.* Vorinostat or placebo in combination with bortezomib in patients with multiple myeloma (VANTAGE 088): a multicentre, randomised, double-blind study [J]. *Lancet Oncol*, 2013, **14** (11): 1129 – 1140.

[11] Yalon M, Tuval-Kochen L. Overcoming resistance of cancer cells to PARP-1 Inhibitors with three different drug combinations [J]. *PLoS ONE*, 2016, **11** (5): e0155711.



中国药科大学学报

中国精品科技期刊 中国高校精品科技期刊
中国中文核心期刊 中国科学引文数据库核心期刊

传播医药科技创新研究成果的优秀媒体

药学前沿

提供药学领域的前沿信息 反映最新的药学研究进展

创新成果

展示医药科技最新成果 构建学术交流的平台

研究论文

科学研究原创论文 国家重大药学研究基金产出论文

邮发代号: 28-115, 欢迎订阅, 欢迎投稿!