

靶向 HIF-1 α /p300 蛋白-蛋白相互作用抑制剂的研究进展莫小飞^{1,2}, 徐晓莉^{1,2}, 王亚楼^{2*}, 尤启冬^{1,2**}(中国药科大学¹江苏省药物分子设计与成药性优化重点实验室;²药物化学系, 南京 210009)

摘要 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia induced factor-1 α , HIF-1 α) 是肿瘤适应缺氧微环境的重要调节因子。它调控细胞增殖与存活、新陈代谢、血管生成、入侵与转移等相关行为的 100 多个靶基因, 而 HIF-1 α /p300 是调控这些下游基因表达的重要复合物, 靶向 HIF-1 α /p300 蛋白-蛋白相互作用展开抑制剂的开发成为抗肿瘤药物研究的又一热点。本文对 HIF-1 α 信号通路、HIF-1 α /p300 蛋白-蛋白相互作用的结合模式以及近年 HIF-1 α /p300 蛋白-蛋白相互作用抑制剂的研究进展进行了综述, 为该类抑制剂的设计提供参考。

关键词 缺氧诱导因子-1 α ; p300; 蛋白-蛋白相互作用; 抗肿瘤; 进展

中图分类号 R914.5 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)05-0515-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170502

引用本文 莫小飞, 徐晓莉, 王亚楼, 等. 靶向 HIF-1 α /p300 蛋白-蛋白相互作用抑制剂的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(5): 515–522.

Cite this article as: MO Xiaofei, XU Xiaoli, WANG Yalou, *et al.* Advances in the HIF-1 α /p300 protein-protein interaction inhibitors[J]. *J China Pharm Univ*, 2017, 48(5): 515–522.

Advances in the HIF-1 α /p300 protein-protein interaction inhibitorsMO Xiaofei^{1,2}, XU Xiaoli^{1,2}, WANG Yalou^{2*}, YOU Qidong^{1,2**}¹ Jiangsu Key Laboratory of Drug Design and Optimization;² Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Hypoxia induced factor-1 α (HIF-1 α) is a key regulation factor that helps tumor adapt itself to the hypoxia microenvironment. It regulates the expression of more than 100 target genes that control cell proliferation and survival, metabolism, angiogenesis, invasion and metastasis. HIF-1 α /p300, a core complex that regulates downstream genes expression, is considered as a potential antitumor target. This review summarizes HIF-1 α signal pathway, the binding mode of HIF-1 α /p300 protein-protein interaction and recent development on the HIF-1 α /p300 protein-protein interaction inhibitors, which provides reference to the design of this kind of inhibitors.

Key words HIF-1 α ; p300; protein-protein interaction; antitumor; progress

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81502990, No. 81573346) and the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK20150691)

肿瘤细胞在快速增殖的过程中需要消耗大量的氧气, 导致肿瘤组织因为血氧供应不足而逐步形成慢性缺氧的微环境。为了应对这种缺氧的微环境, 肿瘤细胞会针对性的进行自我调节, 通过一系列信号通路调控肿瘤细胞的能量代谢、血管生成、

增殖与存活、入侵与转移等行为, 其中, 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia induced factor-1, HIF-1 α) 是肿瘤细胞在缺氧环境下调控这些信号通路的关键蛋白之一^[1]。目前已经发现了超过 100 个基因受 HIF-1 α 的转录调控, 这些基因编码蛋白的功能涉及诸多方

收稿日期 2017-02-05 通信作者 * Tel: 13851634375 E-mail: wang_yalou@tom.com

** Tel: 025-83271351 E-mail: youqd@163.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (NO. 81502990, No. 81573346); 江苏省自然科学基金资助项目 (No. BK20150691)

面,包括:(1)能量代谢调控;(2)血管生成;(3)细胞增殖与存活;(4)迁移与入侵等^[2]。近年来,HIF-1 α 抑制剂的研发已引起了全球制药企业和研究机构的重视。尽管如此,选择性高、活性良好的 HIF-1 α 抑制剂仍不多见,究其原因,主要存在以下几个问题:(1)多是间接性抑制 HIF-1 α 信号通路,活性低且特异性差;(2)HIF-1 α 的表达受多条信号通路控制,因此单独抑制 HIF-1 α 容易引起其他通路的反馈调节,从而发生耐药性等问题;(3)HIF-1 α 抑制剂多为天然产物、类天然产物或为多肽及肽衍生物,选择性低,理化性质较差,缺乏成药性。为了解决这些问题,迫切需要提高抑制剂对于 HIF-1 α 的亲合力和选择性。在这样的背景下,直接针对 HIF-1 α /p300 蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 的抑制剂设计思路应运而生。

HIF-1 α /p300 PPI 是 HIF-1 α 调控下游基因表达的核心^[3]。p300 被视为转录因子信号传导的整合器,管理着多种转录因子对靶基因的有序激活^[4]。肿瘤细胞高度表达的 HIF-1 α 在细胞核内募集 p300,形成 HIF-1 α /p300 复合物,经过染色质组蛋白乙酰化,与 DNA 的缺氧应答元件 (hypoxic response element, HRE) 识别、组装成转录起始复合物后,进而调控下游基因表达^[5–6]。相比于其他的 HIF-1 α 抑制剂而言,抑制 HIF-1 α /p300 PPI 的优势在于:(1)相比于肿瘤细胞中高水平的 HIF-1 α ,细胞核内的 p300 水平十分有限,因此抑制 HIF-1 α /p300 PPI 的策略比针对 HIF-1 α 胞内水平的调控将会更加有效;(2)在诸如 p53 突变恶性肿瘤细胞中,由于缺少了 p53/MDM2 的降解途径,HIF-1 α 水平的大量增加,抑制胞内 HIF-1 α 水平难以获得满意的治疗效果;(3)HIF-1 α /p300 PPI 分子结合机制目前已有成熟的研究,针对这一靶点的药物设计更易于获得靶向性优秀的药物,从而降低药物的毒性。因此,合理设计靶向 HIF-1 α /p300 PPI 的抑制剂,被视为非常有前景的 HIF-1 α 调控策略。

