

Inhibitori histonskih deacetilaza kao protutumorski lijekovi

Poje, Goran; Rajić, Zrinka

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2020, 76, 261 - 280**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:300936>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Inhibitori histonskih deacetilaza kao protutumorski lijekovi

GORAN POJE, ZRINKA RAJIĆ

Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet,
Zavod za farmaceutsku kemiju

Uvod

Istraživanja novijeg datuma pokazuju da epigenetske modifikacije imaju jednaku važnost u procesu razvoja tumora kao i mutacije gena (1). Epigenetske modifikacije uključuju metilaciju, odnosno hidroksimetilaciju molekule DNA, potom promjene histona i regulaciju nekodirajućih RNA. Promjene histona se ostvaruju kao acetilacije i deacetilacije, fosforilacije te ubikvitinizacije (2,3). Posebno su značajne acetilacije i deacetilacije histona jer, uz metilaciju molekule DNA, određuju tzv. epigenetički kod koji regulira transkripcijski status pojedinih gena (4). Reakcija acetilacije histona katalizirana je histonskim acetil-transferazama (engl. *histone acetyltransferases*, HAT), a obrnuta reakcija uklanjanja acetilne skupine histonskim deacetilazama (engl. *histone deacetylases*, HDAC). Navedene promjene događaju se na lizinskim aminokiselinskim ostacima unutar repne domene histona (5).

Lizinski aminokiselinski ostatci su pri fiziološkim uvjetima pozitivno nabijeni što omogućava povezivanje histona s negativno nabijenim fosfatnim skupinama u okosnici molekule DNA. Zbog prethodnog, kromatin je kondenziran (heterokromatin) te transkripcijski neaktivan. Acetilacijom amino skupine neutralizira se pozitivni naboj te slabe veze s fosfatima iz molekule DNA, a struktura kromatina postaje dekonenziranija. Ovakva rahla struktura omogućava pristup replikacijskoj ili transkripcijskoj mašineriji (6). Dakle, stupanj kondenzacije kromatina ima utjecaj na raspoloživost molekule DNA kao kalupa za transkripciju što se očituje u ekspresiji gena.

Poremećaj ravnoteže acetilacije i deacetilacije histona podloga je za razvoj brojnih poremećaja. U raznih vrsta tumora uočena je povišena koncentracija i aktivnost HDAC u odnosu na normalne stanice (7) što je navedene enzime učinilo zanimljivom i pogodnom metom za razvoj novih antitumorskih lijekova.

Histonske deacetilaze

Histonske deacetilaze su enzimi koji kataliziraju reakciju hidrolize acetilne skupine bočnog ogranka L-lizina u histonima, ali i nehistonskim proteinima (8). Nazvane su histonskim jer se prvotno smatralo da su njihove jedine mete histoni. Danas se zna da postoji više od 50 nehistonskih proteina koji su mete HDAC, poput transkripcijskih faktora, receptora hormona, prenositelja signala i proteina citoskeleta (9).

U ljudi je do sada otkriveno 18 HDAC koje se prema sličnosti s kvašćevim proteinima razvrstavaju u četiri glavne skupine. Međusobno se razlikuju prema strukturi, enzimskoj aktivnosti, subcelularnoj lokalizaciji i ekspresiji (10). Za djelovanje lijekova, inhibitora histonskih deacetilaza, najznačajnija je prisutnost iona cinka u aktivnom mjestu enzima. HDAC iz skupina 1, 2 i 4 u aktivnom mjestu sadrže ion cinka kao kofaktor zbog čega se nazivaju cink-ovisnim ili klasičnim histonskim deacetilazama (11). Skupina 3 slična je kvašćevom proteinu Sir2 te su ove HDAC poznatije kao sirtuini. U katalitičkom mjestu ne sadrže ion cinka, već im je za aktivnost neophodan koenzim nikotinamid adenin dinukleotid (NAD⁺) (12).

Učinci inhibicije histonskih deacetilaza

Lijekovi inhibitori HDAC blokiraju deacetilaciju histona, ali i nehistonskih proteina. Rezultat je zaustavljanje staničnog ciklusa i proliferacije, apoptoza tumorskih stanica te inhibicija angiogeneze. Uočen je i učinak na stanične signalne putove i nekodirajuće RNA te sposobnost modulacije imunskog odgovora (13,14).

Relativnu specifičnost HDAC inhibitora na stanice tumora objašnjava hipoteza »epigenetičke ranjivosti stanica tumora«. Prema toj teoriji, stanicama tumora za ekspresiju gena odgovornih za nekontroliranu proliferaciju nužni su enzimi HDAC, dok normalne stanice imaju više epigenetičkih regulatornih mehanizama te njihovo preživljavanje nije isključivo ovisno o aktivnosti HDAC enzima (15).

