文章编号:1005 - 0108(2026)04 - 0292 - 17 **DOI**:10.14142/j.cnki.cn21 - 1313/r.20250011

HDAC 单/双靶点抑制剂治疗非小细胞肺癌的研究进展

刘小玉,李 闯,孙世俊,刘 洋*
(沈阳药科大学 基于靶点的药物设计与研究教育部重点实验室,辽宁 沈阳 110016)

摘 要:肺癌是全球范围内发病率和死亡率位居前列的恶性肿瘤,非小细胞肺癌(NSCLC)是其最主要的病理类型。NSCLC 的复杂性和异质性导致许多患者对现有治疗手段反应不佳,且易产生耐药性。因此,开发新的治疗策略以提高治疗效果和患者生存质量显得尤为重要。近年来,表观遗传学在肿瘤研究中取得了重大进展,特别是组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂凭借其独特的抗肿瘤作用机制而备受关注。HDAC 抑制剂通过抑制 HDAC 的活性,增加组蛋白乙酰化水平,改变染色质结构,调控相关基因表达,从而影响肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡和侵袭进程。在 NSCLC 治疗中,HDAC 抑制剂展现出广泛的应用前景,包括单药治疗或与其他药物联合治疗。本综述系统梳理了 HDAC 单靶点与双靶点抑制剂在 NSCLC 治疗中的研究进展,重点介绍了抑制剂的亚型选择性以及双靶点组合设计思路,同时总结了当前 HDAC 抑制剂研发面临的挑战,并展望了未来的研究方向。

关键词:非小细胞肺癌;HDAC 抑制剂;表观遗传学;抗肿瘤机制
中图分类号:R914 **文献标志码**:A

肺癌是全球发病率和死亡率位居前列的恶性肿瘤,严重威胁人类健康。依据 2026 年 IARC 联合美国癌症协会发布的全球癌症最新统计数据,2024 年全球有近 264 万新发肺癌病例,约占全部癌症新发人数的 12.8%,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC)是肺癌的主要病理亚型,占肺癌总病例的 85% 左右[1]。由于 NSCLC 具有高度异质性和侵袭性,传统治疗方法的临床效果并不理想。近年来,表观遗传学领域的快速发展为肿瘤治疗提供了新的方向。表观遗传学是除 DNA 序列之外影响基因表达和细胞表型的重要因素,包括 DNA 甲基化、组蛋白尾部乙酰化与甲基化、非编码 RNA 表达和染色质重塑等[2]。其中,组蛋白乙酰化水平受组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase,HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase,HDAC)双向拮抗调控[3]。现有研究表明,抑制 HDAC 可显著阻滞肿瘤细胞增殖、阻断新生血管形成、诱导细胞凋亡、诱发 DNA 损伤并削弱 DNA 修复能力[4],有望为 NSCLC 治疗开辟新路径。

1 HDAC 的种类及分布

目前已在哺乳动物体内鉴定得到 18 种 HDAC 亚型,依据蛋白分子大小、细胞定位、催化活性位点数量,以及与酵母 HDAC 序列同源性,可将其划分为四大类[5](表 1)。Ⅰ类包括 HDAC1、2、3、8,主要在细胞核内表达,可作为转录辅助抑制因子;Ⅱ类分为Ⅱa 类(HDAC4、5、7、9)和Ⅱb 类(HDAC6、10),其中Ⅱa 类具有组织分布特异性,发生磷酸化修饰后可由细胞核穿梭转运到细胞质中[6],相对于其他 HDAC 表现出较低的催化活性,能够结合靶蛋白并参与多条大分子信号通路调控,Ⅱb 类 HDAC 主要分布于细胞质中,含有两个催化位点[7];Ⅳ类只有 HDAC11 一种亚型,与Ⅰ类和Ⅱa 类均有一定的同源性,定位于细胞质中且组织分布具有特异性。Ⅰ、Ⅱ、Ⅳ类 HDAC 均为金属依赖性酶。而Ⅲ类 HDAC 又被称为沉默信息调节蛋白(sirtuins),属于非金属依赖性酶,需借助烟酰胺腺嘌呤二核苷酸来催化赖氨酸残基去乙酰化[8]。

收稿日期:2025 - 01 - 21
基金项目:国家自然科学基金项目(22177079,22477085)
作者简介:刘小玉(2000 -),女(汉族),山东临沂人,硕士研究生; * 通信作者:刘洋(1976 -),男(汉族),辽宁沈阳人,博士,教授,主要从事创新药物研究,Tel:(024)43520227。

Table 1　The HDAC subtype classification

HDAC enzyme	Size(amino acid)	Localization
Class I(Rpd3)		
HDAC1	482	nucleus
HDAC2	488	nucleus
HDAC3	428	nucleus
HDAC8	377	nucleus/cytoplasm
Class Ⅱa(Hdal)		
HDAC4	1 084	nucleus/cytoplasm
HDAC5	1 122	nucleus/cytoplasm
HDAC7	912	nucleus/cytoplasm
HDAC9	1 069	nucleus/cytoplasm
Class Ⅱb(Hdal)		
HDAC6	1 215	cytoplasm
HDAC10	669	cytoplasm
Class IV(Rpd3/Hdal)		
HDAC11	347	cytoplasm

2　HDAC 与 NSCLC 的关系

HDAC 家族与肺部疾病的发生和发展密切相关。在肺癌细胞中,组蛋白 H4 的表观遗传修饰水平与正常肺组织细胞存在显著差异,特别是在 H4K5/H4K8 位点的乙酰化水平升高,而 H4K12/H4K16 位点的乙酰化水平降低,这表明组蛋白 H4 乙酰化修饰在肺癌发病机制中发挥关键作用[9]。Wang 等[10]研究发现在 NSCLC 细胞中 HDAC4 能够与谷氨酰胺酶发生相互作用,介导其在 Lys311 位点发生去乙酰化,增加了谷氨酰胺酶的活性并降低其泛素化,进而推动肿瘤进展。Eichner 等[11]研究表明 HDAC3 是维持 NSCLC 细胞存活所必需的酶,可协同增强肿瘤谱系转录因子 NK2 同源盒基因 1(*NKX2-1*)的转录活性,从而介导下游靶基因的表达,*NKX2-1* 被认为是一种细胞系特异性癌基因,在 NSCLC 细胞中高频扩增。在临床检测中也证实 NSCLC 患者体内 HDAC 普遍过度表达。张杰等[12]在 NSCLC 患者的血清中发现 HDAC4 的含量明显升高,并且该类患者表现出肿瘤直径更大、出现淋巴结及远处转移等现象。沈洁等[13]同样发现在 NSCLC 细胞中 HDAC11 表达显著高于正常细胞,且 HDAC 高表达细胞具有更强的淋巴转移和胸膜侵袭能力。以上证据表明 HDAC 过度表达存在促癌作用,并且与 NSCLC 的侵袭和转移行为密切相关。综上所述,HDAC 与 NSCLC 联系紧密,HDAC 异常表达和染色质乙酰化失调与 NSCLC 的发病机制以及肿瘤治疗发生的耐药性息息相关[14],这为将 HDAC 开发为 NSCLC 有效治疗靶点提供了有力支持。

3　用于治疗 NSCLC 的 HDAC 抑制剂

根据化学结构,HDAC 抑制剂可分为异羟肟酸类、苯甲酰胺类、环肽类和脂肪酸类等。异羟肟酸类 HDAC 抑制剂以伏立诺他(vorinostat,SAHA)为代表,其通过与 HDAC 活性位点中的锌离子结合,从而抑制 HDAC 活性[15]。苯甲酰胺类 HDAC 抑制剂如西达本胺(chidamide,CS055),通过苯甲酰胺结构与 HDAC 活性位点发生相互作用,对Ⅰ类 HDAC1、2、3 亚型和Ⅱb 类 HDAC10 亚型具有选择性抑制作用[16]。环肽类 HDAC 抑制剂如罗米地辛(romidepsin,FK228),通常来源于天然产物,可通过大环结构与 HDAC 的活性位点结合[17]。脂肪酸类 HDAC 抑制剂如 2-丙基戊酸,通过与锌离子发生螯合从而抑制 HDAC 活性。近年来还出现了一些具有新型结构的 HDAC 抑制剂,如酰肼类、异亚硝基类、邻苯二酚类、磺胺类等[18],这些新型抑制剂作为潜在的药效团值得研究人员进一步探索。

HDAC 抑制剂作为一种新型的抗肿瘤药物,已经显示出巨大的潜力。相关研究表明,多数 HDAC 抑制剂可通过激活内源性(线粒体介导)凋亡途径诱导 NSCLC 细胞死亡[19]。另有研究表明,靶向抑制 HDAC1 或 HDAC2 可以提高自然杀

伤细胞2族成员D(natural killer group 2 member D,NKG2D)配体在转录和蛋白质组学水平的表达,并增加NSCLC细胞对NK细胞的敏感性,强化NK细胞介导的抗肿瘤免疫应答[20]。此外,HDAC6选择性抑制剂可通过T细胞介导的免疫调节途径发挥抗肿瘤作用,在NSCLC治疗中具备独特优势:HDAC6抑制剂能够促进肿瘤微环境中T细胞浸润、活化、增殖并增强其杀伤能力,下调肿瘤相关巨噬细胞表面抑制性配体,上调主要组织相容性复合体分子和共刺激分子,同时提升CCL4表达,进一步增加肿瘤组织中T细胞数量[21-22]。Kim等[23]发现*E-cadherin*表达水平与NSCLC的侵袭转移有关,而HDAC介导的去乙酰化作用会影响该基因的表达,从而影响肿瘤细胞的转移。综上,HDAC抑制剂能够通过多种途径抑制肿瘤细胞的发展。因此,深入阐明HDAC抑制剂的作用靶点和机制,针对性地选择HDAC抑制剂,有望为NSCLC的治疗带来新的突破。

在疾病治疗过程中,研究人员发现单靶点治疗策略往往存在较多缺陷,不仅易引发多种不良反应,耐药问题也十分突出。近年来,多种药物联用或单一分子多靶点治疗已成为药物研发的一种新模式。但多种药物的联合治疗策略可能会因各自的药物代谢动力学差异,限制其抗肿瘤应用。因此,单一药物的多靶点治疗策略作为替代方案引起了研究人员的广泛关注[24]。HDAC抑制剂作为一种强效的抗肿瘤药物,临床上能够治疗多种恶性肿瘤,同时因其骨架结构改造空间大,可与其他靶向药物协同发挥增敏效果。鉴于表观遗传修饰在肿瘤发展中的重要性,以及HDAC抑制剂和其他靶点抑制剂联用可协同强效抑制肿瘤细胞,目前常将HDAC抑制剂与各种化疗药物联合使用。研究发现同时抑制HDAC及微管蛋白、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)、热休克蛋白90(heat shock protein 90,HSP90)、磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)及巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor,MIF)等靶点,能够增强治疗效果,克服多药耐药问题[25]。因此,HDAC多靶点抑制剂的研发在近年来备受重视,已成为HDAC抑制剂研究领域的重要发展方向。