本文在介绍 HIF-1 α 蛋白信号通路与 HIF-1 α /p300 相互作用的基础上,回顾近年来针对 HIF-1 α /p300 PPI 抑制剂的研究进展,总结其作用模式,为设计靶向 HIF-1 α /p300 PPI 新型抑制剂的开发提供参考。

1 HIF-1 α 蛋白信号通路

HIF 蛋白是在哺乳动物细胞内发现的一种转录因子,由两个亚基异源二聚构成,它们分别是对氧敏感的 HIF-1 α 和稳定表达的 HIF-1 β 。HIF-1 α 在羧基端有 N 端和 C 端两个反式激活区 (transactivation domain, TAD)。在缺氧条件下,C 端的反式激活区与转录共激活剂 p300 相互作用结合,参与调节转录激活^[7]。

HIF-1 α 的表达受两条信号通路控制,分别是磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 通路。当这两条通路被激活后,所表达的幼稚 HIF-1 α 被热休克蛋白 Hsp90 进行修饰加工后具有正常的生理功能,进而与 HIF-1 β 形成二聚体,二聚体进入细胞核后,会与共转录因子 p300/CBP 结合,形成 HIF-p300/CBP 复合物,该复合物与 DNA 的低氧应答元件 (HRE) 结合,调控下游基因的转录 (图 1)^[8–9]。

在常氧条件下,胞内 HIF-1 α 的含量非常有限,其原因如下:(1)脯氨酸羟化酶 (prolylhydroxylase-domain protein, PHD) 与抑 HIF-1 因子 (factor inhibiting HIF-1, FIH-1) 会将 HIF-1 α 的 P402、P564 与 N803 羟化,继而 HIF-1 α 被泛素蛋白识别降解,而缺氧条件下无法羟化这 3 个氨基酸,HIF-1 α 则会在细胞内聚集;(2)正常细胞的 MDM2 泛素蛋白连接酶也可调控 HIF-1 α 的降解。HIF-1 α 与 p53 蛋白连接后,将募集 MDM2,使 HIF-1 α 降解。因此对于 p53 缺失的肿瘤细胞将增加 HIF-1 α 在胞内的水平^[10]。

2 HIF-1 α /p300 蛋白-蛋白相互作用模式

通过多维核磁共振得到的 HIF-1 α /p300 蛋白-蛋白相互作用复合物的结构 (图 2-A, PDB ID: 1L8C) 显示:HIF-1 α C-TAD 深嵌于 p300 CH1 中,几乎一半的面积位于两者 PPI 的作用面中。研究显示,HIF-1 α 的下述氨基酸对于与 p300 的结合贡献较大^[11–13]:(1)S790-A804 段:D799 与 p300 CH1 的 K349、G801 与 p300 CH1 的 K401 有氢键作用 (图 2-B);N803 被称为缺氧开关 (hypoxic switch),在缺氧状态下,其与 p300 的 D346 形成氢键,并与 HIF-1 α 的 D799 形成氢键,稳定了 α 螺旋构象;在

常氧状态下,FIH-1 羟化 N803 的 β -亚甲基,形成赤型羟基产物,羟基化后将破坏原亚甲基与 p300 的 I353、K349 的疏水作用,也破坏了 N803 与 D799 的氢键形成,降低了 Helix 2 的 α 螺旋稳定性(图 2-C);(2) P805-N826 段:L1818、L1819、L822 与 p300 形

成的疏水空腔结合,若将其中任何一个亮氨酸突变后,将破坏 HIF-1 α 的转录活性(图 2-D);E817 与 p300 CH1 的 K419、D823 与 p300 CH1 的 R368 形成离子键(图 2-E)。