Zaustavljanje staničnog ciklusa. HDAC inhibitori uzrokuju zaustavljanje staničnog ciklusa putem nekoliko mehanizama, od kojih je najvažniji povećana ekspresija gena *CDKN1A*, koji kodira za protein p21. Protein p21 sprječava stvaranje dimera iz ciklina i ciklin ovisne kinaze koji je neophodan za napredovanje

stanice kroz G1 kontrolnu točku staničnog ciklusa (16). Drugo, ekspresija gena *CDKN1A* regulirana je proteinom p53 koji se veže na njegov promotor. HDAC inhibitori povećavaju acetilaciju p53 što pridonosi njegovoj stabilizaciji i povećanoj aktivnosti. Štoviše, na *CDKN1A* promotor kompetitivno se veže i HDAC1, ali s inhibirajućim učinkom na ekspresiju. Lijekovi inhibitori uzrokuju otpuštanje HDAC1 s promotora što povećava ekspresiju gena *CDKN1A* (17).

Induciranje apoptoze. HDAC inhibitori uzrokuju apoptozu povećanjem ekspresije proapoptotičkih te utišavanjem ekspresije antiapoptotičkih gena (18). Utjecaj na vanjski apoptozni put očituje se u povećanju broja receptora smrti: TRAIL, DR5 i Fas na membranama stanica. Pojačano su eksprimirani i njihovi ligandi: Fas-L, LIGHT i TLA1. Vezanjem liganada receptori se aktiviraju, prenose apoptotički signal nizvodno kroz signalnu kaskadu te u konačnici dolazi do aktivacije kaspaza koje su izvršitelji apoptoze (19,20). Na unutarnji put apoptoze HDAC inhibitori utječu tako što uzrokuju pojačanu ekspresiju proteina BAX, BAK i APAF1 koji dovode do aktivacije kaspaza, a smanjuju ekspresiju proteina Bcl-2 koji inhibira aktivaciju istih (21,22).

Učinak na stanične signalne putove. HDAC inhibitori ostvaruju učinak na stanične signalne putove aktivacijom odgovarajućih protein kinaza. Primjerice, aktivacijom ERK aktivira se transkripcijski faktor AP-1 te se povećava njegova sposobnost vezanja za molekulu DNA. AP-1 ima utjecaj na brojne stanične procese poput proliferacije, diferencijacije i apoptoze (22).

Antiangiogeni učinak. Antiangiogeni učinak HDAC inhibitori postižu utišavanjem proangiogenih gena poput gena za faktor rasta vaskularnog endotela (VEGF) i/ili gena za endotelnu sintazu dušikovog oksida (eNOS) (23). Jedan od mogućih mehanizama djelovanja je hiperacetilacija proangiogenetskog transkripcijskog faktora HIF-1 α , što potiče njegovu degradaciju (24). Lijekovi inhibitori također smanjuju količinu VEGF receptora na stanicama neuroblastoma (25) te narušavaju stabilnost eNOS mRNA tako što se vežu za netranslatirani 5' - kraj (26).

Učinak na nekodirajuće RNA. HDAC inhibitori utječu na ekspresiju nekodirajuće RNA (miRNA). Primjerice, vorinostat ili suberoylanilid hidroksumska kiselina (engl. *suberoylanilide hydroxamic acid*, SAHA) inducira prekomjernu ekspresiju miR-129-5p. Ova nekodirajuća RNA sama inducira apoptozu tumorskih stanica štitnjače (27). Štoviše, neke miRNA same djeluju na HDAC i inhibiraju ih (28).

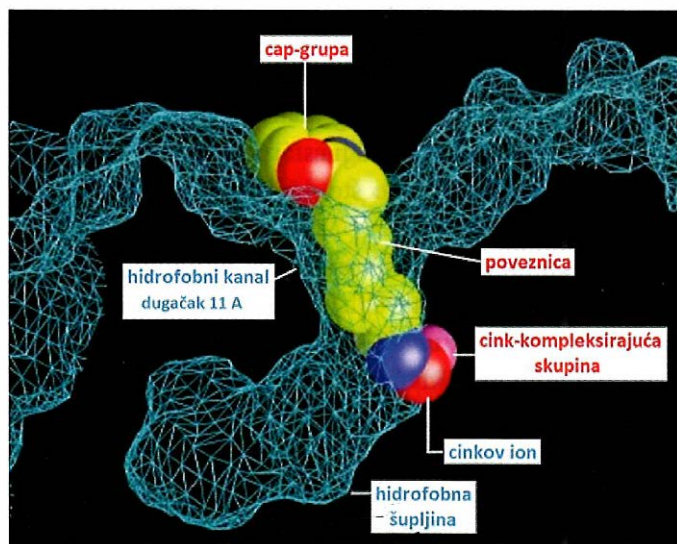
Moduliranje imunosnog odgovora. Smanjena aktivnost HDAC uzrokuje povećanu ekspresiju glavnog sustava tkivne podudarnosti (engl. *Major Histocompatibility Complex*, MHC) i kostimulirajućih molekula što rezultira aktivacijom