HDAC作为NSCLC治疗的有效靶点,HDAC抑制剂在NSCLC治疗中展现出巨大的应用潜力。本文作者系统综述了单靶点和双靶点HDAC抑制剂,重点介绍了其对NSCLC细胞增殖的抑制作用及作用机制,同时总结了HDAC抑制剂在NSCLC治疗中面临的挑战和未来研究方向,以期为新型单、双靶点HDAC抑制剂研发及相关作用机制探究提供参考。

4 单靶点HDAC抑制剂

HDAC抑制剂是一类强效抗肿瘤药物。大多数HDAC抑制剂采用常见的三基序药效团模型,即Cap基团(芳香酰胺表面识别基团)、锌结合基团(zinc binding group,ZBG)以及连接二者的连接链。根据ZBG基团的化学结构不同,可以将HDAC抑制剂分为异羟肟酸类、苯甲酰胺类、脂肪酸类和环肽类。需要强调的是,目前已经有五种获得美国食品药品监督管理局(FDA)批准的HDAC抑制剂和两种获得国家药品监督管理局(NMPA)批准的HDAC抑制剂用于肿瘤治疗。然而这些已上市的HDAC抑制剂均属于广谱抑制剂,可靶向多个HDAC亚型,干扰多条细胞途径,进而引发细胞毒性,同时存在半衰期短、心脏毒性及其他不良反应等问题。此外,其获批适应证多集中于血液肿瘤,针对实体瘤的治疗效果有限。因此开发高亚型选择性的新型HDAC抑制剂尤为迫切[26-27]。基于上述分析,本章节系统综述了单靶点HDAC抑制剂对NSCLC细胞的抗增殖作用,着重阐述了新型抑制剂对特定HDAC亚型的靶向选择性,以期为后续高亚型选择性HDAC抑制剂的开发提供理论依据。

4.1 异羟肟酸类抑制剂

异羟肟酸类HDAC抑制剂是目前研究最多的一类抑制剂,该类药物由二甲基亚砜相关研究衍生开发而来。首个获批上市、临床疗效突出的HDAC抑制剂SAHA(图1)便属于异羟肟酸类,为后续同类型抑制剂研究奠定了基础。Chetan等[28]以哌嗪为连接链,异羟肟酸作为ZBG,成功合成了一系列目标化合物。其中化合物**1**(图1)对NSCLC H460细胞表现出显著的抑制效果,半数抑制浓度(IC_{50})为5.15 $\mu mol\cdot L^{-1}$。该系列化合物的异羟肟酸基团可靠近HDAC8活性位点的锌离子,化合物**1**能与His142、Gly206和Tyr306形成三个氢键相互作用(图2A)。研究人员同时指出对Cap基团进行化学修饰可能进一步增强化合物对HDAC8的亚型选择性。何唯瑜等[29]

以双帽檐的双齿钌(Ⅱ)配合物为 Cap 基团、吡啶环为连接链、异羟肟酸为 ZBG,设计并合成了三种具有双功能的异羟肟酸类钌配合物。其中,化合物 **2**(图 1)对 NSCLC A549 细胞抑制活性最佳,其 IC_{50} 值为 4.08 μmol·L^{-1}。双联吡啶钌 Cap 基团空间位阻较大,可提高化合物对 HDAC 亚型的选择性,另外 ZBG 与双联吡啶钌结构之间的对位排布有利于靶点特异性结合。异羟肟酸的羰基可与 His574 形成氢键、羟基可与 Tyr745 和 Asp705 形成氢键,这些相互作用共同促使化合物 **2** 对 HDAC6 亚型具有高选择性(图 2B)。Mehndiratta 等[30]报道了一系列 3-取代喹啉异羟肟酸类化合物,并系统评价其抗 A549 细胞增殖活性及对 HDAC 亚型的抑制能力。代表化合物 **3**(图 1)在 A549 细胞中表现出显著的抗肿瘤效果,其 IC_{50} 值为 1.29 μmol·L^{-1}。Western blot 分析表明,该系列化合物可通过激活 Caspase 和聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(poly(ADP-ribose) polymerase,PARP)通路诱导细胞凋亡。在 A549 细胞中,化合物 **3** 可剂量依赖性上调 Caspase 3/8/9 及磷酸化组蛋白 H2AX(phosphorylated histone H2AX at serine 139,γ-H2AX)的表达,表明其可诱发 DNA 双链断裂,促进肿瘤细胞凋亡。此外,流式细胞术分析显示,化合物 **3** 能以剂量依赖性方式增加 A549 细胞在亚 G_1 期的比例,提示其可能通过阻滞细胞周期发挥抗肿瘤作用,并且该化合物对 HDAC6 的选择性明显高于其他亚型,其 IC_{50} 值为 4.75 nmol·L^{-1}。进一步的研究表明,喹啉 C3 位置上的吡啶取代基对于提高化合物活性至关重要。Korkmaz 等[31]设计合成了三种新型氨基苯甲异羟肟酸衍生物,并研究其抗 A549 细胞活性及对硫氧还蛋白还原酶 1(thioredoxin reductase 1,TRXR1)、谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase,GST)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase,GR)的影响。结果显示,化合物 **4**(图 1)对 A549 细胞的抑制效果最佳,其 IC_{50} 值为 0.78 mmol·L^{-1},远低于其对正常肺成纤维细胞的毒性(IC_{50} 值为 2.46 mmol·L^{-1}),表明其对 NSCLC 细胞具有一定的选择性杀伤作用。流式细胞术和 Caspase-3 活性检测结果表明,化合物 **4** 主要通过诱导肿瘤细胞坏死以抑制增殖,这一机制可规避某些肿瘤细胞的凋亡抵抗,为 NSCLC 治疗提供新思路。此外,化合物 **4** 能够显著抑制在 NSCLC 中过表达、参与肿瘤生长和耐药的 TRXR1 酶活性。

Jiang 等[32]设计合成了一系列取代吲哚基异羟肟酸衍生物,化合物 **5**(图 1)对 HDAC1 和 HDAC6 两种亚型具有较高的选择性,IC_{50} 值分别为 1.16 nmol·L^{-1} 和 2.30 nmol·L^{-1},并且表现出优异的抗 NSCLC 细胞增殖活性,在 A549 细胞中 IC_{50} 值为 0.96 μmol·L^{-1}。该系列化合物能够以剂量依赖的方式增加组蛋白 H3、微管蛋白等靶蛋白的乙酰化水平,并通过诱导细胞周期阻滞和凋亡抑制细胞增殖,表明其可通过表观遗传途径恢复 NSCLC 细胞中异常低乙酰化状态,从而抑制肿瘤细胞增殖。

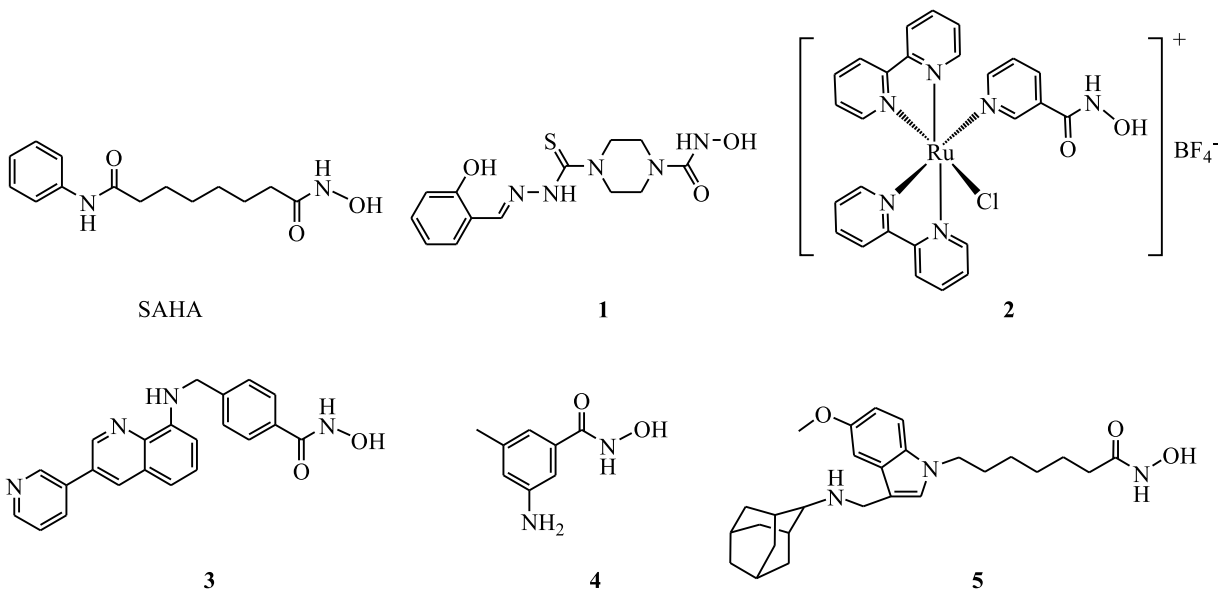


Figure 1　The structures of compounds 1 – 5

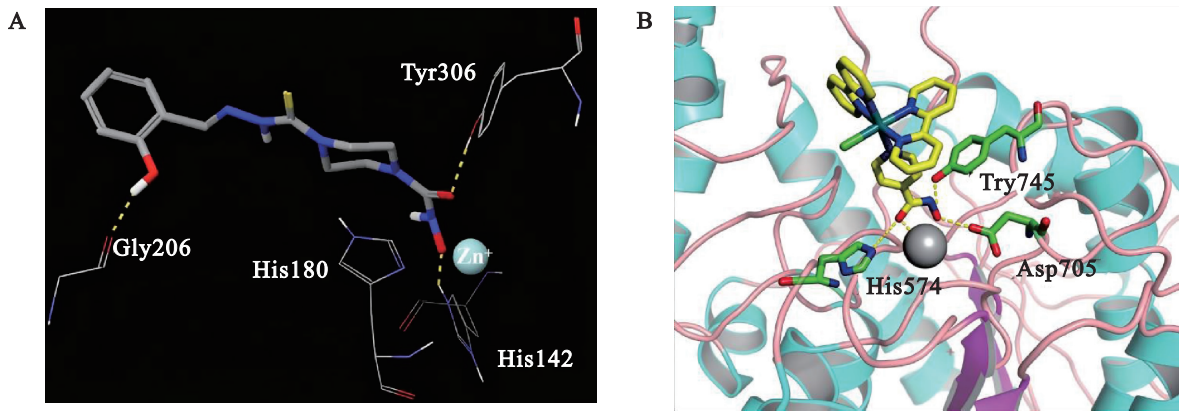


Figure 2 The crystal structure of compound 1 binding to HDAC8(A,PDB ID:1T69)[28] and compound 2 binding to HDAC6(B,PDB ID:7U8Z)[29]

4.2 苯甲酰胺类抑制剂

第二种常见的 HDAC 抑制剂是苯甲酰胺类抑制剂,该类分子的开发源于经典抗惊厥药地西林,研究发现其乙酰化衍生物具有良好的抗肿瘤细胞增殖活性。我国自主研发的西达本胺即属于苯甲酰胺类 HDAC 抑制剂,已被批准用于治疗复发或难治性外周 T 细胞淋巴瘤患者。