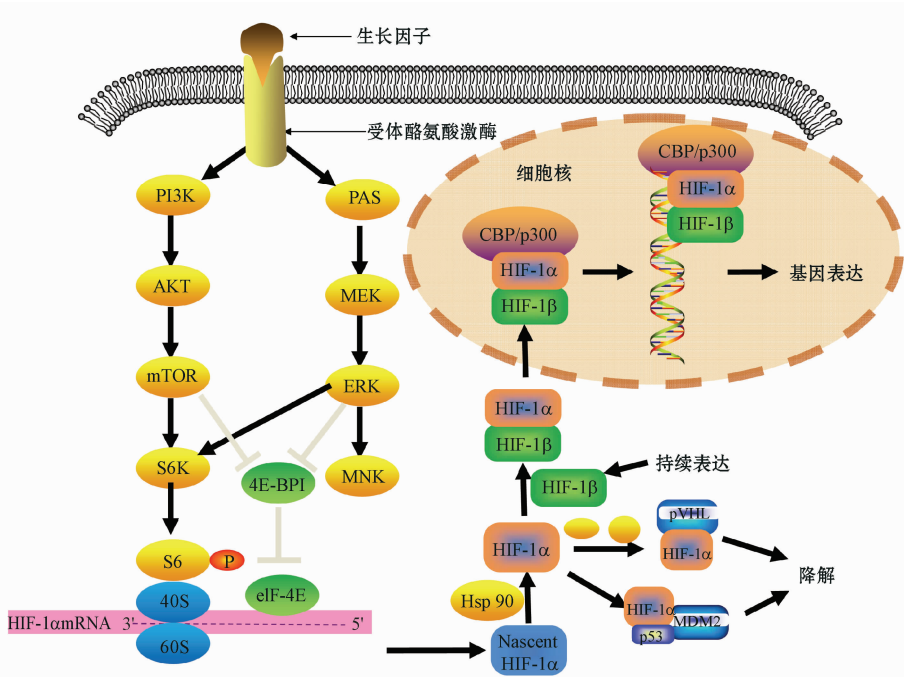


图 1 HIF-1 α 信号通路作用图

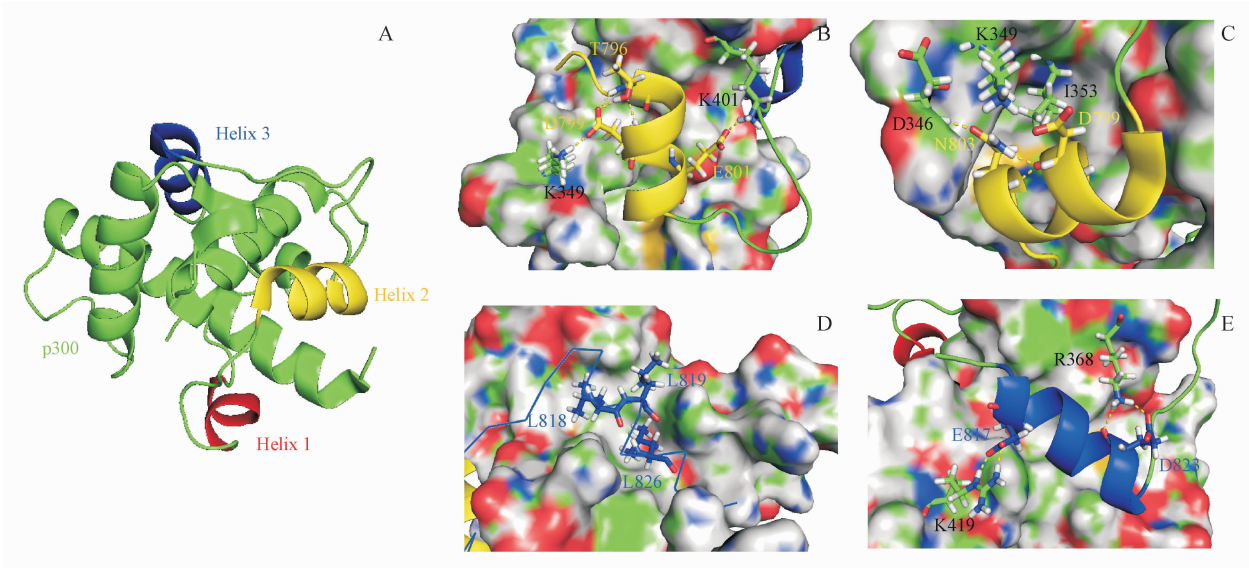


图 2 HIF-1 α /p300 的作用模式
A: HIF-1 α /p300/CBP 相互作用的晶体结构(PDB:1L8C);B: D799 与 K349、G801 与 K401 的氢键作用;C: N803 与 D346、D799 的相互作用;
D: L1818、L1819、L822 与 p300 的疏水作用;E: E817 与 K419、D823 与 R368 的氢键作用

就多肽段而言, Helix 2 和 Helix 3 对于与 p300 的结合能贡献较大。荧光偏振实验显示

Helix 2 所在多肽段 794 ~ 804 与 p300 结合的 K_d 大于 1 mmol/L, Helix 3 所在多肽段 816 ~ 826 与 p300

结合的 K_d 为 200 $\mu\text{mol/L}$ 。然而,相比于 3 个螺旋区连接的肽段 782~826 [$K_d = (16 \pm 0.06) \text{ nmol/L}$], 独立的螺旋区的结合力均不强,并且只有两个以上的螺旋区相连,才能显示出阻断 HIF-1 α /p300 PPI 活性。因此,对于阻断 HIF-1 α /p300/CBP PPI 而言,着眼点应放在 Helix 2 和 Helix 3 的氨基酸上^[14]。

3 HIF-1 α /p300/CBP PPI 抑制剂的研究进展

3.1 拟肽类抑制剂

Henchey 等^[15]通过氢键替代(hydrogen bond surrogate, HBS)的方法模拟 HIF-1 α C-TAD 的 α 螺旋结构(799~804 肽段),设计合成得到了化合物 1(图 3)。细胞生存实验证实化合物 1 对 HeLa 细胞无明显的毒性,圆二色谱实验显示其也不引起 p300 的结构改变。化合物 1 与 p300 的 K_d 为 $(420 \pm 35) \text{ nmol/L}$,在 1 $\mu\text{mol/L}$ 时对 HeLa 细胞中 VEGF 与 GLUT1 基因表达的抑制率为 $(45 \pm 8) \%$ 。该课题组通过模拟 6 个氨基酸残基的肽段,很好地阻断了 HIF-1 α /p300 的蛋白-蛋白相互作用,并且提供了热区关键作用氨基酸的结构信息,为小分子调控剂的设计提供了重要研究基础。

