

· 前沿与进展 ·

ADVANCES IN
PHARMACEUTICAL SCIENCES

组蛋白乙酰转移酶 p300/CBP 抑制剂的研究进展

吴军¹, 王亚洲², 杨圣伟², 李志裕^{1*}

(1. 中国药科大学药学院, 江苏 南京 211198; 2. 南京圣和药业研发中心, 江苏 南京 210018)

【摘要】由高度同源的腺病毒 E1A 相关的 300 kDa 蛋白 (p300) 和环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (CREB) 的结合蛋白 (CBP) 组成的 p300/CBP 家族是组蛋白乙酰转移酶 (HAT) 家族主要成员之一。p300/CBP 参与细胞周期进展和细胞的生长、分化和发育, 是一类非常重要的辅激活因子, 可以调节多种关键转录调节因子的功能。p300/CBP 与多种肿瘤疾病密切相关, 是一个极具应用前景的肿瘤治疗靶标。综述 p300/CBP 抑制剂的研究进展, 旨在为开发新型选择性 p300/CBP 抑制剂提供参考。

【关键词】p300/CBP; 组蛋白乙酰转移酶结构域; 溴域; 抑制剂

【中图分类号】R914

【文献标志码】A

【文章编号】1001-5094 (2019) 02-0118-09

Recent Advances in Inhibitors of Histone
Acetyltransferase p300/CBPWU Jun¹, WANG Yazhou², YANG Shengwei², LI Zhiyu¹

(1. College of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 2. R&D Center, Nanjing Shenghe Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210018, China)

【Abstract】The p300/CBP family consisting of the highly homologous adenovirus E1A-associated 300 kDa protein (p300) and CREB (cAMP responsive element binding protein) binding protein (CBP) is one of the major members of the histone acetyltransferases families (HAT). Acting as a very important coactivator that can regulate the functions of key transcription regulatory factors, p300/CBP is involved in cell cycle progression as well as cell growth, differentiation and development. Since p300/CBP is also closely related to a variety of tumors, it emerges as a promising target for tumor therapy. This paper reviewed the research progress of p300/CBP inhibitors in order to provide reference for the development of novel selective p300/CBP inhibitors.

【Key words】p300/CBP; HAT domain; bromodomain; inhibitor

组蛋白的乙酰化和去乙酰化是一种可逆的翻译后修饰 (post-translational modification, PTM), 在真核细胞的基因表达调控中起关键作用^[1], 是表观遗传学的重点研究内容。组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferase, HAT) 和组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 可以影响组蛋白的乙酰化, HAT 和 HDAC 的募集和正常功能的发挥是基因表达和细胞周期的关键调控步骤, 这些酶的功能性缺陷可能导致包括肿瘤在内的多种疾病^[2]。截至目前, 已有多个 HDAC 抑制剂上市,

如罗米地辛 (romidepsin)、贝利司他 (belinostat) 等。随着研究的不断深入, 有关 HAT 抑制剂的报道也越来越多。由高度同源的 HAT 腺病毒 E1A 相关的 300 kDa 蛋白 (adenoviral E1A binding protein of 300 kDa, p300) 和环磷酸腺苷反应元件结合蛋白的结合蛋白 (CREB binding protein, CBP) 组成的 p300/CBP 家族是 HAT 家族的主要成员之一。p300/CBP 参与细胞周期进展和细胞的生长、分化和发育, 是一类非常重要的辅激活因子^[3]。研究表明: p300/CBP 在多种不同的肿瘤中高度表达和激活, 因此 p300/CBP 及其抑制剂越来越受到研究者的关注。本文对 p300/CBP 抑制剂的研究进展进行综述, 以期对开发新型选择性 p300/CBP 抑制剂提供参考。

接受日期: 2019-01-19

***通讯作者:** 李志裕, 教授, 博士生导师;

研究方向: 天然产物的全合成与结构优化, 新药分子的设计与合成研究;

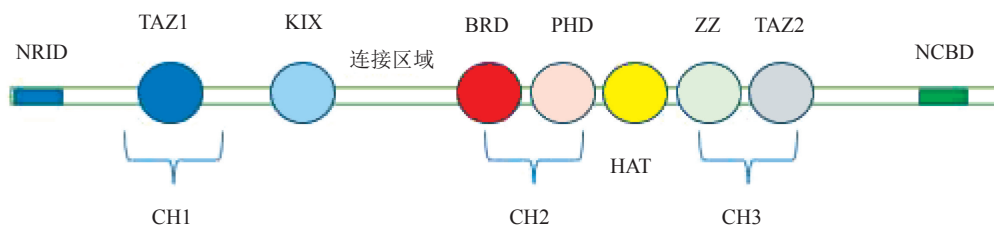
Tel: 025-83271017; **E-mail:** zhiyuli@cpu.edu.cn

1 p300 与 CBP 的结构与生化功能

p300/CBP 家族是哺乳动物 4 个主要的 HAT 多基因家族之一^[4]。CBP 由 2 441 个氨基酸组成, p300 由 2 414 个氨基酸组成, 这 2 种蛋白质具有约 75% 的序列相似性和 63% 的同源性^[5-6]。

p300/CBP 蛋白分为结构化与非结构化的区域, 其中非结构化区域约占整体的 50% 以上, 结构化区域包括: 转录适配器锌指结构域 1 (transcriptional adapter zinc finger domain 1, TAZ1)、激酶诱导的 CREB 相互作用结构域 (kinase inducible domain of CREB interacting

domain, KIX)、溴域 (bromodomain, BRD)、植物同源结构域 (plant homeodomain, PHD)、HAT 结构域、ZZ 型锌指结构域 (ZZ-type zinc finger domain, ZZ) 和转录适配器锌指结构域 2 (transcriptional adapter zinc finger domain 2, TAZ2) (见图 1)^[7]。大多数已知的 p300/CBP 功能结构域位于高度保守的反式激活区域 (transactivation domain, TAD), p300/CBP 通过 TAD 与许多 DNA 结合转录激活因子以及一般转录因子相互作用, 从而介导基础转录机制向启动子的募集以促进转录^[6]。



NRID: 无序核受体相互作用域; NCB: 核受体辅激活物结合结构域; CH1、CH2、CH3: 富含半胱氨酸氨基酸的区域。不同颜色的圆形图案代表不同的结构化功能域, 其他代表连接区域以及非结构化的功能域 (包括 NRID、NCB)。