Cai 等[33]设计并合成了一系列具有邻氨基苯甲酰胺骨架的新型 HDAC 抑制剂,并对其体外抗肿瘤活性进行了系统验证。结果表明,所合成的 23 个化合物均对 A549 细胞展现出微摩尔级的抗增殖活性,其中以化合物 **6**(图 3)的表现最为突出,其 IC_{50} 值达 0.165 μmol·L^{-1}。细胞划痕实验表明,化合物 **6** 能够显著抑制 A549 细胞的迁移能力,DAPI 染色与流式细胞实验证实其能剂量依赖性的诱导细胞凋亡,并将细胞周期阻滞于 G_2/M 期。Western blot 检测结果显示,化合物 **6** 能有效地降低与细胞凋亡和去乙酰化相关蛋白的表达水平。分子对接分析发现,化合物 **6** 的苯环与 HDAC2 活性位点可形成额外的 π-π 相互作用(图 4),使得其能够以适宜的空间构象与 HDAC2 稳定结合。以上数据表明,化合物 **6** 具备作为先导分子开展后续抗肿瘤评价的潜力。

Gerokonstantis 等[34]同样以 *N*-(2-氨基苯基)苯甲酰胺结构作为 ZBG,采用焦谷氨酸、脯氨酸等氨基酸或杂环羧酸作为 Cap,4-{[4-(氨基甲基)苯氧基]甲基}苯甲酰结构作为连接链设计合成一系列新型 HDAC 抑制剂。所合成化合物在纳摩尔浓度下能有效抑制 HDAC1 和 HDAC2 的活性,并在微摩尔浓度下显著抑制 A549 细胞增殖。其中,以化合物 **7** 和 **8**(图 3)对 A549 细胞的抑制效果最为显著,IC_{50} 值分别为 6.8 μmol·L^{-1} 和 3.9 μmol·L^{-1},研究发现,二者还可明显下调 A549 细胞中 EGFR 的 mRNA 转录水平。

Chen 等[35]通过在 ZBG 苯环上酰胺键的对位引入氟原子,得到化合物 *N*-(2-氨基-4-氟苯基)-4-[双(2-氯乙基)氨基]苯甲酰胺(**9**,图 3)。该化合物对 HDAC1、2、3 具有选择性抑制作用,对 HDAC3 的选择性最佳,IC_{50} 值为 95.48 nmol·L^{-1}。此外,化合物 **9** 能有效抑制肿瘤细胞增殖,尤其在 A549 细胞中表现出较好的抑制效果,IC_{50} 值为 33.74 μmol·L^{-1}。联合用药实验结果表明,0.5 μmol·L^{-1}的化合物 **9** 能够增强紫杉醇和喜树碱的抗肿瘤活性。

Omidkhah 等[36]设计并合成了一系列喹啉取代苯甲酰胺衍生物,研究证明喹啉环 2 位甲基取代化合物的细胞毒性高于芳基取代,这可能是因为大体积芳基会在 HDAC 或其他靶标结合位点中产生空间位阻,削弱结合能力。

Namballa 等[37]合成了一系列 β-咔啉肉桂酰胺偶联物,考察了 β-咔啉为 Cap、肉桂酸为连接链、苯甲酰胺为 ZBG 的 HDAC 抑制剂活性。代表化合物 **10**(图 3)能够选择性抑制 HDAC2 和 HDAC3,该化合物在 A549 细胞中显示出更高的效力,IC_{50} 值为 3.99 μmol·L^{-1},而对正常肺细胞 L-132 的 IC_{50} 值则较高,表明其对 NSCLC 细胞具有一定的选择性。JC-1 染色结果表明化合物 **10** 能剂量依赖性诱导线粒体膜电位去极化。流式细胞周期检测发现化合物 **10** 可将肿瘤细胞阻滞在 G_2/M 期,并同时改变亚 G_1 期和 S 期的细胞比例。

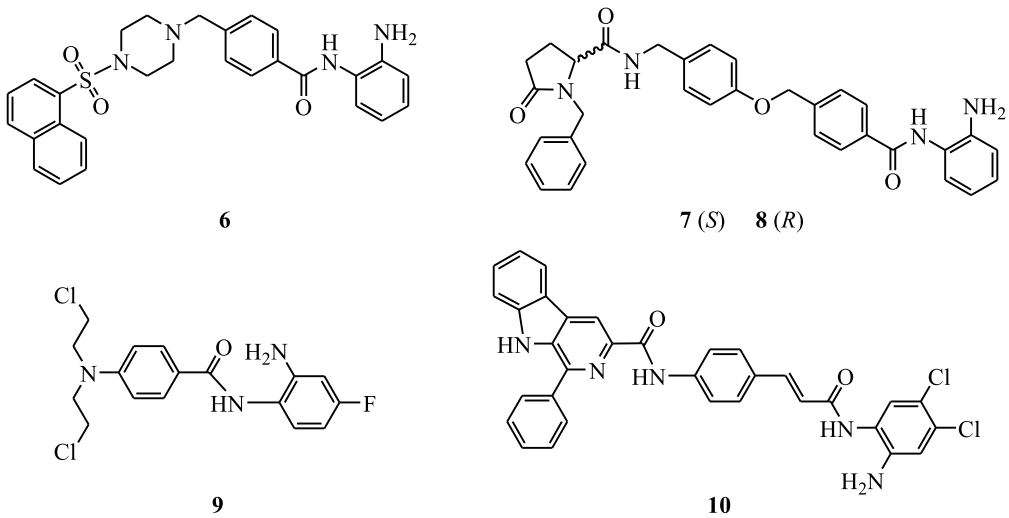


Figure 3　The structures of compounds 6 – 10

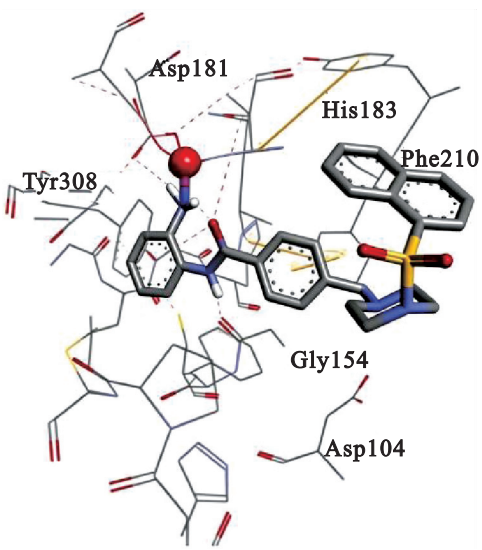


Figure 4　The crystal structure of compound 6 binding to HDAC2(PDB ID:4LXZ)[33]

4.3　脂肪酸类抑制剂

脂肪酸类 HDAC 抑制剂结构简单,其 Cap 基团主要为脂肪链。脂肪酸抑制剂毒性小,但存在首过效应明显,半衰期短,生物利用率低等问题,临床应用往往需要较高给药剂量,因此研究人员常将其羧酸结构制成酯基或羧酸盐,以前药形式改善成药缺陷[38]。丙戊酸(valproate,VPA,图 5)作为典型的短链支链脂肪酸,已被证实具有抑制Ⅰ类 HDAC 亚型的能力。与此同时,磷光环金属化铱(Ⅲ)配合物凭借良好的抗肿瘤潜力,在肿瘤药物研究中备受关注。Ye 等[39]通过酯键将 VPA 与铱(Ⅲ)配合物偶联,设计合成了 VPA 功能化的环金属化铱(Ⅲ)配合物 **11** ~ **13**(图 5)。这些化合物在体外对 A549 细胞表现出显著的抗增殖活性(表 2)。Tesei 等[40]利用一组 NSCLC 细胞评估了有机丙戊酸硫衍生物的抗肿瘤活性和作用机制。研究发现,相较于 VPA,新型有机硫衍生物 **14**(图 5)对 NSCLC H1915 细胞展现出最佳的抑制效果,其 IC_{50} 值为 72 μmol·L^{-1}。TUNEL 实验表明,化合物 **14** 可通过线粒体途径诱导 H1915 细胞凋亡。Matrigel 侵袭实验显示,化合物 **14** 可使高转移潜力 H1915 细胞的侵袭能力下降约 30%,并显著降低基质金属蛋白酶-1 的表达水平,有效防止 NSCLC 细胞侵袭转移。此外,体外联合用药实验证实,低浓度化合物 **14** 可与顺铂产生协同抗肿瘤作用,有望为晚期 NSCLC 化疗提供新型联合治疗方案。上述研究表明,通过酯键偶联金属配合物与有机药效团构建多功能抗肿瘤分子,是研发新型抗肿瘤药物的有效策略。Kandasamy 等[41]合成了一系列咪唑衍生物,其中化

合物 **15**(图5)对 A549 细胞展现出最佳的抗增殖活性,IC_{50}值为 60 μmol·L^{-1}。化合物 **15** 能够以浓度依赖性方式降低 A549 细胞活力,并抑制细胞锚定非依赖性生长。AO/EB 和 Hoechst33258 染色实验发现,经化合物 **15** 处理后的 A549 细胞出现了典型凋亡形态变化,且凋亡细胞的比例明显增加,表明其能通过诱导细胞凋亡来发挥抗肿瘤作用。利用 DCFH-DA 探针检测 A549 细胞内 ROS 水平,结果显示化合物 **15** 可使细胞内 ROS 水平显著升高,诱导氧化应激介导细胞凋亡。罗丹明 123 染色实验结果进一步证实,化合物 **15** 可明显降低线粒体膜电位,导致细胞色素 C 等凋亡因子释放,激活下游凋亡信号通路,最终促进细胞凋亡。

综上,化合物 **15** 可通过靶向 HDAC、诱导 ROS 生成、破坏线粒体功能等多重途径抑制 NSCLC 细胞增殖,为后续靶向 HDAC 抗肿瘤药物的机制研究与结构优化提供了重要理论依据。