T-stanica (29). U određenih vrsta tumora (dojka, prostata, gušterača) zapaženo je da izlaganje tumorskih stanica HDAC inhibitoru (SAHA) povećava osjetljivost istih na lizu posredovanu T-stanicama (30).

Lijekovi inhibitori histonskih deacetilaza

Razvoj inhibitora histonskih deacetilaza kao potencijalnih citostatika započeo je 90-ih godina prošlog stoljeća. Otkriće japanskog znanstvenika Yoshida i suradnika kako trihostatin A, produkt *Streptomyces sp.*, ostvaruje antileukemijskih učinak zahvaljujući inhibiciji HDAC enzima (31), potaknulo je sintezu brojnih, strukturno različitih inhibitora HDAC (32).

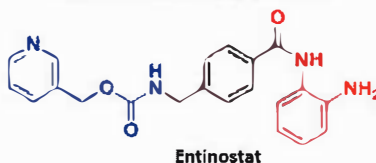
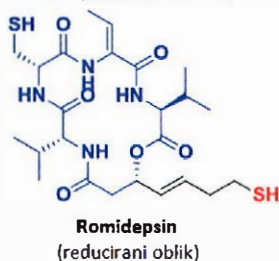
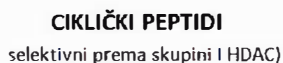
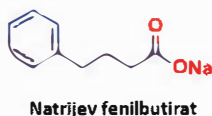
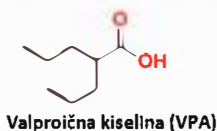
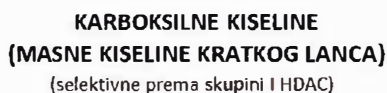
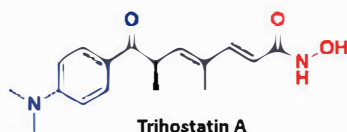
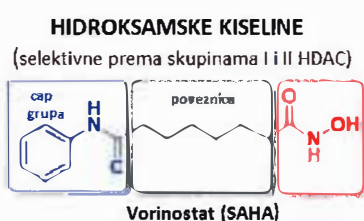
Kristalografijom rendgenskih zraka utvrđeni su dijelovi u molekulama inhibitora koji su bitni za interakciju s katalitičkim mjestom enzima. Površinska vezujuća domena (*cap* grupa) omogućava interakciju s površinom enzima. Vrlo često sadrži polarnu vezujuću jedinicu. Poveznica je hidrofobni dio u strukturi molekule inhibitora kojoj je uloga povezivanje *cap* grupe i cink-kompleksirajuće skupine pri čemu premoštava kanal dug oko 11 Å. Na poveznici se nastavlja cink-kompleksirajuća skupina koja se smješta u katalitičko mjesto enzima, kompleksira ion cinka te inhibira aktivnost enzima (slika 1.). Manji broj sintetiziranih inhibitora HDAC u strukturi posjeduje hidrofobnu skupinu koja ulazi u tzv. unutrašnju šupljinu unutar katalitičkog mjesta i povećava jakost vezanja na enzim (33).



Slika 1. ◀ Dijelovi katalitičkog mjesta HDAC enzima (označeni plavom bojom) te dijelovi molekule inhibitora (označeni crvenom bojom) bitni za interakciju s enzimom (modificirano prema 34)

Cap grupe su vrlo različitih struktura: od jednostavnih, poput benzena ili piridina (primjerice u trihostatinu A i SAHA-i), do tricikličkih prstenastih sustava, odnosno cikličkih peptida (romidepsin). Polarna vezujuća jedinica može biti keton, amid, sulfonamid, sulfonanilid, karbamat ili heterociklički prsten poput oksazola i tiazola. Poveznica je najčešće nerazgranati ugljikovodični lanac dugačak od 4 do 6 ugljikovih atoma (vrlo rijetko je razgranat i nezaštićen), ali može sadržavati i cinamilni, odnosno cinamilu sličan motiv. Postoji nekoliko mogućih cink-kompleksirajuća skupina. Najzastupljenija je hidroksamska, a često se u strukturama inhibitora pronalaze i karboksilna, tiolna, acetiltiolna, eterska i 2-aminoanilidna (35).