图 1 CBP和p300的结构域示意图

Figure 1 A schematic representation of the domain structure of CBP and p300

p300/CBP 包含一个 HAT, 通过乙酰化组蛋白重塑染色质以改变其结构, 影响基因的转录^[8]。p300/CBP 的 HAT 活性也会使一些转录因子 (如 p53) 乙酰化, 从而调节关键转录调节因子的功能^[3]。

p300/CBP 的 BRD 结构域由 110 个氨基酸残基组成, 其特征性结构由螺旋环连接的 4 个 α 螺旋 (α Z、 α A、 α B、 α C) 组成, 称为 BRD 折叠。p300/CBP BRD 结构域的 LPF shelf 区不同于溴域和额外终端域家族蛋白 (bromodomain and extra terminal domain family, BET) BRD 结构域的 WPF shelf 区, 虽然苯丙氨酸几乎是不变的, 但其他 2 个氨基酸残基在大小、疏水性和对主链构象性质的影响上均是不同的, 因此 LPF shelf 区以及 ZA channel 区是增强 BRD 结构域抑制剂亲和力和选择性的关键区域^[9]。另外, 具有 BRD 结构域的蛋白质能够读取与表观遗传信息传递相关的乙酰赖氨酸标记, 以读取者的角色在表观遗传调控中发挥作用, 最终决定 PTM 对蛋白质功能的调节。

2 p300/CBP 与恶性肿瘤的关系

多项研究表明: p300 和 CBP 是癌症进展的积极调节因子, 与各种人类肿瘤疾病密切相关^[10-12]。在结肠

癌、人小细胞肺癌以及非小细胞肺癌中 p300/CBP 的表达水平上调, 是患者预后不良的指标^[13-15]。在乳腺癌中高表达的 p300 可能促进肿瘤的复发, 与乳腺癌的侵袭性特征相关^[16]。在肝细胞癌中, p300 的高表达与血管浸润增强、肝内转移和阈值缩短有关^[17]。在前列腺癌中, 雄激素诱导的雄激素受体 (androgen receptor, AR) 向染色质募集与 H3K27 乙酰化密切相关, 通过阻止 H3K27 乙酰化以阻止 p300/CBP 在 AR 上的共激活因子功能的发挥, 从而阻断关键增殖基因的表达和肿瘤的生长, 显示了 p300/CBP 抑制剂在前列腺癌治疗领域的潜力^[18]。

多项研究表明: 突变的 p300/CBP 与许多血液恶性肿瘤相关^[19-21]。在小鼠模型中使用体外和体内的基因敲除等实验证明了表观遗传调控因子 p300/CBP 在诱导和维持急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 中的作用, 使用 p300/CBP 小分子抑制剂诱导细胞周期阻滞和凋亡, 在多种 AML 亚型中具有疗效^[22]。急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukaemia, ALL) 是最常见的儿童期恶性肿瘤, 有研究表明 p300/CBP 参与了复发性 ALL 相关染色体易位, 是肿瘤细胞生长的关键调控因子^[23]。

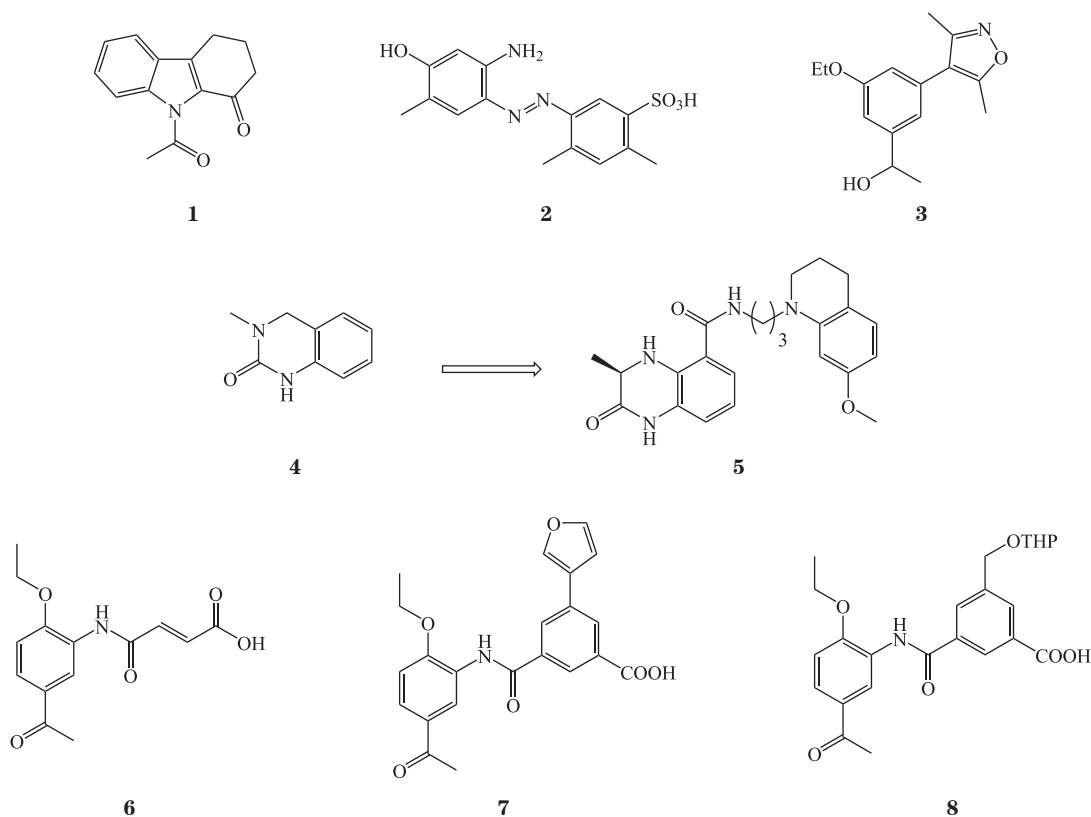
3 p300/CBP 抑制剂

p300/CBP 是肿瘤疾病的重要靶标之一, 研究人员长期致力于设计和发现靶向 p300/CBP 的优质小分子抑制剂。根据作用位点的不同, 本文将从 p300/CBP 的 BRD 结构域、HAT 结构域这 2 个方面阐述, 重点介绍目前最有效、最具选择性的小分子 p300/CBP 抑制剂的研究进展。