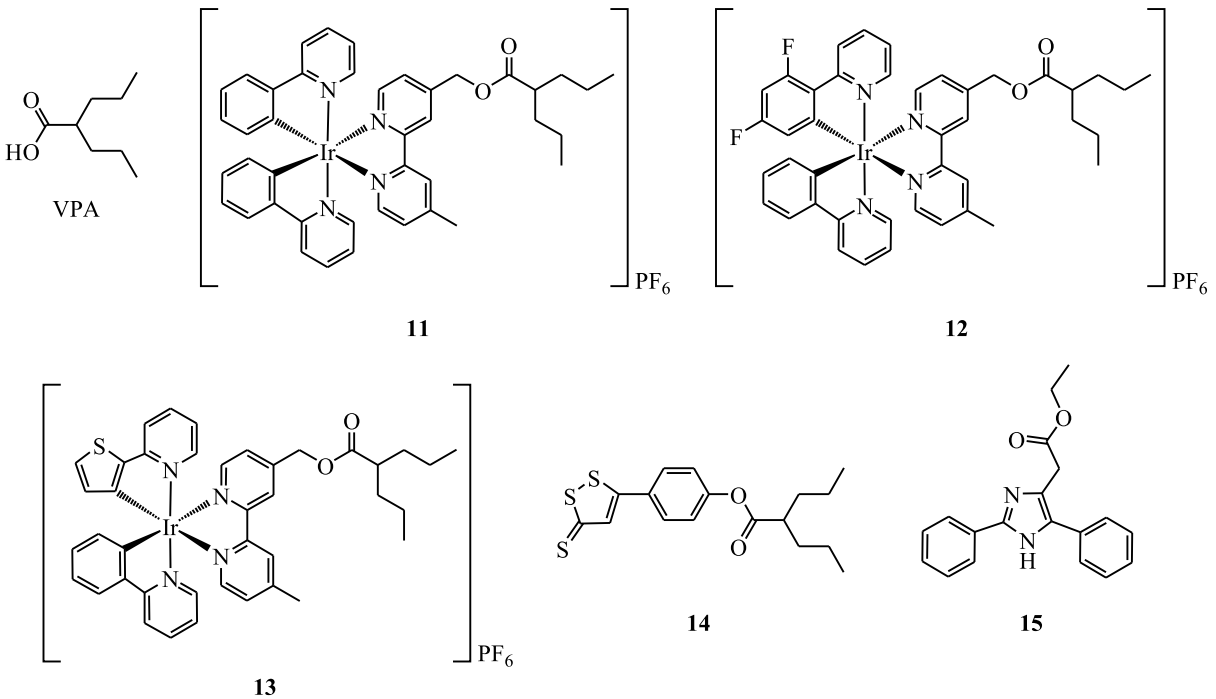


Figure 5 The structures of VPA and compounds 11 – 15

Table 2 Antiproliferative inhibitory effects of compounds 11 – 13 against various cell lines

Compd.	IC_{50}/(μmol·L^{-1})	
	A594	A594R
11	2.0 ± 0.2	1.0 ± 0.1
12	1.9 ± 0.2	0.79 ± 0.06
13	1.7 ± 0.1	1.3 ± 0.1

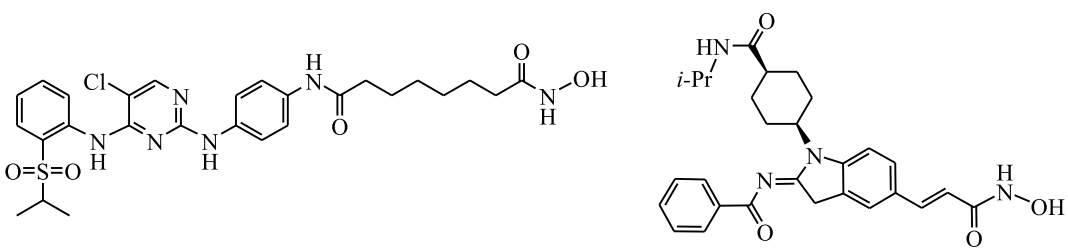
5 双靶点 HDAC 抑制剂

双靶点抑制剂是指可同时抑制两个或两类靶点的小分子抑制剂。双靶点 HDAC 抑制剂则特指在靶向抑制 HDAC 的同时,对其他靶点也能起到抑制作用。双靶点抑制剂的产生多基于提高治疗效果或克服耐药性。现有研究证实,HDAC 抑制剂对多种肿瘤有效,但腹泻、骨髓抑制和心血管毒性等不良反应严重限制了其临床应用。此外,由于在肿瘤治疗过程中蛋白激酶 B(protein kinase B,AKT)和周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase,CDK)等替代途径的激活,会诱发单靶点 HDAC 抑制剂的治疗耐药,因此设计具有多靶点的 HDAC 抑制剂是克服单靶点药物耐药性的重要策略[42]。基于双靶点 HDAC 抑制剂处于快速发展时期,因此本章节系统梳理了目前在研的双靶点抑制剂,重点介绍了靶点的选取以及双靶点抑制剂在治疗 NSCLC 中的突出成效。

5.1　HDAC 和 ALK 双靶点抑制剂

间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase,ALK)是一种与多种肿瘤发生密切相关的受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase,RTK),属于胰岛素受体超家族一员。研究表明,ALK 抑制剂与 HDAC 抑制剂联合应用对 ALK 阳性 NSCLC 耐药细胞具有协同抗增殖作用。Stockhammer 等[43]发现,连续多次 ALK 抑制剂给药后,携带 ALK 重排的肺腺癌患者会通过多种途径产生耐药性。而 HDAC 抑制剂 SAHA 可逆转上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)进程,恢复 E-钙粘蛋白表达,使高度耐药的 PF240-PE 肿瘤细胞重新对 ALK 抑制剂克唑替尼和艾乐替尼恢复敏感。Fukuda 等[44]证明了 EMT 介导的间充质表型可以与 ALK 突变共存,是驱动 ALK 抑制剂耐药的独立机制。采用 HDAC 抑制剂奎尼司他预处理细胞,可以激活 miR-200c/141 启动子,恢复 miR-200c 表达并逆转 EMT 进程,后续联用 ALK 抑制剂可规避 EMT 引起的耐药性,有效克服肿瘤异质性突变和 EMT 共同构成的多重耐药问题。Pan 等[45]设计并合成了一系列 2,4-嘧啶二胺衍生物作为 ALK 和 HDAC 的双靶点抑制剂。其中化合物 **16**(图 6)对 ALK(IC_{50} = 2.1 nmol·L^{-1})和 HDAC2(IC_{50} = 7.9 nmol·L^{-1})表现出显著的抑制活性,能够抑制肿瘤细胞的迁移和划痕修复。分子对接结果显示,化合物 **16** 与 ALK 的结合方式类似于色瑞替尼,其 2-氨基嘧啶片段可与铰链区 Met1199 形成氢键相互作用(图 7A);化合物 **16** 与 HDAC2 的结合方式与 SAHA 相似,异羟肟酸氧原子可与 HDAC2 活性位点的锌离子形成两个配位键,这可能是化合物 **16** 和 SAHA 对 HDAC2 抑制活性相近的核心原因(图 7B)。细胞实验表明,经化合物 **16** 处理的 A549 细胞中 ALK 磷酸化水平被显著抑制。

Wang 等[46]基于现有口服 ALK 抑制剂和 HDAC 抑制剂帕司他的结构,设计合成了一系列苯并咪唑衍生物。其中化合物 **17**(图 6)含有 2-酰亚胺基苯并咪唑母核和异羟肟酸侧链,对 ALK 和 HDAC6 显示出最佳的抑制活性,IC_{50}值分别为 16 nmol·L^{-1}和 1.03 μmol·L^{-1}。研究表明,化合物 **17** 能显著降低 NSCLC H2228 细胞中 ALK 的磷酸化水平,同时提升 HDAC6 底物 α-微管蛋白的乙酰化水平。与泛 HDAC 抑制剂 SAHA 相比,化合物 **17** 对 HDAC6 具有亚型选择性。在 A549 异种移植肿瘤小鼠模型中,20 mg·kg^{-1} 给药剂量下肿瘤生长抑制率可达 85%,且未对小鼠体重产生显著影响,表明化合物 **17** 抑瘤效果优异,体内耐受性良好。



16　　**17**

Figure 6　The structures of compounds 16 and 17

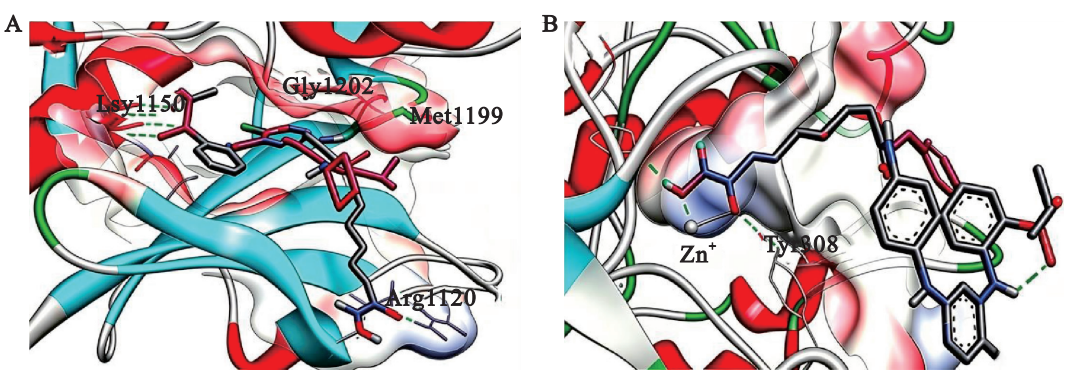


Figure 7　The crystal structures of compound 16 binding to ALK(A,PDB ID:4MKC) and HDAC2(B,PDB ID:4LXZ)[45]

此外,化合物**17**对CYP450酶和 *h*ERG 钾通道的抑制作用较弱,药物相互作用风险低,成药安全性高。上述研究成果为 ALK/HDAC 双靶点抑制剂的后续开发提供了重要参考。