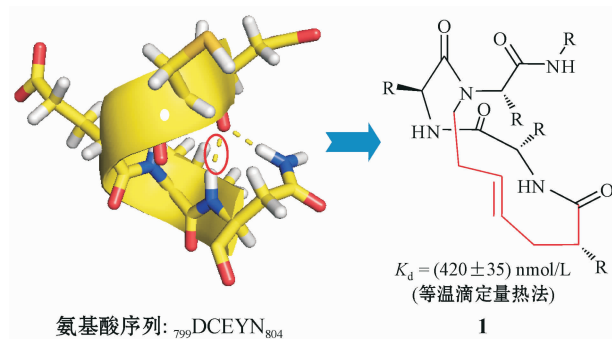


图 3 化合物 1 的结构

Kushal 等^[16]同样运用氢键替代的方法模拟 C-TAD 的 817~824 肽段,设计合成了化合物 2(图 4)。他们选择将 E817 与 L819 通过反式-4-烯-己酰基固定构象,另外通过计算丙氨酸突变分析 Leu819 残基对于结合的贡献不大,将其替换为丙氨酸。该课题组通过 p300 的 Trp403 内荧光的改变测试化合物与 p300 结合 K_d 为 $(690 \pm 25) \text{ nmol/L}$,qRT-PCR 测定化合物 2 在给药量 10 $\mu\text{mol/L}$ 时对下游基因 VEGF 的表达抑制率为 50%。另外,他们用接种 786-O RCC 细胞系的小鼠,按 13 mg/kg 的给药量给药 30 d,结果显示,化合物 2 给药组相

比空白对照组肿瘤减小了 53%,并且对于小鼠体重无明显影响。该课题组检测了化合物 2 的体内实验结果,并且获得了良好的药理活性,这为以 HIF-1 α /p300 展开抑制剂研发提供了强有力证据。

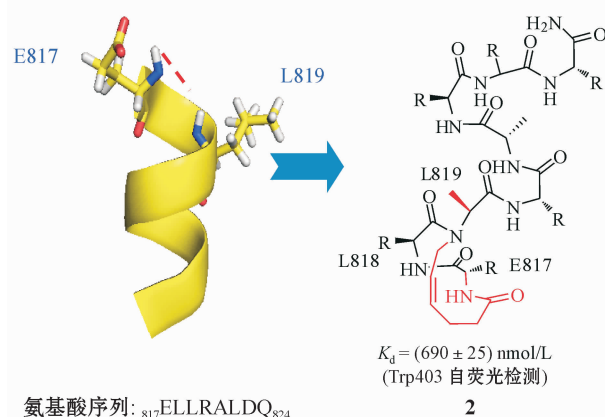


图 4 化合物 2 的结构

Burslem 等^[17]以 3-氧-烷基低聚苯甲酰胺为骨架,模拟了 HIF-1 α 的 leu141、leu145 和 leu148 的残基,设计合成了化合物 3(图 5)。FP 实验测得化合物 3 与 p300 CH1 段的 330~420 结合 IC_{50} 为 9.19 $\mu\text{mol/L}$ 。分子对接显示,异丙基侧链与 Val148 有疏水作用,中间位苯环的异丁基位于疏水区域(His20,Leu17 与 Leu16 构成的空腔),端位苯环的异丁基与 Leu141 有疏水作用。该课题组使用一种新的骨架来开发 HIF-1 α 拟肽,在分子水平显现出一定的活性,其细胞水平等体内外实验正在进一步研究中。

Lao 等^[18]模拟 HIF-1 α C-TAD 的 818~824 段设计合成了化合物 4(图 5)。他们将相邻的两个氨基酸的氮,以乙烯基连接,形成哌嗪酮环,模拟自然状态下多肽的手性结构。通过 p300 的 Trp403 内荧光变化测定化合物 4 的 K_d 为 $(530 \pm 140) \text{ nmol/L}$ 。MTT 实验显示该类化合物的 EC_{50} 均为 30~40 $\mu\text{mol/L}$,显示出低毒性;荧光素酶报告基因实验显示在 20 $\mu\text{mol/L}$ 时,该化合物可抑制 HIF-1 α 的转录活性。用荷瘤 MDA-MB-231 细胞株的小鼠体内实验证实,按照 15 mg/kg 腹腔注射给药 30 d,相比空白对照组肿瘤质量减小了 45%,并且以 100 mg/kg 的剂量给药 30 d 对小鼠无明显的不良反应。该课题组将本靶点抑制剂的分子量突破性地下降到 500,并且进一步减少模拟氨基酸的数目,缩小了该靶点的 PPI 作用的热区氨基酸范围,