3.1 作用于 p300/CBP BRD 结构域的抑制剂

Zhou 的团队和 Hewings 的团队开展了抑制 CBP BRD 结构域的开创性工作, 亲和力达微摩尔级别的代表性化合物有 MS7972 (**1**, CBP: $K_d=19.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[24]、ischemin (**2**, CBP: $K_d=19 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[25] 和化合物 **3** (CBP: $\text{IC}_{50}=28.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[26], Rooney 等^[27] 在化

合物 **4** (CBP: $\text{IC}_{50}=29.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的基础上, 将母核改为喹啉酮以防止苄基氧化, 同时在 5 位引入带有四氢喹啉的侧链得到了化合物 **5** (CBP: $\text{IC}_{50}=323 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 其四氢喹啉环能与 BRD 结构域的 LPF shelf 特异性相互作用, 使化合物 **5** 成为全球首个披露的亲和力达亚微摩尔级别的 CBP 抑制剂。Xu 等^[28] 和 Unzue 等^[29] 通过虚拟筛选得到化合物 **6** (CBP: $K_d=5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 再用苯甲酸取代化合物 **6** 的富马酸侧链, 进一步优化得到了 10 倍以上效力的化合物 **7** (CBP: $\text{IC}_{50}=170 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 以及化合物 **8** (CBP: $\text{IC}_{50}=400 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。其中化合物 **7** 对 CBP 的抑制作用是 BET 蛋白家族 BRD4 第一溴域 [the first bromodomain of BRD4, BRD4(1)] 的 60 倍。



牛津大学结构基因组学协会 (Structural Genomics Consortium, SGC) 的研究人员首先设计并合成了苯并咪唑类化合物 **9**^[30], 但 **9** 对 CBP 和 BRD4 的选择性不高 (CBP: $\text{IC}_{50}=4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, BRD4: $\text{IC}_{50}=6.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 通过对其 N1 和 C2 位置的取代修饰, 提高对 BRD 结构域中 LPF shelf 以及 ZA channel 的选择性作用, 经过进一步优化得到了化合物 **10** (CBP: $\text{IC}_{50}=0.12 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, BRD4: $\text{IC}_{50}=2.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 与 **11** (SGC-CBP30, CBP:

$\text{IC}_{50}=69 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $K_d=21 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, p300: $K_d=32 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[5], 其中化合物 **11** 具有较强的亲和力, 对 CBP 的抑制作用是 BRD4(1) 的 40 倍、BRD4(2) 的 250 倍。

辉瑞 (Pfizer) 公司的 Denny 等^[31] 以化合物 **10** 为起点旨在设计出一类选择性达到 100 倍的化合物, 通过对其 C2 侧链中苯环上取代基的修饰, 增强与 BRD 结构域中的精氨酸 1173 的阳离子 π 相互作用得到

了化合物 **12** (PF-CBP1, CBP: $IC_{50} = 130 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, BRD4: $IC_{50} = 18 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。对化合物 **10** 与 BRD4 复合物晶体结构 (见图 2) 的研究发现, 苯并咪唑的 3 位 N 与脯氨酸 82 通过水分子氢键产生相互作用, 将母核改为吡啶以阻断氢键相互作用, 则大大减弱了对

BRD4 的亲和力, 进一步增大 N3 区域的极性得到了以氮杂吡啶为母核的化合物 **13** (PF-CBP2, CBP: $IC_{50} = 170 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, BRD4: $IC_{50} = 18.4 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。该化合物对 CBP 的抑制作用是 BRD4 的 108 倍, 同时还具有良好的细胞渗透性等。

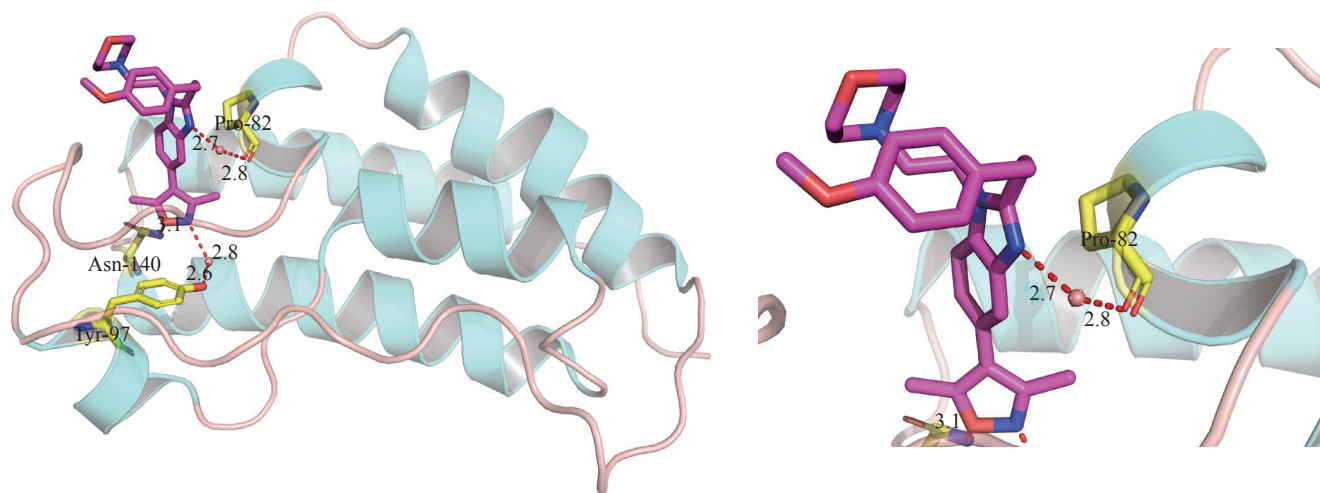
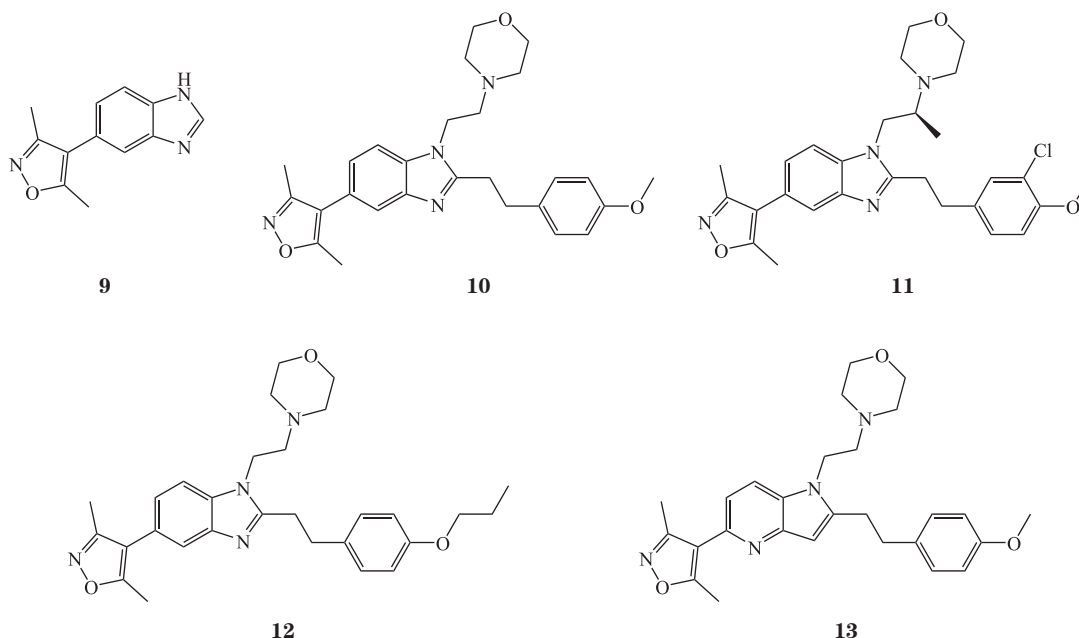