5.2 HDAC 和 EGFR 双靶点抑制剂

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)是 HER 蛋白家族成员之一,其在多种肿瘤的发生发展中扮演着关键角色。研究表明,选择性敲低或抑制 HDAC 能够降低细胞内 EGFR 表达。此外,经典 HDAC 抑制剂 SAHA 与不同的 EGFR-TKIs 联合使用时,能够显著增强 EGFR-TKIs 的抗肿瘤疗效[47]。基于上述结论,研究人员着手研发 EGFR 和 HDAC 双靶点抑制剂,用于治疗 NSCLC 表观遗传性疾病。Qian 等[48]通过结合 2-甲基喹啉衍生物抗病毒药物 6(AV6,图 8)和 HDAC 抑制剂的功能基团,合成了 20 个在喹啉 6 位引入不同侧链的 AV6 衍生物,图 9A 展示了该双靶点抑制剂的设计思路。经体外 EGFR 和 HDAC 抑制活性筛选,确定化合物**18** 和**19**(图 8)为优选分子。二者对 NSCLC H1975 细胞均具有较强的抗增殖活性,IC_{50} 值分别为 0.48 μmol·L^{-1}和 0.35 μmol·L^{-1}。此外,化合物**18** 和**19** 可以上调组蛋白 H3 和 H4 的乙酰化水平,有效抑制 HDAC 活性。菌落形成实验表明化合物**18** 和**19** 能抑制 NSCLC 细胞体外增殖,其作用机制是依赖激活线粒体介导的细胞凋亡。体内抗肿瘤活性研究表明,化合物**19** 具有较强的抗肿瘤活性和良好的耐受性,在 H460 裸鼠移植瘤模型中,50mg·kg^{-1}和 25mg·kg^{-1}剂量组的肿瘤生长抑制率分别达到 52.4% 和 46.7%。整个给药周期内,小鼠脏器无明显损伤,体重无显著变化,说明其在体内具有较好的安全性,有望成为临床可用的抗肿瘤药物。作用机制研究表明化合物**19** 可下调肿瘤组织中 EGFR 的表达,并抑制 AKT、70 kDa 核糖体 S6 激酶(70 kDa ribosomal S6 kinase,p70 S6K)和 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)的磷酸化,同时增加组蛋白 H4 乙酰化水平,进一步证实了其在体内可通过同时抑制 EGFR 和 HDAC 来发挥作用。Zhao 等[49]设计合成了一系列含异羟肟酸侧链的 4-氨基喹唑啉衍生物并探索其对 EGFR 和 HDAC6 的双重抑制效果。其中化合物 **20**(图 8)对 EGFR(IC_{50} = 0.35 nmol·L^{-1})和 HDAC6(IC_{50} = 12 nmol·L^{-1})具有显著抑制作用。细胞实验结果显示,化合物**20** 对 H1975 细胞具有较强的抗增殖活性,其 IC_{50} 值为 1.82 μmol·L^{-1}。化合物 **20** 能够显著抑制 H1975 细胞中 EGFR 的磷酸化,并降低 EGFR 和 AKT 的表达,同时上调组蛋白 H3 乙酰化水平,有效抑制 HDAC 活性。此外,化合物 **20** 通过抑制 H1975 细胞增殖并诱导凋亡来发挥抗肿瘤活性,这一效果可能源于对 EGFR T790M、HER2 和 HDAC 的协同抑制效应。高阳[50]采用分子拼接原理,基于 HDAC 与 EGFR 两种抑制剂的结构,将异羟肟酸与喹唑啉相连,设计并合成了一系列新型 EGFR/HDAC 双靶点抑制剂。该类衍生物对 A549 细胞具有优异的抗肿瘤活性,其中碳连接链长度为 5 时抑制效果最佳。化合物 **21** 和 **22**(图 8)抗肿瘤活性最好,对 A549 细胞抗增殖活性的 IC_{50} 值分别为 4.033 μmol·L^{-1}和 3.281 μmol·L^{-1}。分子对接结果显示,化合物 **21** 分别可与 EGFR 中的 Asn818、Asp831 以及 HDAC 中的 Tyr91、Tyr297 形成氢键作用(图 9B 和 9C);化合物 **22** 除与 EGFR 中的 Tyr91 形成氢键外,还与 Phe335 产生 π-π 相互作用,与 HDAC 中的 Lys721、Met769、Cys773、Asp831 形成氢键作用(图 9D 和 9E)。

Ibrahim 等[51]报道了一系列具有双重抑制活性的异羟肟酸类化合物,可同时靶向 EGFR 和 HDAC,其中化合物 **23**(图 8)抑制效果最佳,对 EGFR 抑制活性的 IC_{50} 值为 0.063 μmol·L^{-1},对 HDAC1、2、4、6、8 的 IC_{50} 值分别为 0.148、0.168、5.852、0.06、2.257 μmol·L^{-1},对两类靶点均具有良好的选择性(图 9F 和 9G)。

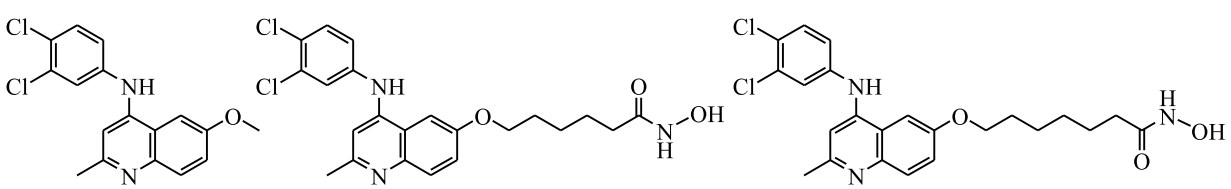
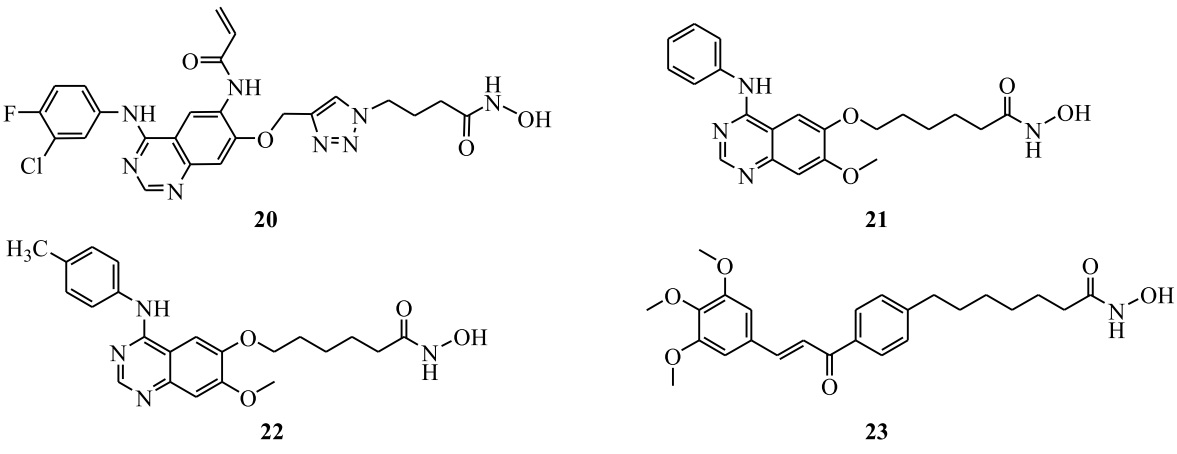


Figure 8 The structures of compounds 18 – 23



Continued Figure 8

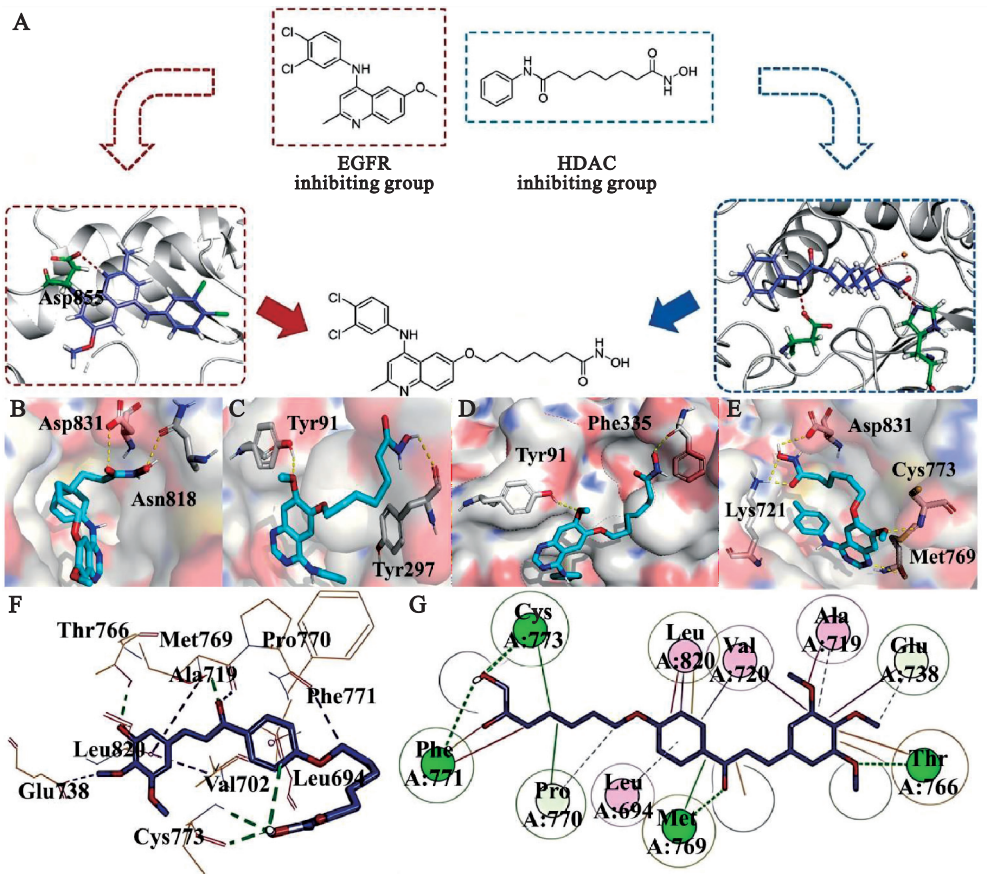


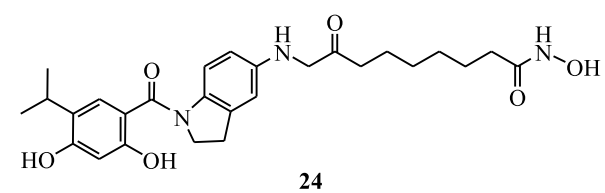
Figure 9　The design strategy of EGFR/HDAC dual-target inhibitors(A)[48], binding modes of compound 21 with EGFR(B, PDB ID:2GS2) and HDAC(C, PDB ID:1C3SS), binding modes of compound 22 with EGFR(D, PDB ID:2GS2) and HDAC(E, PDB ID:1C3SS)[50], binding modes of compound 23 with HDAC(F, PDB ID:5EF8) and EGFR(G, PDB ID:1M17)[51]

化合物 **23** 抗 A549 细胞增殖的 IC_{50} 值为 0.797 μmol·L^{-1}。凋亡检测结果表明,化合物 **23** 可使促凋亡蛋白 Bax 表达上调 3.75 倍,抑凋亡蛋白 Bcl2 下调至原有的 0.42 倍;同时活化胱天蛋白酶 3、8,表达量分别增加 5.1 倍和 3.15 倍,最终诱导肿瘤细胞发生程序性死亡,并将细胞周期停滞在 G_1/S 期。

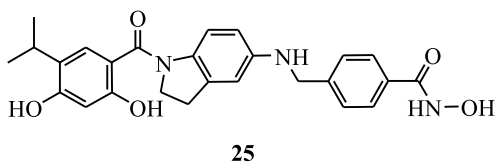
5.3　HDAC 和 HSP90 双靶点抑制剂

热休克蛋白 90(heat shock protein 90, HSP90)是一种重要的伴侣蛋白,可通过与致癌蛋白和共伴侣蛋白相互作用来调节信号通路并纠正肿瘤细胞中的错误折叠蛋白。抑制 HSP90 伴侣机制,可有效抑制肿瘤细胞的存活、增殖、侵袭和迁移[52]。目前已有大量 HSP90 抑制剂进入临床