为将来设计小分子抑制剂提供了重要的信息;同时,体内活性实验也证明了该化合物的生物稳定性、毒性以及药理活性俱佳,为该靶点的抑制剂的开发提供了重要经验。

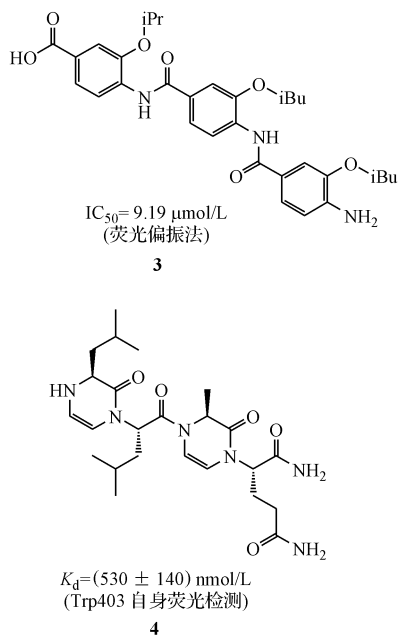


图 5 化合物 3 与化合物 4 的结构

3.2 小分子类靶向 HIF-1 α /p300 抑制剂

3.2.1 天然产物类抑制剂 Cook 等^[19]发现环二

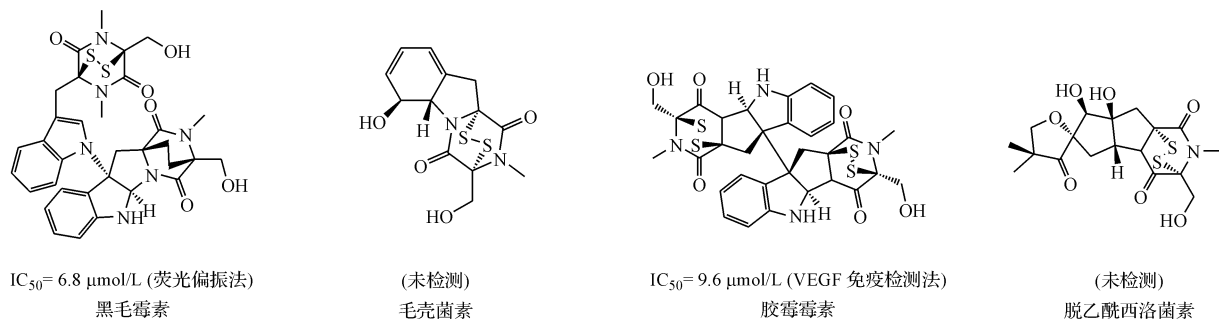


图 6 环二硫二酮哌嗪类 (ETPs) 小分子靶向 HIF-1 α /p300 抑制剂的结构

Jayatunga 等^[22]通过 ELISA 法进行高通量筛选天然产物库,发现了醌类、茛二酮类化合物可阻断 HIF-1 α /p300 PPI 作用(图 7)。这两类化合物具有 α,β -不饱和羰基,可对富电子基团进攻,同时也可与过渡金属离子形成络合物。该课题组进行了化合物与 p300 的锌离子结合力实验,发现其与锌离子结合是非选择性的;而用 HeLa 细胞株进行的活细胞检测实验显示,其毒性与活性相关。与 ETP 类化合物类似,该类化合物同样因为具有活性反应

硫二酮哌嗪类化合物 (epidithiodiketo piperazine, ETP) 具有阻断 HIF-1 α /p300 PPI 作用。该类化合物的代表性天然产物有:黑毛霉素 (chetomin)、毛壳菌素 (gliotoxin)、胶霉毒素 (chaetocin) 等(图 6)。他们通过免疫共沉淀实验以及非变性 ESI-MS 实验证实了 ETP 与 p300 的 CH1 段的锌离子中心结合,诱导 p300 结构改变,从而失去与 HIF-1 α 结合能力。细胞生存实验显示,ETP 类化合物的 IC_{50} 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 左右,对 VEGF 基因表达的 IC_{50} 为百纳摩尔级。Block 等^[20]分析构效关系得知其桥二硫键至关重要,它是与锌离子中心结合的重要基团。通过表面等离子共振实验 (SPR) 发现还原态的巯基结合力比氧化态的二硫键大很多。Reece 等^[21]建立 PC-3 细胞荷瘤小鼠模型模型,按 0.25 mg/kg (毛壳菌素) 或 0.5 mg/kg (黑毛霉素、胶霉毒素) 给药 15 d 后,肿瘤体积明显减小,免疫组化实验发现胶霉毒素组的肿瘤有明显的坏死。这是由于 p300/CBP 蛋白是多效性、多区域结合性,因此当 p300 蛋白构象发生变化以后,在调控 HRE 基因转录的同时,也会导致其他基因转录紊乱,引起不良反应。因此该类化合物属于非特异性 HIF-1 α /p300 失活抑制剂,毒性较大,成药性差,不适宜进一步开发。

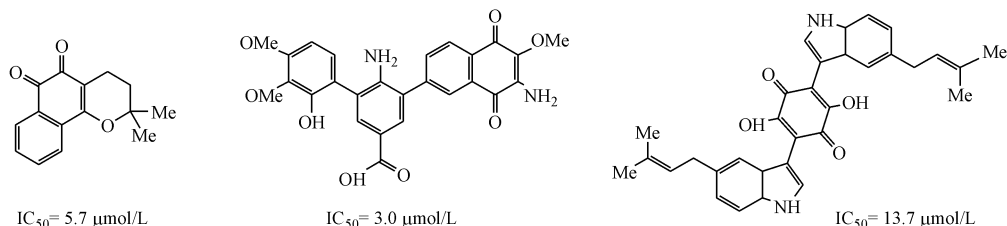
基团,因此缺乏选择性,并且毒性大,不适合作为候选药物进行进一步的研究。

3.2.2 上市药物中发现的 HIF-1 α /p300 PPI 抑制剂 从经典药物中发现新的药理活性一直是药物化学中发现先导化合物的手段之一。Na 等^[23]研究发现甲萘醌 (menadione) 和依他尼酸 (ethacrynic acid) 具有阻断 HIF-1 α /p300 PPI 作用(图 8)。甲萘醌 (维生素 K₃),为促凝血药;依他尼酸是一种利尿药,主要通过抑制肾小管髓袢厚壁段对 NaCl 的

主动重吸收使得排尿增加。在分子水平上,通过荧光偏振实验发现甲萘醌和依他尼酸对于阻断 HIF-1 α /p300 PPI 的 IC_{50} 分别为 $(9.2 \pm 1.21) \mu\text{mol/L}$ 和 $(131.1 \pm 5.81) \mu\text{mol/L}$,免疫共沉淀实验证实这两个化合物与 HIF-1 α 结合,从而阻断其与 p300/CBP 的 PPI。细胞水平上,MTT 实验证实这两个化合物细胞毒性很小,甲萘醌和依他尼酸的 IC_{50} 分别为 $(40.6 \pm 3.2) \mu\text{mol/L}$ 和 $(234.4 \pm 6.5) \mu\text{mol/L}$,