图 2 化合物**10**与BRD4的复合物晶体结构 (PDB 5CFW)

Figure 2 Crystal structure of compound **10** in complex with BRD4 (PDB 5CFW)

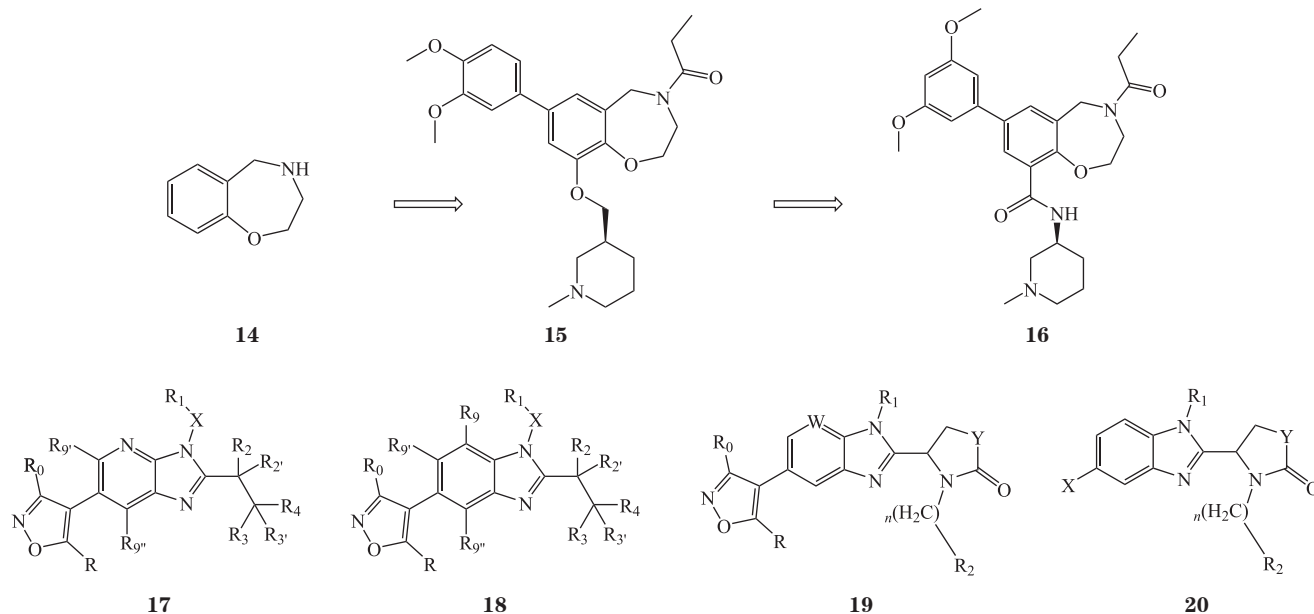


SGC 的研究人员设计并发现的另一类 p300/CBP BRD 结构域抑制剂以化合物 **14** 为基本骨架, 首先优化得到了化合物 **15** (I-CBP112, CBP: $IC_{50} = 170 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[23], 其对 CBP 的亲和力是 BRD4(1)[CBP: $K_d = 151 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, BRD4(1): $K_d = 5.6 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$] 的 37 倍。化合物 **15** 可导致细胞集落形成明显受损, 并诱导细胞分化, 此外该化合

物具有在体外和体内以剂量依赖性方式显著降低 MLL-AF9⁺ AML 细胞发病的潜力。在化合物 **15** 的 C9 位置引入碱性酰胺基团, 得到了化合物 **16**[TPOP146^[32], CBP: $K_d = 134 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, BRD4(1): $K_d = 5.02 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$], 其对 CBP 的亲和力是 BRD4(1) 的 37 倍, 并能够抑制 CBP 向细胞染色质的募集。

Cellcentric 公司也就 p300/CBP BRD 结构域抑制剂发表了 4 篇专利^[33-36],其主推的药物 CCS1477 (CBP: $K_d=1.7\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, p300: $K_d=1.3\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 是一种有效的、高选择性的、口服活性的小分子抑制剂,其具体结构并未披露,专利结构通式(17~20)以及实施例中所披露的化合物与 SGC 类似,均为(氮杂)苯并咪唑类结构。CCS1477 对 AR 驱动的前列腺癌 VCaP