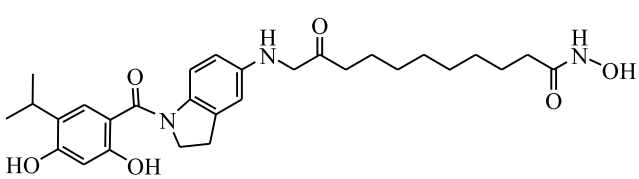
试验阶段,但由于疗效低、毒性大或产生耐药性,大多数候选药物效果并不理想,但将 HSP90 抑制剂与其他药物联用可以产生协同作用并改善耐药现象[53]。基于联合用药的优势,开发 HSP90 相关多重靶向抑制剂已成为提高治疗效果的研究热点。已有研究证实 HDAC 抑制剂能够影响 HSP90 的伴侣活性,二者联用能够发挥协同抗肿瘤作用[54],这为 HSP90/HDAC 双靶点抑制剂的开发提供了理论支撑。Ojha 等[55]研究合成了一系列 1-芳基吲哚啉异羟肟酸类化合物。其中化合物 **24**(图 10)被鉴定为 HDAC6/HSP90 双靶点抑制剂。化合物 **24** 对 HDAC6 亚型和 HSP90 均表现出显著的抑制作用,IC_{50}值分别为 1.15 nmol·L^{-1}和 46.3 nmol·L^{-1}。化合物 **24** 对 HDAC6 亚型选择性最高,且对 A549 细胞和携带 EGFR T790M 突变的 H1975 细胞具有显著的抗细胞增殖活性,GI_{50}值为 1.04 ~ 1.61 μmol·L^{-1}。该化合物具有较强的细胞毒性,特别是对 H1975 细胞,IC_{50}值达 0.26 μmol·L^{-1},这可能是通过抑制 HSP90 介导的。在此基础上,该课题组又设计了一系列化合物,最终筛选出以 *N*-苄基为 linker 的化合物 **25**(图 10)和含长链 linker 的化合物 **26**(图 10)作为 HDAC6/HSP90 双重抑制剂。化合物 **26** 对 HDAC6 亚型(IC_{50} = 4.3 nmol·L^{-1})和 HSP90(IC_{50} = 46.8 μmol·L^{-1})具有强效抑制作用,同时具有显著的抗 A549、H1975 细胞增殖作用,GI_{50}值分别为 0.76 μmol·L^{-1}和 0.52 μmol·L^{-1}。化合物 **25** 通过选择性抑制 HDAC6(IC_{50} = 33.3 μmol·L^{-1})和 HSP90(IC_{50} = 66 μmol·L^{-1})发挥抗细胞增殖作用,对应 A549、H1975 细胞的GI_{50}值分别为 0.37 μmol·L^{-1}和 0.13 μmol·L^{-1}。此外,化合物 **26** 可显著调控 HDAC6/HSP90 信号通路相关生物标志物的表达水平,能以剂量依赖性方式有效降低 IFN-γ 刺激后 H1975 细胞中程序性死亡配体 1(PD-L1)的表达,表明 HDAC6/HSP90 双重抑制可以调节肿瘤微环境的免疫抑制能力[56]。Mehndiratta 等[57]采用药物相似性骨架设计策略,以 SAHA 为模板,通过引入间苯二酚修饰表面识别基团,构建了一系列 HSP90/HDAC 双重抑制剂。其中化合物 **27**(图 10,HDAC IC_{50} = 194 nmol·L^{-1}; HSP90 IC_{50} = 153 nmol·L^{-1})和化合物 **28**(图 10,HDAC IC_{50} = 360 nmol·L^{-1}; HSP90 IC_{50} = 77 nmol·L^{-1})显示出较好的抑制效果。进一步研究表明,上述化合物能够诱导 α-微管蛋白和组蛋白 H3 的乙酰化水平,证实其能有效抑制 HDAC 活性。流式细胞周期检测显示,化合物 **27** 和 **28** 可诱导 H1975 细胞大量阻滞于亚 G_1 期,触发肿瘤细胞凋亡。值得注意的是,化合物 **27** 和 **28** 能以剂量依赖性方式显著降低 IFN-γ 诱导的 H1975 细胞中 PD-L1 表达,解除 PD-L1 对 T 细胞的抑制作用,阻断肿瘤细胞免疫逃逸,从而增强机体免疫系统对 NSCLC 细胞的攻击能力。包春蕾[58]以 HSP90 抑制剂 VER-50589 的关键药效团作为 HDAC 抑制剂的 Cap 结构,搭配不同长度连接链,末端引入异羟肟酸作为 ZBG,合成一系列 HSP90/HDAC 双靶点抑制剂。该类分子对 A549 细胞的抗增殖活性与连接链长度有关,随着链长度的增加,活性减弱,其中具有三个碳连接链的化合物 **29**(图 10)活性最高。分子对接结果显示,化合物 **29** 的异羟肟酸基团可与 HDAC6 催化中心的 Asp612 和 His614 形成氢键,其 HSP90 抑制剂的关键药效团部分(Cap)还能够与 HDAC6 中 Ser531、Ala641 和 Asn645 形成氢键相互作用,这也是该分子强效抑制 HDAC6 的结构基础。



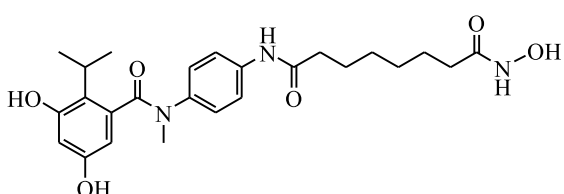
24



25

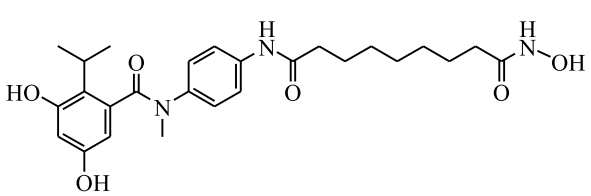


26

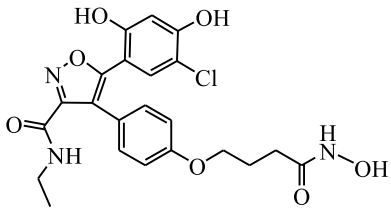


27

Figure 10 The structures of compounds 24 – 29



28



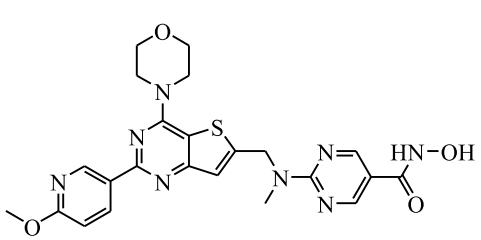
29

Continued Figure 10

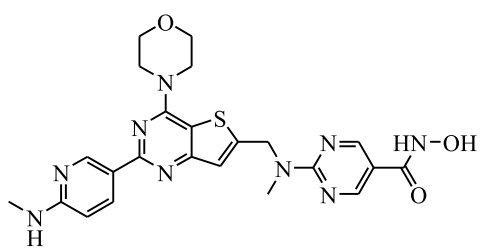
5.4　HDAC 和 PI3K 双靶点抑制剂

磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)是调控细胞信号传导的关键激酶,在肿瘤细胞的发生、增殖和生存中发挥重要作用。临床研究发现,多条促生存、促增殖通路的同步激活会显著削弱 PI3K 抑制剂的治疗效果,而通过抑制 HDAC 实现多通路协同干预,是克服这一局限性极具前景的研发策略。Qian 等[59]设计合成了化合物 **30**(图 11),研究发现该化合物对 HDAC1、2、3、10、11 亚型和 PI3Kα 激酶抑制效果较好,能够显著诱导 H460 细胞内 p21 蛋白表达,对 A549、H460 细胞展现出较好的抗增殖效果,IC_{50}值分别为 0.01 μmol·L^{-1}和 0.05 μmol·L^{-1}。化合物 **30** 能够诱导 H460 等细胞周期停滞在 G_2/M 期,同时在细胞内可观察到 PARP 裂解、Caspase-7 活化、p21 蓄积,以及 BCL-2、BCL-xL 和 survivin 等抗凋亡蛋白表达显著降低。在携带 KRAS G12S 突变的 A549 小鼠异种移植瘤模型中,通过口服或静脉给药,化合物 **30** 均能显著抑制肿瘤生长,体内抑瘤作用明确。作为 PI3K/HDAC 双靶点抑制剂,化合物 **30** 不仅能持久阻断 PI3K-AKT-mTOR 信号通路,还能抑制鼠肉瘤病毒癌基因同源物 RAF(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog,RAF)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)以及信号转导与转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3,STAT3)等代偿信号分子以及上游受体酪氨酸激酶,实现对多个肿瘤相关信号通路的协同阻断,从而克服单一靶点抑制剂容易产生耐药性的缺点。目前该化合物已经进入临床试验研究,为 PI3K/HDAC 双靶点药物的后续研究提供了理论基础。

Fan 等[60]设计合成的化合物 **31**(图 11),对 PI3Kα 激酶表现出显著的亚型选择性,IC_{50}值为 9.3 nmol·L^{-1},对 HDAC1、2、3、10、11 也具有强效的抑制活性,对应的 IC_{50}值为 0.9 ~ 2.7 nmol·L^{-1}。化合物 **31** 对 PC-9、H1975、H358 三株 NSCLC 细胞均具有较强的抗增殖活性,IC_{50}值依次为 4.3、7.1、7.8 nmol·L^{-1}。机制研究表明,化合物 **31** 可显著抑制 HCT116 细胞中 *SLC7A11* 和 *GPX4* 的表达,促进铁代谢相关基因(*TRFC*、*KEAP1*、*NOXO1*)的上调以及还原型谷胱甘肽代谢相关基因(*GCLM*)的下调,同时引起细胞内脂质活性氧的积累以及脂质过氧化产物丙二醛的增加,诱导铁依赖性细胞死亡,进而有效抑制肿瘤细胞增殖。在 H2122 细胞构建的 SCID 小鼠移植瘤模型中,化合物 **31** 能显著抑制肿瘤生长,且在实验过程中未观察到小鼠体重明显下降,说明其在抑制肿瘤生长的同时对机体的毒性较小,具有较好的耐受性,具备临床转化潜力。



30



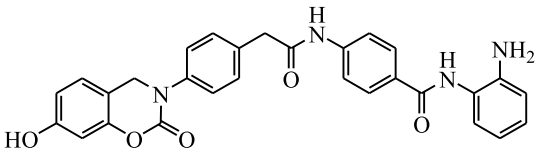
31

Figure 11　The structures of compounds 30 and 31

5.5 HDAC 和 MIF 双靶点抑制剂

巨噬细胞迁移抑制因子(macrophage migration inhibitory factor,MIF)是一种促炎细胞因子,其编码基因存在功能多态位点。研究发现,MIF同时介导肿瘤的发生、增殖、侵袭以及新血管生成过程[61]。MIF 可与 CXCR7 和 CD74 等细胞膜受体结合[62],调控肿瘤细胞增殖。基于上述机制,研究人员开展 MIF/HDAC 双靶点抑制剂研发,以期用于治疗 NSCLC 表观遗传性疾病。Cao 等[63]融合 HDAC 抑制剂和 MIF 抑制剂的关键药效团,设计了一系列化合物,其中化合物 **32**(图 12)活性最优。化合物 **32** 对 HDAC1、2、3 亚型和 MIF 均表现出显著的抑制作用,IC_{50} 值依次为 0.2、1.1、0.6、0.18 μmol·L^{-1}。进一步细胞实验表明,抑制 HDAC 活性有助于抑制肿瘤细胞存活和增殖,抑制 MIF 可下调 pAKT 和 AKT 的表达,从而干扰细胞存活,所以同时抑制 HDAC/MIF 可协同降低肿瘤细胞活力。