Western blot 实验证实它们不影响 HIF-1 α 的表达,而 qRT-PCR 检测这两个化合物可以降低下游 VEGF 的转录表达。甲萘醌的抑制活性较优,然而其结构含有萘醌,易与蛋白质的富电子基团共价结合,因此其毒性较大;而依他尼酸作为常用的利尿剂,安全性已经过临床验证,若需要将其改造成 HIF-1 α /p300 PPI,其构效关系与靶点选择性需要进一步研究,从而使得 PPI 阻断活性增加,利尿活性减小。

醌类衍生物 (荧光偏振法)



茚二酮类衍生物 (荧光偏振法)

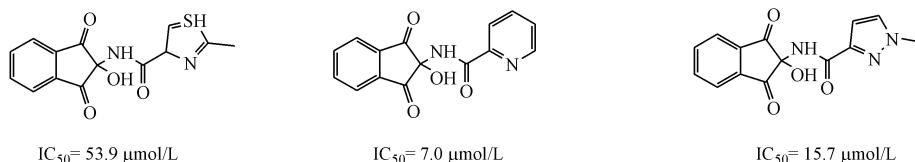


图 7 醌类、茚二酮类小分子靶向 HIF-1 α /p300 抑制剂的结构

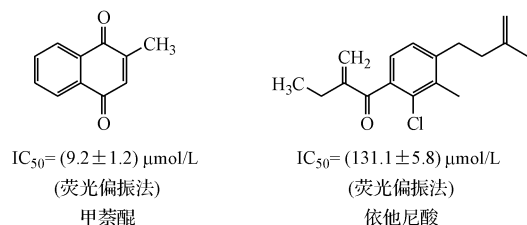


图 8 甲萘醌和依他尼酸的结构

Wu 等^[24]发现新生霉素 (novobiocin) 具有阻断 HIF-1 α /p300 PPI 作用 (图 9)。新生霉素是香豆素类抗生素的代表药物,对 DNA 螺旋酶有很好的抑制作用,主要用于耐药性金葡菌引起的感染,如肺炎、败血症等。Pull-down 实验证实新生霉素与 HIF-1 α 结合,从而阻断其与 p300 的 PPI 作用。MCF-7 和 A549 细胞株进行的增殖实验显示,新生霉素可以抑制它们的增殖和集落形成。该药物对多种肿瘤细胞有抑制作用,并能与抗肿瘤药联合应用,逆转抗肿瘤药的耐药性。

3.2.3 新型合成小分子类抑制剂 Kwon 等^[25]通过高通量筛选内部化合物库的 384 个分子,发现了

化合物 5 可以阻断 HIF-1 α /p300 PPI (图 10),其 IC_{50} 为 $107 \mu\text{mol/L}$ (荧光偏振法)。通过 Western blot 实验证实其不影响 HIF-1 α 表达和稳定性;MTT 实验证实该化合物对 HeLa 细胞毒性不强;qRT-PCR 检测其可抑制下游的 VEGF 基因转录表达。该化合物显现出的 PPI 抑制活性不高,说明其对 HIF-1 α /p300 PPI 靶向性不强,需要进一步优化。

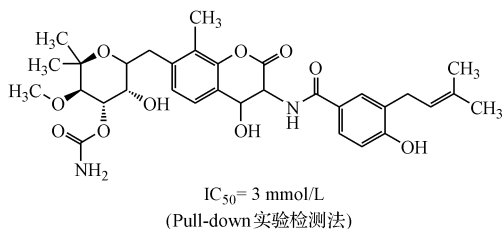


图 9 新生霉素的结构

Mooring 等^[26]从 2,2-二甲基苯并吡喃组化化学库 1 万个分子中,筛选出化合物 6 (KCN1) (图 10),其 IC_{50} 为 $(0.65 \pm 0.09) \mu\text{mol/L}$ (荧光素酶报告基因实验),并且对其进行了初步的构效关系研究。由于 KCN1 的 $\lg P_{7.4}$ 是 3.7,溶解度为 (0.009 ± 0.001)

$\mu\text{g/mL}$,半衰期为 11 h,其理化性质等不佳,Mun 等^[27]通过结构改造,得到化合物 **6a**(图 10)。化合物 **6a** 的相关性质得到了大幅度的提高, $\lg P_{7.4}$ 是 2.0,溶解度为 $(1 \pm 0.1) \mu\text{g/mL}$,半衰期 20 h。在提高理化性质的同时保持了活性,荧光素酶报告基因实验结果显示:在 $10 \mu\text{mol/L}$ 以下,化合物 **6a** 与 KCN1 均有很好的抑制 HIF-1 α 转录活性;抗增殖实验测得化合物 **6a** 对 LN229 细胞系的 IC_{50} 为 $100 \mu\text{mol/L}$ (常氧条件), $126 \mu\text{mol/L}$ (缺氧条件)。Qi 等^[28]进一步研究了 KCN1 的 PPI 抑制机制,他们通过 SPR 实验和 Pull-down 实验证实 KCN1 与 p300 结合,从而阻断其与 HIF-1 α 的 PPI 作用,其 K_d 约 345 nmol/L 。遗憾的是,并没有相关的小分子-蛋白质共结晶结果直观地证实以上结论。该课题组通过计算