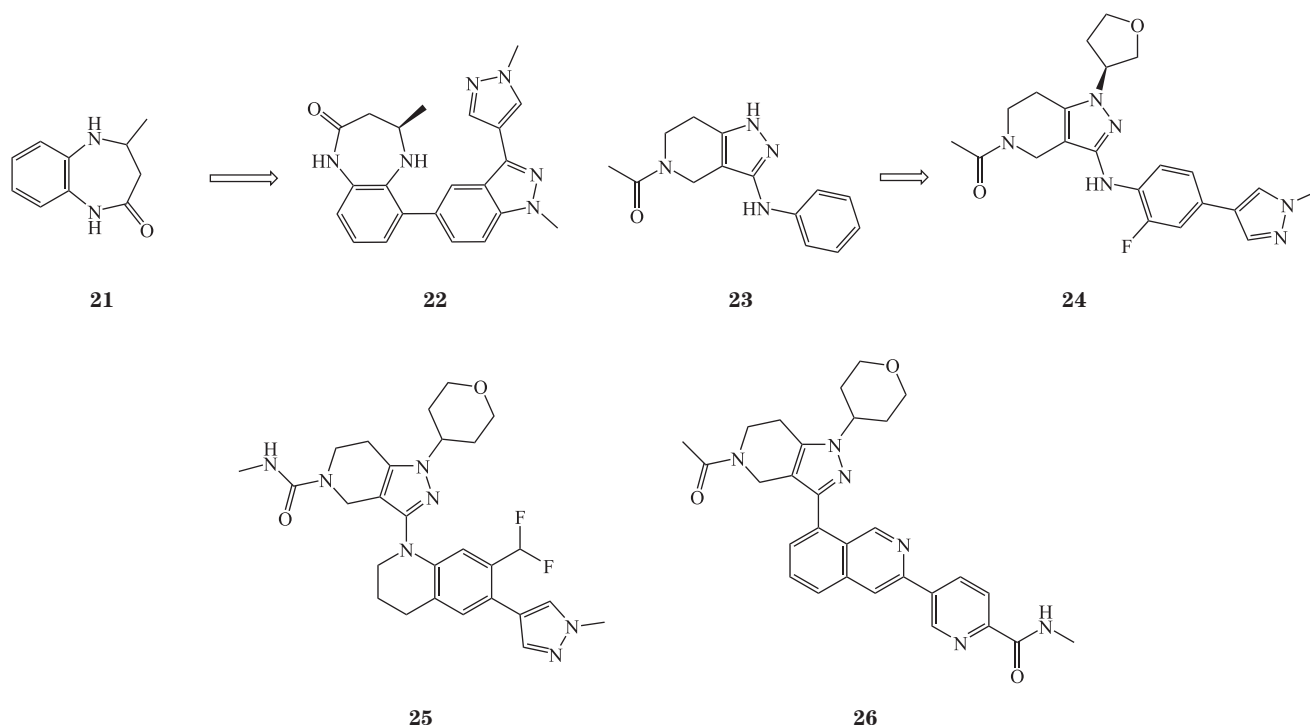
细胞系的 IC_{50} 为 $49\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,对 p300/CBP 的亲合力是 BRD4 的 170 倍,主要用于治疗转移性去势抵抗性前列腺癌 (metastatic castration-resistant prostate cancer, mCRPC),对 AML、肺癌、膀胱癌等也有治疗潜力,已于 2018 年 7 月开展用于治疗 mCRPC 和晚期实体肿瘤的 I 期临床试验。



基因泰克 (Genentech) 公司以基于片段的方法筛选出苯并二氮杂萘类的化合物 21 (CBP: $K_d=32\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[37],以该化合物为先导化合物,通过进一步优化得到的化合物 22 (CPI-637, CBP: $\text{IC}_{50}=30\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, BRD4: $\text{IC}_{50}=11\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 CBP 的抑制作用是 BRD4(1) 的 367 倍,并具有优良的生物化学活性 (MYC: $\text{EC}_{50}=0.6\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),但化合物 22 以及对其进一步修饰得到的化合物不能满足作为体内探针的要求。

为了开发出一系列具有体内活性的化合物,基因泰克公司通过配体高效筛选得到的先导化合物 23 (CBP: $\text{IC}_{50}=620\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[38]对 p300/CBP 的亲合力是 BRD4(1) 的 100 倍。对化合物 23 与 CBP BRD 结构域的复合物晶体结构的研究显示,在 N1 位置引入四氢咪唑环增强与 ZA Loop 的相互作用,在苯环对位引入甲基吡唑增强与 LPF 区域的范德华作用力,在苯环邻位引入氟原子则改善了小鼠肝细胞稳定性,经过这一系列的优化最终得到了化合物 24 (GNE-272, CBP: $\text{IC}_{50}=20\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, p300: $\text{IC}_{50}=30\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$),该化合物对 CBP 的抑制作用是 BRD4(1) 的 650 倍并同时具有良好

的体内药动学特性,在白血病癌细胞系 MV4-11 中具有明显的抑制 MYC 表达作用 ($\text{EC}_{50}=0.91\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),在体内能够调节 CBP 依赖性 MYC 转录,并与 MYC 依赖性 AML 肿瘤模型中的抗肿瘤活性相对应。通过分析化合物 24 与 CBP 以及 BRD4 (1) 作用方式的不同之处发现,将化合物 24 的苯胺限制为四氢喹啉环,选择性提高了 2 倍,将 N1 位的四氢咪唑环更换为四氢吡啶环可以增强其生化与细胞活力,进一步优化以减小中枢神经副作用得到了化合物 25 (GNE-781, CBP: $\text{IC}_{50}=0.94\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, p300: $\text{IC}_{50}=1.2\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[39],该化合物对 CBP 的抑制作用是 BRD4 (1) 的 5 425 倍,化合物 25 是非中枢神经系统渗透剂,但其较低的分布容积 ($V_{ss}=0.6\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$)、较短的半衰期 ($T_{1/2}=1.4\text{ h}$) 限制了其进一步的发展,为了延长该化合物的半衰期,开发出一类含有异喹啉结构的 p300/CBP 抑制剂 26 (GNE-207, CBP: $\text{IC}_{50}=1\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[40],该化合物的分布容积 ($V_{ss}=2.8\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$)、半衰期 ($T_{1/2}=2\text{ h}$) 与化合物 25 相比均有所改善,对 CBP 的抑制作用是 BRD4 的 3 100 倍。