此外,化合物 **32** 在 EGFR 突变 TKI 耐药株 H1650 和 EGFR 敲除型 A549 细胞中均显示出更强的效力。这为后续 HDAC/MIF 双靶点抑制剂研发提供了参考。



32

Figure 12 The structure of compound 32

6 结语与展望

HDAC 在染色质修饰,基因表达调控,介导细胞周期、分化和凋亡过程中发挥着关键作用,是表观遗传通路中的核心功能酶。HDAC 可去除组蛋白和非组蛋白的乙酰基团,调节基因转录活性,其异常活化与多种肿瘤的发生发展紧密相关。目前,已有五种 HDAC 抑制剂获得美国 FDA 批准上市,主要用于血液系统恶性肿瘤的临床治疗。然而,在 NSCLC 等实体瘤治疗中,虽然 HDAC 抑制剂可以通过诱导肿瘤细胞分化、凋亡、周期阻滞等发挥抗肿瘤作用,但实体瘤的发病机制复杂,仅依靠 HDAC 抑制剂单药治疗难以实现理想疗效,且长期用药易产生耐药性。此外,HDAC 抑制剂在早期临床试验中存在多种不良反应,包括恶心、呕吐、乏力、贫血、血小板减少以及心律失常等,大幅限制了其临床应用。因此,应深入研究 HDAC 各亚型的结构与功能差异,开发针对特定亚型的高选择性抑制剂以减少不良反应[64],同时采用联合给药的方式来提高治疗效果,克服耐药性。例如,一种新型的泛 HDAC 抑制剂 GCJ-490A[65] 与吉非替尼在 HCC827/GR6、A549 耐药细胞中显示出协同作用,目前该药物已进入临床阶段,为 NSCLC 治疗提供了新的联合治疗策略,尤其针对 EGFR 抑制剂耐药的患者。HDAC 抑制剂还可与化疗药物、靶向药物、其他表观遗传调控药物或免疫治疗药物等联用。如 HDAC 抑制剂与免疫检查点抑制剂联合使用,可通过调节肿瘤微环境和增强免疫反应来提高治疗效果,更精准地发挥抗肿瘤作用。除此以外,部分 HDAC 抑制剂的药物代谢动力学特性同样限制了其在实体瘤治疗中的应用。如一些 HDAC 抑制剂半衰期较短,难以在实体瘤组织中维持有效浓度,导致药物在肿瘤细胞中的作用时间不足,影响疗效。因此可以通过化学修饰等方法,例如将 HDAC 抑制剂与叶酸、蝶酸等结合,使其能选择性靶向叶酸受体过表达的实体瘤,从而延长药物半衰期,提高其在肿瘤组织中的浓度[66]。同时优化给药方式,研究纳米载体等新型药物递送系统,提高 HDAC 抑制剂的溶解性、肿瘤靶向性并减少全身毒性。

本文作者介绍了三种不同类型的单靶点 HDAC 抑制剂,该系列化合物虽对 HDAC 亚型表现出一定选择性,但其靶向效果仍需进一步提升。由此可见,深入解析各 HDAC 亚型精确结构和生物学功能对于开发有效的高选择性药物至关重要。与此同时,双靶点药物的开发已成为研究热点,单靶点抑制剂普遍存在疗效不足、不良反应多以及耐药性等问题,而单分子双靶点抑制剂则有望克服上述缺陷。这类药物通过同时抑制 HDAC 和其他关键靶点,能够实现更广泛的抗肿瘤作用。

双靶点抑制剂的优势在于能够针对多个肿瘤相关信号通路,从而更有效地抑制肿瘤细胞的生长和转移,有望提高药物疗效并克服耐药,为 NSCLC 等肿瘤的治疗提供新思路。目前至少有 6 种 HDAC 双靶点抑制剂进入临床试验阶段,其中部分药物在血液瘤(如 CUDC-907 治疗多发性骨髓瘤)和实体瘤(如 LCA155 治疗结直肠癌)中表现出显著疗效。CUDC-907 作为一种靶向 HDAC 和 PI3K 的双重抑制剂,目前其临床开发以多发性骨髓瘤为首要适应症,同时也在 NSCLC 等实体瘤中开展了初步给药剂量探索和疗效观察。遗憾的是目前尚无专门针对 NSCLC 的 HDAC 双靶点抑制剂进入临床研究。此外,绝大多数 HDAC 双靶点抑制剂以异羟肟酸作为 ZBG,尽管对多种肿瘤治疗有效,但普遍存在药物代谢动力学性质较差,细胞膜渗透性不足等问题。双靶点抑制剂研发还面临靶点组合科学选取、分子骨架合理设计、双靶点抑制活性均衡调控等诸多挑战。

面对当前 NSCLC 临床治疗的严峻形势,研发高效、安全的新型治疗策略刻不容缓。HDAC 抑制剂作为一类具有显著临床应用潜力的抗肿瘤药物,其研发与应用前景值得期待。未来该领域的研究主要集中于三方面:首先,随着对肿瘤生物学机制的深入了解,更多新的靶点将被发现,这为单/双靶点抑制剂的研发提供了更多可能性;其次,新型药物传递系统和生物技术的快速发展,将进一步提高单/双靶点抑制剂的疗效和安全性,使其更好的满足临床需求;最后,表观遗传靶点的深入研究仍是小分子抑制剂研发的重要方向,尤其在多药联用方面,HDAC 的潜力尚未完全发掘。综上所述,HDAC 抑制剂在 NSCLC 治疗中展现出巨大潜力,有望为临床提供更精准、个体化的新型治疗方案,为 NSCLC 患者的靶向治疗带来新突破。

参考文献:

[1] SUNG H, FILHO A M, LAVERSANNE M, et al. Global cancer statistics 2024: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 34 cancers in 186 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2026, 76(4): e70090.

[2] ZHANG X H, QIN M A, WU H P, et al. A review of progress in histone deacetylase 6 inhibitors research: structural specificity and functional diversity[J]. J Med Chem, 2021, 64(3): 1362 – 1391.

[3] WU F F, WANG L, LIU Z C, et al. Design, synthesis and biological activity of novel histone deacetylase inhibitors based on elemene scaffold[J]. Chin J Med Chem(中国药物化学杂志), 2021, 31(3): 167 – 177.

[4] XIE Z, WANG R, CHEN H, et al. Research progress of antitumor inhibitors designed based on histone deacetylase 6[J]. Chin J Med Chem(中国药物化学杂志), 2024, 34(3): 241 – 254.

[5] LIANG T, XUE J X, YAO Z F, et al. Design, synthesis and biological evaluation of 3, 4-disubstituted-imidazolidine-2, 5-dione derivatives as HDAC6 selective inhibitors[J]. Eur J Med Chem, 2021, 221: 113526.

[6] LI Y, YAO T P. Regulation of histone deacetylase activities and functions by phosphorylation and its physiological relevance[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(12): 9876.

[7] CHEN L, ZHANG X H. Histone deacetylase 6: a new player in oxidative stress-associated disorders and cancers[J]. Int J Mol Med, 2025, 56(3): 5578.

[8] HAN M, LIU S. The histone deacetylase family: structural features and application of combined computational methods[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(18): 13452.

[9] ZHANG Q, JIANG P. Application and research progress of histone deacetylase inhibitors in pulmonary fibrosis[J]. Indian J Pharm Sci, 2024, 86: 287 – 293.

[10] WANG T, LU Z, HAN T Y, et al. Deacetylation of glutaminase by HDAC4 contributes to lung cancer tumorigenesis[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(11): 4452 – 4465.

[11] EICHNER L J, CURTIS S D, BRUN S N, et al. HDAC3 is critical in tumor development and therapeutic resistance in *KRAS*-mutant non-small cell lung cancer[J]. Sci Adv, 2023, 9(11): e3243.

[12] ZHANG J, MENG F L. Diagnostic and prognostic value of histone deacetylase 4 and fibrinogen/albumin ratio in non-small cell lung cancer[J]. J Pract Med(实用医学杂志), 2023, 39(19): 2495 – 2500.

[13] SGEN J, ZHANG J. Expression and clinical significance of GNPNAT1 and HDAC11 in non-small cell lung cancer tissues[J]. Journal of Modern Oncology(现代肿瘤医学), 2024, 32(21): 4089 – 4095.

[14] XU T T, FANG Y, GU Y R, et al. HDAC inhibitor SAHA enhances antitumor immunity *via* the HDAC1/JAK1/FGL1 axis in lung adenocarcinoma

[J]. J Immunother Cancer, 2024, 12(10): e010077.
[15] XU Q F, LIU C X, ZANG J, et al. Discovery of a novel hybrid of vorinostat and riluzole as a potent antitumor agent[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 454.
[16] ZHONG M Y, TAN J S, PAN G C, et al. Preclinical evaluation of the HDAC inhibitor chidamide in transformed follicular lymphoma[J]. Front Oncol, 2021, 11: 780118.
[17] El OMARI N, LEE L H, BAKRIM S, et al. Molecular mechanistic pathways underlying the anticancer therapeutic efficiency of romidepsin [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 164: 114774.
[18] SULTANA F, MANASA K L, SHAIK S P, et al. Zinc dependent histone deacetylase inhibitors in cancer therapeutics: recent update [J]. Curr Med Chem, 2019, 26(40): 7212 – 7280.
[19] SHIEH J M, TANG Y A, HU F H, et al. A histone deacetylase inhibitor enhances expression of genes inhibiting wnt pathway and augments activity of DNA demethylation reagent against nonsmall-cell lung cancer [J]. Int J Cancer, 2017, 140(10): 2375 – 2386.
[20] CHO H, SON W C, LEE Y S, et al. Differential effects of histone deacetylases on the expression of NKG2D ligands and NK cell-mediated anticancer immunity in lung cancer cells[J]. Molecules, 2021, 26(13): 3952.
[21] ADEEGBE D O, LIU Y, LIZOTTE P H, et al. Synergistic immunostimulatory effects and therapeutic benefit of combined histone deacetylase and bromodomain inhibition in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Discov, 2017, 7(8): 852 – 867.
[22] BAG A, SCHULTZ A, BHIMANI S, et al. Coupling the immunomodulatory properties of the HDAC6 inhibitor ACY241 with oxaliplatin promotes robust anti-tumor response in non-small cell lung cancer [J]. Oncoimmunol, 2022, 11(1): 2042065.
[23] KIM H R, HWANG K E. HDAC inhibitor, CG-745 inhibit EMT and induce apoptosis in non-small cell lung cancer[J]. Eur Resp J, 2024, 64: 4227.
[24] OMIDKHAH N, HADIZADEH F, GHODSI R. Dual HDAC/BRD4 inhibitors against cancer [J]. Med Chem Res, 2021, 30(10): 1822-1836.
[25] ZHANG W X, HUANG J, TIAN X Y, et al. A review of progress in *o*-aminobenzamide-based HDAC inhibitors with dual targeting capabilities for cancer therapy[J]. Eur J Med Chem, 2023, 259: 115673.
[26] RAJI I, YADUDU F, JANEIRA E, et al. Bifunctional conjugates with potent inhibitory activity towards cyclooxygenase and histone deacetylase[J]. Bioorg Med Chem, 2017, 25(3): 1202 – 1218.
[27] SHIRBHATE E, SINGH V, JAHORIYA V, et al. Dual inhibitors of HDAC and other epigenetic regulators: a novel strategy for cancer treatment[J]. Eur J Med Chem, 2024, 263: 115938.
[28] CHETAN B, BUNHA M, JAGRAT M, et al. Design, synthesis and anticancer activity of piperazine hydroxamates and their histone deacetylase (HDAC) inhibitory activity[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20(13): 3906 – 3910.
[29] HE W Y, SHI X Y, CHEN T W, et al. Design, synthesis, and biological activity study of bifunctional hydroxamic acid ruthenium complexes as HDAC6 inhibitors[J]. Chin J Pharm Sci (中国药学杂志), 2024, 59(15): 1384 – 1392.
[30] MEHNDIRATTA S, CHEN M C, CHAO Y H, et al. Effect of 3-subsitution of quinolinehydroxamic acids on selectivity of histone deacetylase isoforms[J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2021, 36(1): 74 – 84.
[31] KORKMAZ I N, ÖZDEMIR H. Synthesis and anticancer potential of new hydroxamic acid derivatives as chemotherapeutic agents[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2022, 194(12): 6349 – 6366.
[32] JIANG B E, HU J X, LIU H, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of indole-based hydroxamic acid derivatives as histone deacetylase inhibitors[J]. Eur J Med Chem, 2022, 227: 113893.
[33] CAI C, LUAN Y P. Design, synthesis and antitumor activity evaluation of novel benzamide HDAC inhibitors[J]. Med Chem Res, 2024, 33(5): 748 – 763.
[34] GEROKONSTANTIS D T, MANTZOURANI C, GKIKAS D, et al. *N*-(2-Aminophenyl)-benzamide inhibitors of class I HDAC enzymes with antiproliferative and antifibrotic activity[J]. J Med Chem, 2023, 66(20): 14357 – 14376.
[35] CHEN Y M, FENG J H, HU Y J, et al. Discovery of *N*-(2-amino-4-fluorophenyl)-4-[bis-(2-chloroethyl)-amino]-benzamid as a potent HDAC3 inhibitor [J]. Front Oncol, 2020, 10: 592385.
[36] OMIDKHAH N, HADIZADEH F, ABNOUS K, et al. Synthesis, structure activity relationship and biological evaluation of a novel series of quinoline-based benzamide derivatives as anticancer agents and histone deacetylase (HDAC) inhibitors[J]. J Mol Struct, 2022, 1267: 133599.
[37] NAMBALLA H K, ANCHI P, MANASA K L, et al.