机模拟了 KCN1 与 p300 的结合模型(图 11 所示),N-苯基位于由 Leu345,Leu346,Leu376 和 Ile400 组成的疏水深口袋区,与 His349 有 π - π 堆积力;二甲氧基苯基位于 Leu346,其中 1 个甲氧基与 Trp403 相对;二甲基苯并吡喃环面向 Ile400, Met379 的侧链;芳环的 1 个甲氧基与 Lys350、 SO_2 与 Lys404 以及苯并吡喃的氧与 Ser401 有氢键作用。Wang 等^[29]对 KCN1 进行了体内抗肿瘤实验,显示出其具有较好的体内抗肿瘤活性。作为为数不多的 HIF-1 α /p300 PPI 抑制剂,KCN1 是目前所发现的活性最好的小分子新骨架抑制剂,并且已经通过许多实验证实了其靶点活性与体内抗肿瘤活性。不足的是,没有相关的小分子-蛋白质复合物的共结晶结果,未能对其进行进一步结构修饰与优化,从而提供更多宝贵的信息。

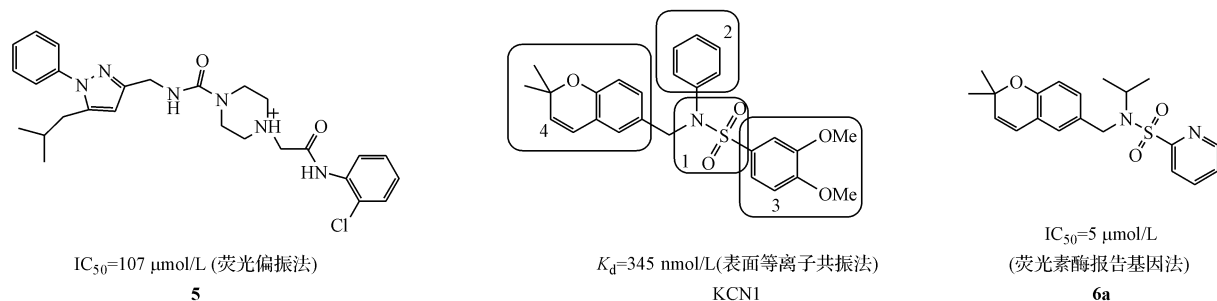


图 10 化合物 **5**, KCN1 与化合物 **6a** 的结构

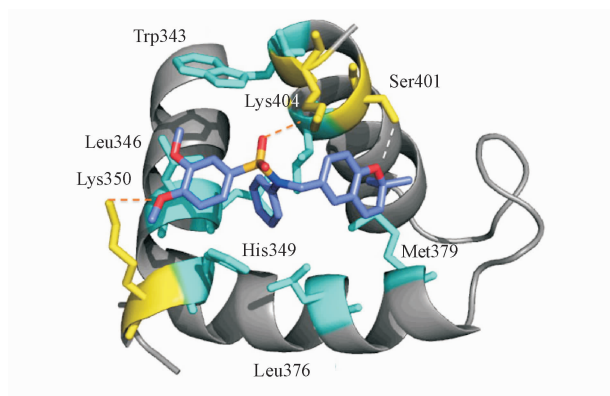


图 11 KCN1 与 p300 的结合模式图

4 结语与展望

针对 HIF-1 α /p300 开发抑制剂,目前所发现的新骨架抑制剂并不多,并且活性均难以到达亚微摩尔甚至纳摩尔级,这与该靶点的特征有关。从 HIF-1 α 与 p300 的结合模式可知,两者的相互作用包含了 3 个 α 螺旋区的肽段,相互作用面大,所涉及的热点氨基酸较多且相对分散,仅仅针对单个螺

旋区还不能获得良好的阻断效果,因此,如何在有限的相对分子质量下,设计出高活性、高特异性小分子抑制剂是今后针对该靶点研发的一个难点。通过分析,HIF-1 α 的第 2 个和第 3 个 α 螺旋区对于该 PPI 相对重要,因此着眼点应该放在这两个螺旋区的热点氨基酸上。另外,研究结果显示,针对 HIF-1 α 的 D799-N803、E817-D823 这两段肽链与 p300 的 PPI 着手获得了一些活性较优的分子,这也提示了这两段肽链对于该 PPI 的重要性。后续研究可依据这两段肽链与 p300 的相互作用着手研究,以获得活性与成药性兼顾的小分子抑制剂。

HIF 作为抗肿瘤药物靶点,目前也存在着很多亟需解决的问题,例如 HIF 通路对哪些肿瘤的发生起主导作用,这决定着针对该靶点的治疗策略适用于何种肿瘤;由于目前所发现的高特异性的 HIF 通路抑制剂所表现的肿瘤细胞杀伤作用并不强,因此,如何表征抑制 HIF 通路后个体抗肿瘤效应十分重要;越来越多的研究证明,多靶点的联合用药