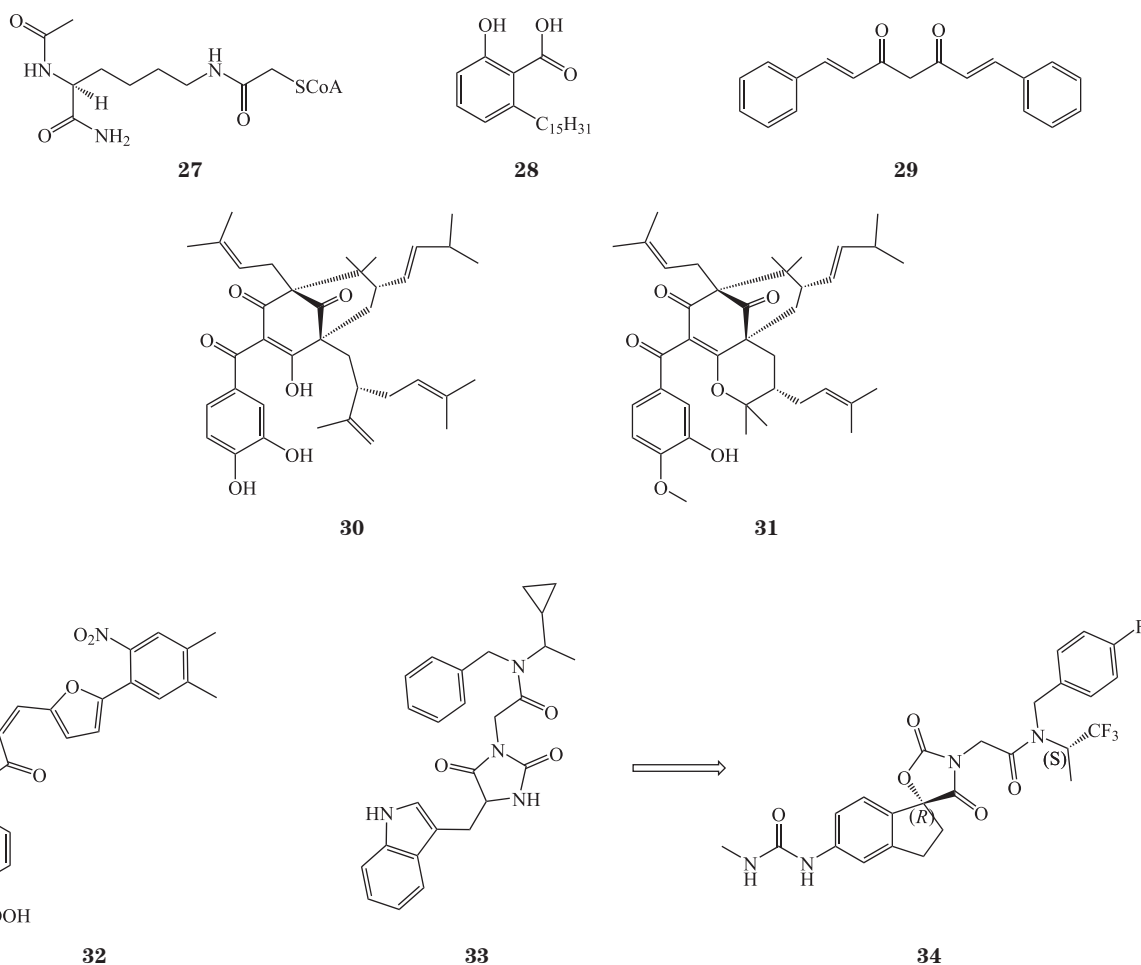


3.2 作用于 p300/CBP HAT 结构域的抑制剂

早期文献报道的 p300/CBP HAT 结构域小分子抑制剂有化合物 **27** (Lys-CoA, p300: $IC_{50} \approx 0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[41]、**28** (anacardic acid, p300: $IC_{50} \approx 8.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[42]、**29** (curcumin, p300: $IC_{50} = 25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[43]。天然产物 **30** (garcinol, p300: $IC_{50} \approx 7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[2] 是来源于藤黄果皮的聚异戊二烯化二苯甲酮衍生物, 其可在体外和体内有效地抑制 p300 和 p300/CBP 相关因子 (p300/CBP-associated factor, PCAF) 的 HAT 活性, 抑制依赖 HAT 活性的染色质的转录, 但细胞毒性较大。以化合物 **30** 的异构体 isogarcinol 为起点合成了一系列相关化合物, 其中化合物 **31** (LTK-14, p300: $IC_{50} \approx 6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[44-45] 是组蛋白和乙酰辅酶 A 非竞争性抑制剂, 能够特异性抑制 p300 介导的 p53 的乙酰化。在 T 细胞中, 化合物 **31** 通过抑制组蛋白乙酰化而抑制人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 的增殖。

早期发现的 p300/CBP HAT 结构域抑制剂仅显示适度的抑制效力和选择性, 并且具有较差的细胞渗透性。Bowers 等^[46] 和 Shrimp 等^[47] 通过虚拟筛选得到了吡唑啉酮类小分子化合物 **32** (C646, p300: $IC_{50} = 6.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 该化合物为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时可以高选择性地抑制 p300 (抑制率为 86%), 且对组蛋白乙酰化、体外微管蛋白聚合和细胞生长的抑制实验证实了化合

物 **32** 作为一种药理学探针的效用, 被广泛用于研究抑制 p300/CBP HAT 结构域的工具化合物。但作为包含亲电基团的抑制剂, 由于被大量蛋白质和代谢物硫醇沉淀消耗而导致化合物 **32** 细胞抑制活性的降低。艾伯维 (AbbVie) 公司的研究人员以分子对接命中的乙内酰脲类化合物 **33** (p300: $IC_{50} = 5.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 为先导化合物, 设计了一类具有螺茼满乙内酰脲结构的化合物, 后在母核 5 位引入脲取代基提高了肝微粒体稳定性, 经过进一步的优化最终得到了化合物 **34** (A-485, p300: $IC_{50} = 60 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[48-49], 一个亲和力达纳摩尔级别、高选择性的、类药性的、可口服的 p300/CBP HAT 小分子抑制剂。进一步的研究分析化合物 **34** 对 124 种不同癌症细胞系增殖的影响发现, 其在套细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤细胞以及 AR 阳性的前列腺癌细胞中具有显著的抑制活性。使用 AR 阳性的 CRPC 模型 (LuCaP-77 CR) 来评估化合物 **34** 抑制体内肿瘤生长的实验表明, 在严重联合免疫缺陷 (severe combined immunodeficiency, SCID) 雄性小鼠中建立肿瘤模型, 每日 2 次腹腔注射给药 21 d 后, 化合物 **34** 对肿瘤生长抑制率达 54%。此外, 对荷瘤小鼠连续 7 d 给药, 可导致在 mRNA 水平 MYC 的下降。化合物 **34** 具有优异的细胞和药动学特性, 可以在体外和体内条件下用于研究抑制 p300/CBP HAT 结构域的生物学作用。