β-Carboline tethered cinnamoyl 2-aminobenzamides as class I selective HDAC inhibitors: design, synthesis, biological activities and modelling studies[J]. Bioorg Chem, 2021, 117: 105461.

[38] QIU H R. Design, synthesis, and antitumor activity evaluation of novel thiazole-containing hydroxamic acid histone deacetylase inhibitors[D]. Jinan: Jinan University, 2023.

[39] YE R R, CAO J J, TAN C P, et al. Valproic acid-functionalized cyclometalated iridium(Ⅲ) complexes as mitochondria-targeting anticancer agents[J]. Chem Eur J, 2017, 23(60): 15166 – 15176.

[40] TESEI A, BRIGLIADORI G, CARLONI S, et al. Organosulfur derivatives of the HDAC inhibitor valproic acid sensitize human lung cancer cell lines to apoptosis and to cisplatin cytotoxicity[J]. J Cell Physiol, 2012, 227(10): 3389 – 3396.

[41] KANDASAMY S, SUBRAMANI P, SRINIVASAN K, et al. Design and synthesis of imidazole based zinc binding groups as novel small molecule inhibitors targeting histone deacetylase enzymes in lung cancer[J]. J Mol Struct, 2020, 1214: 128177.

[42] PENG X P, SUN Z Q, KUANG P H, et al. Recent progress on HDAC inhibitors with dual targeting capabilities for cancer treatment[J]. Eur J Med Chem, 2020, 208: 112831.

[43] STOCKHAMMER P, HO C S L, HEGEDUS L, et al. HDAC inhibition synergizes with ALK inhibitors to overcome resistance in a novel ALK mutated lung adenocarcinoma model[J]. Lung Cancer, 2020, 144: 20 – 29.

[44] FUKUDA K, TAKEUCHI S, ARAI S, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is a mechanism of ALK inhibitor resistance in lung cancer independent of ALK mutation status[J]. Cancer Res, 2019, 79(7): 1658 – 1670.

[45] PAN T, DAN Y R, GUO D F, et al. Discovery of 2, 4-pyrimidinediamine derivatives as potent dual inhibitors of ALK and HDAC[J]. Eur J Med Chem, 2021, 224: 113672.

[46] WANG K L, YEH T Y, HSU P C, et al. Discovery of novel anaplastic lymphoma kinase (ALK) and histone deacetylase (HDAC) dual inhibitors exhibiting antiproliferative activity against non-small cell lung cancer[J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2024, 39(1): 2318645.

[47] CAO P J, LI Y W, SHI R F, et al. Combining EGFR-TKI with SAHA overcomes EGFR-TKI-acquired resistance by reducing the protective autophagy in non-small cell lung cancer[J]. Front Chem, 2022, 10: 837987.

[48] QIAN Y Q, ZHOU S Y, LI J Y, et al. Discovery of 4-((3, 4-dichlorophenyl) amino)-2-methylquinolin-6-ol derivatives as EGFR and HDAC dual inhibitors[J]. Eur J Pharmacol, 2023, 960: 176114.

[49] ZHAO L, FAN T T, SHI Z C, et al. Design, synthesis and evaluation of novel ErbB/HDAC multitargeted inhibitors with selectivity in EGFR T790M mutant cell lines[J]. Eur J Med Chem, 2021, 213: 113171.

[50] GAO Y. Synthesis and antitumor activity of novel quinazoline derivatives as dual EGFR/HDAC inhibitors[D]. Shenyang: Shenyang University of Technology, 2024.

[51] IBRAHIM T S, MALEBARI A M, MOHAMED M F A. Design, synthesis, *in vitro* anticancer evaluation and molecular modelling studies of 3, 4, 5-trimethoxyphenyl-based derivatives as dual EGFR/HDAC hybrid inhibitors[J]. Pharmaceuticals, 2021, 14(11): 1177.

[52] LI Z N, LUO Y. HSP90 inhibitors and cancer: prospects for use in targeted therapies (review)[J]. Oncol Rep, 2023, 49(1): 6.

[53] XIE X, ZHANG N, LI X, et al. Small-molecule dual inhibitors targeting heat shock protein 90 for cancer targeted therapy[J]. Bioorg Chem, 2023, 139: 106721.

[54] KIM S H, KANG J G, KIM C S, et al. The heat shock protein 90 inhibitor SNX5422 has a synergistic activity with histone deacetylase inhibitors in induction of death of anaplastic thyroid carcinoma cells[J]. Endocrine, 2016, 51(2): 274 – 282.

[55] OJHA R, HUANG H L, HUANGFU W C, et al. 1-Aroylindoline-hydroxamic acids as anticancer agents, inhibitors of HSP90 and HDAC[J]. Eur J Med Chem, 2018, 150: 667 – 677.

[56] OJHA R, NEPALI K, CHEN C H, et al. Isoindoline scaffold-based dual inhibitors of HDAC6 and HSP90 suppressing the growth of lung cancer *in vitro* and *in vivo*[J]. Eur J Med Chem, 2020, 190: 112086.

[57] MEHNDIRATTA S, LIN M H, WU Y W, et al. *N*-Alkyl-hydroxybenzoyl anilide hydroxamates as dual inhibitors of HDAC and HSP90, downregulating IFN-γ induced PD-L1 expression[J]. Eur J Med Chem, 2020, 185: 112406.

[58] BAO C L. Design and synthesis of dual-target inhibitors targeting heat shock protein 90 and histone

deacetylase [D]. Qingdao: Qingdao University, 2021.
[59] QIAN C G, LAI C J, BAO R D, et al. Cancer network disruption by a single molecule inhibitor targeting both histone deacetylase activity and phosphatidylinositol 3-kinase signaling [J]. Clinical Cancer Research, 2012, 18(15): 4104 - 4113.
[60] FAN F S, LIU P, BAO R D, et al. A dual PI3K/HDAC inhibitor induces immunogenic ferroptosis to potentiate cancer immune checkpoint therapy [J]. Cancer Res, 2021, 81(24): 6233 - 6245.
[61] KINDT N, JOURNE F, LAURENT G, et al. Involvement of macrophage migration inhibitory factor in cancer and novel therapeutic targets[J]. Oncol Lett, 2016, 12(4): 2247 - 2253.
[62] PENTICUFF J C, WOOLBRIGHT B L, SIELECKI T M, et al. MIF family proteins in genitourinary cancer: tumorigenic roles and therapeutic potential [J]. Nat Rev Urol, 2019, 16(5): 318 - 328.
[63] CAO F Y, XIAO Z P, CHEN S W, et al. HDAC/MIF dual inhibitor inhibits NSCLC cell survival and proliferation by blocking the AKT pathway [J]. Bioorg Chem, 2021, 117: 105396.
[64] BORA-SINGHAL N, MOHANKUMAR D, SAHA B, et al. Novel HDAC11 inhibitors suppress lung adenocarcinoma stem cell self-renewal and overcome drug resistance by suppressing Sox2 [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 4722.
[65] HE T, GAO Y L, FANG Y F, et al. The HDAC inhibitor GCJ-490A suppresses c-Met expression through IKKα and overcomes gefitinib resistance in non-small cell lung cancer. [J]. Cancer Biol Med, 2022, 19(8): 1172 - 1192.
[66] LI Y X, SETO E. HDACs and HDAC inhibitors in cancer development and therapy [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2016, 6(10): a026831.

Research progress on HDAC single-target and dual-target inhibitors against non-small cell lung cancer

LIU Xiaoyu, LI Chuang, SUN Shijun, LIU Yang*

(*Key Laboratory of Structure-Based Drugs Design and Discovery* (*Shenyang Pharmaceutical University*), *Ministry of Education*, *Shenyang* 110016, *China*)

Abstract: As core epigenetic regulators, histone deacetylase (HDAC) inhibitors exert prominent anti-tumor effects in treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC) by inhibiting HDAC activity, increasing histone acetylation, remodeling chromatin structure, and regulating tumor-related gene transcription, thereby suppressing the proliferation, invasion and malignant progression. Growing clinical evidence supports the efficacy of HDAC inhibitors in NSCLC monotherapy and combination therapy. This review systematically summarizes recent advances of single-target and dual-target HDAC inhibitors for NSCLC treatment, with a focus on their isoform selectivity and rational molecular design strategies. Furthermore, it discusses the current limitations of relevant studies and prospects future research directions, aiming to promote the clinical translation of corresponding anti-tumor agents.

Key words: non-small cell lung cancer; HDAC inhibitor; epigenetics; antitumor mechanism