是一个非常有效的抗肿瘤治疗策略^[30],而 HIF 通路抑制剂与其他肿瘤治疗策略联合使用情况也亟需探索研究。

参考文献

- [1] Harris AL. Hypoxia—a key regulatory factor in tumor growth[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, **2**(1): 38–47.
- [2] Semenza GL. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2010, **20**(1): 51–56.
- [3] Arany Z, Huang LE, Eckner R, et al. An essential role for p300/CBP in the cellular response to hypoxia[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, **93**(23): 12969–12973.
- [4] Kamei Y, Xu L, Heinzel T, et al. A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors[J]. *Cell*, 1996, **85**(3): 403–414.
- [5] Vo N, Goodman RH. CREB-binding protein and p300 in transcriptional regulation[J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**(17): 13505–13508.
- [6] Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress[J]. *Mol Cell*, 2010, **40**(2): 294–309.
- [7] Xia Y, Choi HK, Lee K. Recent advances in hypoxia-inducible factor (HIF)-1 inhibitors[J]. *Eur J Med Chem*, 2012, **49**: 24–40.
- [8] Semenza GL. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics[J]. *Oncogene*, 2010, **29**(5): 625–634.
- [9] Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, **3**(10): 721–732.
- [10] Semenza GL. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine[J]. *Cell*, 2012, **148**(3): 399–408.
- [11] Freedman SJ, Sun ZY, Poy F, et al. Structural basis for recruitment of CBP/p300 by hypoxia-inducible factor-1 alpha[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, **99**(8): 5367–5372.
- [12] Shimoda LA, Semenza GL. Functional analysis of the role of hypoxia-inducible factor 1 in the pathogenesis of hypoxic pulmonary hypertension[J]. *Methods Enzymol*, 2004, **381**(1): 121–129.
- [13] Dames SA, Martinezyamout M, De Guzman RN, et al. Structural basis for Hif-1 alpha /CBP recognition in the cellular hypoxic response[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, **99**(8): 5271–5276.
- [14] Kyle HF, Wickson KF, Stott J, et al. Exploration of the HIF-1 α /p300 interface using peptide and Adhiron phage display technologies[J]. *Mol Biosyst*, 2015, **11**(10): 2738–2749.
- [15] Henchey LK, Kushal S, Dubey R, et al. Inhibition of hypoxia inducible factor 1 transcription coactivator interaction by a hydrogen bond surrogate α -helix[J]. *J Am Chem Soc*, 2009, **132**(3): 941–943.
- [16] Kushal S, Lao BB, Henchey LK, et al. Protein domain mimetics as *in vivo* modulators of hypoxia-inducible factor signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, **110**(39): 15602–15607.
- [17] Burslem GM, Kyle HF, Breeze AL, et al. Small-molecule proteomimetic inhibitors of the HIF-1 α -p300 protein-protein Interaction[J]. *ChemBioChem*, 2014, **15**(8): 1083–1087.
- [18] Lao BB, Grishagin I, Mesallati H, et al. *In vivo* modulation of hypoxia-inducible signaling by topographical helix mimetics[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, **111**(21): 7531–7536.
- [19] Cook KM, Hilton ST, Mecnović J, et al. Epidithiodiketopiperazines block the interaction between hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and p300 by a zinc ejection mechanism[J]. *J Biol Chem*, 2009, **284**(39): 26831–26838.
- [20] Block KM, Wang H, Szabo LZ, et al. Direct inhibition of hypoxia-inducible transcription factor complex with designed dimeric epidithiodiketopiperazine[J]. *J Am Chem Soc*, 2009, **131**(50): 18078–18088.
- [21] Reece KM, Richardson ED, Cook KM, et al. Epidithiodiketopiperazines (ETPs) exhibit *in vitro* antiangiogenic and *in vivo* antitumor activity by disrupting the HIF-1 α /p300 complex in a pre-clinical model of prostate cancer[J]. *Mol Cancer*, 2014, **13**(1): 91.
- [22] Jayatunga MK, Thompson S, McKee TC, et al. Inhibition of the HIF1 α -p300 interaction by quinone-and indandione-mediated ejection of structural Zn (II)[J]. *Eur J Med Chem*, 2015, **94**: 509–516.
- [23] Na YR, Han KC, Park H, et al. Menadione and ethacrynic acid inhibit the hypoxia-inducible factor (HIF) pathway by disrupting HIF-1 α interaction with p300[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, **434**(4): 879–884.
- [24] Wu D, Zhang R, Zhao R, et al. A novel function of novobiocin: disrupting the interaction of HIF 1 α and p300/CBP through direct binding to the HIF-1 α C-terminal activation domain[J]. *PLoS ONE*, 2013, **8**(5): e62014.
- [25] Kwon HS, Kim DR, Yang EG, et al. Inhibition of VEGF transcription through blockade of the hypoxia inducible factor-1 α -p300 interaction by a small molecule[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, **22**(16): 5249–5252.
- [26] Mooring SR, Jin H, Devi NS, et al. Design and synthesis of novel small-molecule inhibitors of the hypoxia inducible factor pathway[J]. *J Med Chem*, 2011, **54**(24): 8471–8489.
- [27] Mun J, Jabbar AA, Devi NS, et al. Design and *in vitro* activities of *N*-alkyl-*N*-[(8-*R*-2, 2-dimethyl-2*H*-chromen-6-yl) methyl] heteroarylsulfonamides, novel, small-molecule hypoxia inducible factor-1 pathway inhibitors and anticancer agents[J]. *J Med Chem*, 2012, **55**(15): 6738–6750.
- [28] Shi Q, Yin S, Kaluz S, et al. Binding model for the interaction of anticancer arylsulfonamides with the p300 transcription cofactor[J]. *ACS Med Chem Letters*, 2012, **3**(8): 620–625.
- [29] Wang W, Ao L, Rayburn ER, et al. KCN1, a novel synthetic sulfonamide anticancer agent; *in vitro* and *in vivo* anti-pancreatic cancer activities and preclinical pharmacology[J]. *PLoS ONE*, 2012, **7**(9): e44883.
- [30] Liu F, Sun HP, You QD. Advances in small-molecule inhibitor targeting Hsp 90-Cdc37 protein-protein interaction[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2015, **46**(3): 272–278.