4 结语

经过多年的研究探索, 人们对 p300/CBP 的结构和功能有了更深刻的认识, p300/CBP 通过自身的 HAT 活性以及 BRD 调控基因转录, 参与细胞周期进展和细胞的生长、分化和发展, 并与多种肿瘤疾病、神经退行性疾病密切相关。多个高校、研究所以及药企的研究团队开展了设计发现靶向 p300/CBP 的 BRD 结构域或 HAT 结构域小分子抑制剂的工作, 值得关注的是无论是靶向 p300/CBP BRD 还是 HAT 结构域, 均要考虑对其他 HAT 或拥有 BRD 的蛋白家族的选择性问题。经

过持续的努力, 最终发现多个亲和力达纳摩尔级别、高选择性的 p300/CBP 小分子抑制剂。但如何将其优异的酶抑制活性转化为细胞抑制活性和相应肿瘤模型上的抑制效力亟待解决, 现仅有作用于 p300/CBP BRD 结构域的小分子抑制剂 CCS1477 进入 I 期临床, 用于治疗 mCRPC 和晚期实体肿瘤。未来利用选择性小分子抑制剂继续探索论证 p300/CBP 的生物学功能, 以及更多可成药的抑制剂完成临床前研究进入临床实验, 通过临床实验结果将验证 p300/CBP 作为肿瘤疾病治疗靶标的有效性和可行性。

【参考文献】

- [1] Roth S Y, Denu J M, Allis C D. Histone acetyltransferase[J]. *Annu Rev Biochem*, 2001, 70: 81-120.
- [2] Balasubramanyam K, Altaf M, Varier R A, *et al*. Polyisoprenylated benzophenone, garcinol, a natural histone acetyltransferase inhibitor, represses chromatin transcription and alters global gene expression[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(32): 33716-33726.
- [3] Goodman R H, Smolik S. CBP/p300 in cell growth, transformation, and development[J]. *Genes Dev*, 2000, 14(13): 1553-1577.
- [4] Bedford D C, Kasper L H, Fukuyama T, *et al*. Target gene context influences the transcriptional requirement for the KAT3 family of CBP

- and p300 histone acetyltransferases[J]. *Epigenetics*, 2010, 5(1): 9-15.
- [5] Hay D A, Fedorov O, Martin S, *et al.* Discovery and optimization of small-molecule ligands for the CBP/p300 bromodomains[J]. *J Am Chem Soc*, 2014, 136(26): 9308-9319.
- [6] Wang F, Marshall C B, Ikura M. Transcriptional/epigenetic regulator CBP/p300 in tumorigenesis: structural and functional versatility in target recognition[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(21): 3989-4008.
- [7] Dyson H J, Wright P E. Intrinsically unstructured proteins and their functions[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(3): 197-208.
- [8] Bedford D C, Brindle P K. Is histone acetylation the most important physiological function for CBP and p300?[J]. *Aging (Albany NY)*, 2012, 4(4): 247-255.
- [9] Romero F A, Taylor A M, Crawford T D, *et al.* Disrupting acetyl-lysine recognition: progress in the development of bromodomain inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(4): 1271-1298.
- [10] Fan S, Ma Y X, Wang C. p300 modulates the BRCA1 inhibition of estrogen receptor activity[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(1): 141-151.
- [11] Bandyopadhyay D, Okan N A, Bales E, *et al.* Down-regulation of p300/CBP histone acetyltransferase activates a senescence checkpoint in human melanocytes[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(21): 6231-6239.
- [12] Li M, Luo R Z, Chen J W, *et al.* High expression of transcriptional coactivator p300 correlates with aggressive features and poor prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *J Transl Med*, 2011, 9(1): 5. Doi: 10.1186/1479-5876-9-5.
- [13] Gao Y, Geng J, Hong X, *et al.* Expression of p300 and CBP is associated with poor prognosis in small cell lung cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(2): 760-767.
- [14] Ishihama K, Yamakawa M, Semba S, *et al.* Expression of HDAC1 and CBP/p300 in human colorectal carcinomas[J]. *J Clin Pathol*, 2007, 60(11): 1205-1210.
- [15] Hou X, Li Y, Luo R Z, *et al.* High expression of the transcriptional co-activator p300 predicts poor survival in resectable non-small cell lung cancers[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2012, 38(6): 523-530.
- [16] Xiao X S, Cai M Y, Chen J W, *et al.* High expression of p300 in human breast cancer correlates with tumor recurrence and predicts adverse prognosis[J]. *Chin J Cancer Res*, 2011, 23(3): 201-207.
- [17] Yokomizo C, Yamaguchi K, Itoh Y, *et al.* High expression of p300 in HCC predicts shortened overall survival in association with enhanced epithelial mesenchymal transition of HCC cells[J]. *Cancer Lett*, 2011, 310(2): 140-147.
- [18] Jin L, Garcia J, Chan E, *et al.* Therapeutic targeting of the CBP/p300 bromodomain blocks the growth of castration-resistant prostate cancer[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(20): 5564-5575.
- [19] Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A, *et al.* Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma[J]. *Nature*, 2011, 471(7337): 189-195.
- [20] Mullighan C G, Zhang J, Kasper L H, *et al.* CREBBP mutations in relapsed acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Nature*, 2011, 471(7337): 235-239.
- [21] Holmfeldt L, Wei L, Diaz-Flores E, *et al.* The genomic landscape of hypodiploid acute lymphoblastic leukemia[J]. *Nat Genet*, 2013, 45(3): 242-252.
- [22] Giotopoulos G, Chan W I, Horton S J, *et al.* The epigenetic regulators CBP and p300 facilitate leukemogenesis and represent therapeutic targets in acute myeloid leukemia[J]. *Oncogene*, 2016, 35(3): 279-289.
- [23] Picaud S, Fedorov O, Thanasopoulou A, *et al.* Generation of a selective small molecule inhibitor of the CBP/p300 bromodomain for leukemia therapy[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(23): 5106-5119.
- [24] Sachchidanand, Resnick-Silverman L, Yan S, *et al.* Target structure-based discovery of small molecules that block human p53 and CREB binding protein association[J]. *Chem Biol*, 2006, 13(1): 81-90.
- [25] Borah J C, Mujtaba S, Karakikes I, *et al.* A small molecule binding to the coactivator CREB-binding protein blocks apoptosis in cardiomyocytes[J]. *Chem Biol*, 2011, 18(4): 531-541.
- [26] Hewings D S, Wang M, Philpott M, *et al.* 3, 5-dimethylisoxazoles act as acetyl-lysine-mimetic bromodomain ligands[J]. *J Med Chem*, 2011, 54(19): 6761-6770.
- [27] Rooney T P, Filippakopoulos P, Fedorov O, *et al.* A series of potent CREBBP bromodomain ligands reveals an induced-fit pocket stabilized by a cation- π interaction[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(24): 6126-6130.
- [28] Xu M, Unzue A, Dong J, *et al.* Discovery of CREBBP bromodomain inhibitors by high-throughput docking and hit optimization guided by molecular dynamics[J]. *J Med Chem*, 2015, 59(4): 1340-1349.
- [29] Unzue A, Xu M, Dong J, *et al.* Fragment-based design of selective nanomolar ligands of the CREBBP bromodomain[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(4): 1350-1356.
- [30] Hay D, Fedorov O, Filippakopoulos P, *et al.* The design and synthesis of 5- and 6-isoxazolylbenzimidazoles as selective inhibitors of the BET bromodomains[J]. *Medchemcomm*, 2013, 4(1): 140-144.
- [31] Denny R A, Flick A C, Coe J, *et al.* Structure-based design of highly selective inhibitors of the CREB binding protein bromodomain[J]. *J*

- Med Chem*, 2017, 60(13): 5349-5363.
- [32] Popp T A, Tallant C, Rogers C, *et al.* Development of selective CBP/P300 benzoxazepine bromodomain inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(19): 8889-8912.
- [33] Anthony P N, Adrien T D M, Richaed B, *et al.* Isoxazolyl substituted imidazopyridines: WO, 2016/170323 A1[P]. 2016-10-27.
- [34] Anthony P N, Adrien T D M, Thomas O S, *et al.* Isoxazolyl substituted benzimidazoles: WO, 2016/170324 A1[P]. 2016-10-27.
- [35] Anthony P N, Adrien T D M, Thomas O S, *et al.* Pharmaceutical compounds: WO, 2018/073586 A1[P]. 2018-04-26.
- [36] Anthony P N, Adrien T D M, Jonathan S, *et al.* Pharmaceutical compounds: WO, 2018/073587 A1[P]. 2018-04-26.
- [37] Taylor A M, Côté A, Hewitt M C, *et al.* Fragment-based discovery of a selective and cell-active benzodiazepinone CBP/EP300 bromodomain inhibitor (CPI-637)[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2016, 7(5): 531-536.
- [38] Crawford T D, Romero F A, Lai K W, *et al.* Discovery of a potent and selective *in vivo* probe (GNE-272) for the bromodomains of CBP/EP300[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(23): 10549-10563.
- [39] Romero F A, Murray J, Lai K W, *et al.* GNE-781, a highly advanced potent and selective bromodomain inhibitor of cyclic adenosine monophosphate response element binding protein, binding protein (CBP)[J]. *J Med Chem*, 2017, 60(22): 9162-9183.
- [40] Lai K W, Romero F A, Tsui V, *et al.* Design and synthesis of a biaryl series as inhibitors for the bromodomains of CBP/P300[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(1): 15-23.
- [41] Lau O D, Kundu T K, Soccio R E. HATs off: selective synthetic inhibitors of the histone acetyltransferases p300 and PCAF[J]. *Mol Cell*, 2000, 5(3): 589-595.
- [42] Balasubramanyam K, Swaminathan V, Ranganathan A, *et al.* Small molecule modulators of histone acetyltransferase p300[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(21): 19134-19140.
- [43] Balasubramanyam K, Varier R A, Altaf M, *et al.* Curcumin, a novel p300/CREB-binding protein-specific inhibitor of acetyltransferase, represses the acetylation of histone/nonhistone proteins and histone acetyltransferase-dependent chromatin transcription[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(49): 51163-51171.
- [44] Arif M, Pradhan S K, Thanuia G R. Mechanism of p300 specific histone acetyltransferase inhibition by small molecules[J]. *J Med Chem*, 2009, 52(2): 267-277.
- [45] Mantelingu K, Reddy B A, Swaminathan V, *et al.* Specific inhibition of p300-HAT alters global gene expression and represses HIV replication[J]. *Chem Biol*, 2007, 14(6): 645-657.
- [46] Bowers E M, Yan G, Mukherjee C, *et al.* Virtual ligand screening of the p300/CBP histone acetyltransferase: identification of a selective small molecule inhibitor[J]. *Chem Biol*, 2010, 17(5): 471-482.
- [47] Shrimp J H, Sorum A W, Garlick J M, *et al.* Characterizing the covalent targets of a small molecule inhibitor of the lysine acetyltransferase P300[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2016, 7(2): 151-155.
- [48] Lasko L M, Jakob C G, Edalji R P, *et al.* Discovery of a selective catalytic p300/CBP inhibitor that targets lineage-specific tumours[J]. *Nature*, 2017, 550(7674): 128-132.
- [49] Michaelides M R, Kluge A, Patane M, *et al.* Discovery of spiro oxazolidinediones as selective, orally bioavailable inhibitors of p300/CBP histone acetyltransferases[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2018, 9(1): 28-33.



【专家介绍】李志裕: 药物化学博士, 教授, 博士生导师, 中国药科大学药学院副院长。先后在中国药科大学(药物化学专业本科、硕士以及博士), University della Carabulia(博士后)学习工作。

主要研究方向为天然产物的全合成与结构优化、新药分子的设计与合成研究。近年来主要从事新型抗肿瘤药物的研发, 在活性天然产物的结构改造、靶向抗肿瘤药物的设计与合成等方面取得研究成果。

现主持 2 项国家自然科学基金面上项目, 1 项江苏省自然科学基金面上项目, 主持完成了 2 项江苏省自然科学基金项目, 参加了 3 项国家重大新药创制重大科技专项项目, 主持横向课题 15 项, 在国家 1.1 类药物注射用汉黄芩素的研究中负责合成工艺研究, 该项目现获得 I、II 期临床研究批件。以第一发明人申请专利 20 余项, 获得授权 15 项。近 3 年来以第一或通讯作者发表 SCI 等学术论文 30 余篇, 承接企业项目近 20 项, 具有极其丰富的药物合成工艺、药物晶型和药物杂质研究经验, 对药品注册法规也有深入研究。