Prema kemijskoj strukturi HDAC inhibitori se mogu podijeliti u četiri glavne skupine: karboksilne kiseline (masne kiseline kratkog lanca), hidroksamske kiseline, cikličke peptide i *orto*-aminoanilide (slika 2.).



Cap grupa
Poveznica

Slika 2. ► Predstavници glavnih skupina HDAC inhibitora i njihove kemijske značajke (modificirano prema 36)

Karboksilne kiseline

Karboksilne kiseline i njihove konjugirane baze su prva razvijena skupina HDAC inhibitora. Poznate su i pod nazivom masne kiseline kratkog lanca. Karboksilna kiselina ima ulogu cink-vezujuće skupine dok se hidrofobni alkilni lanac, nerazgranat ili razgranat, smješta u hidrofobnu šupljinu enzima. Karboksilna kiselina ima malu sposobnost keliranja iona cinka što ove inhibitore čini slabo aktivnima (36). S obzirom na prethodno, ne iznenađuje da je ovo vrlo mala skupina HDAC inhibitora, bez registriranih predstavnika. Određene molekule iz ove skupine spojeva već se duže primjenjuju u terapiji, ali ne kao citostatiki. Valproična kiselina, odnosno njena natrijeva sol, koristi se u liječenju epilepsije, a fenilbutanska kiselina, odnosno natrijev fenilbutirat, se koristi za liječenje poremećaja ciklusa ureje (37,38). Zbog slabe bioraspoloživosti i potentnosti te brze metaboličke razgradnje, potrebna su dodatna istraživanja i strukturne modifikacije unutar ove skupine. Na tragu tome su novije alkanske kiseline s *cap* grupom koja pojačava djelovanje te prolijekovi s boljim farmakokinetičkim karakteristikama (36,39).

Hidroksamske kiseline

Hidroksamska kiselina je najčešća cink-vezujuća skupina zbog velikog afiniteta za keliranje iona cinka. Putem karbonilnog kisika te kisika iz hidroksilaminske skupine ostvaruje dvije koordinativne veze s ionom cinka u aktivnom mjestu HDAC enzima. Prednosti hidroksamske kiseline kao cink-vezujuće skupine, uz već spomenuti veliki afinitet za keliranje iona cinka, su dobra topljivost, jednostavna sinteza te stabilnost *in vitro*. Zbog prethodnog, to je preferirana grupa spojeva pri razvoju novih HDAC inhibitora (40).

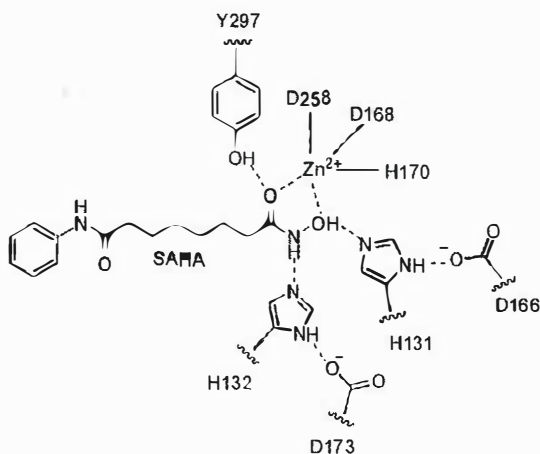
Treba napomenuti da prisustvo ove cink-vezujuće skupine donosi i neželjene učinke, prvenstveno zbog keliranja iona cinka u cink-ovisnim enzimima poput aminopeptidaza, metaloproteinaza, karboanhidraze, ali i zbog vezanja drugih metala (41). Selektivnost se može poboljšati promjenama poveznice ili *cap* grupe. Hidroksamsku kiselinu također karakteriziraju loša farmakokinetička svojstva u vidu brzog metaboliziranja i klirensa *in vivo*. Za ovu skupinu spojeva karakteristično je više mogućih metaboličkih putova. Hidroksamska skupina može se *O*-sulfonirati i *O*-glukuronidirati. Moguća je i hidroliza do karboksilne kiseline ili redukcija do amida koji se onda hidrolizira do karboksilne kiseline (42). Predstavnici su trihostatin A, pionir u istraživanju HDAC inhibitora, te vorinostat, panobinostat i belinostat.

Vorinostat

Kemijsko ime vorinostata je *N*-hidroksi-*N'*-feniloktandiamid, ali je poznatiji kao suberoilanilid hidroksamska kiselina, skraćeno SAHA. Fenilna skupina je

cap grupa, s amidnom skupinom kao polarnom vezujućom jedinicom. Hidrofobni ugljikovodični lanac građen od 6 metilenskih jedinica je poveznica, a hidroksamska kiselina ima ulogu cink-vezujuće skupine. Također je zaslužna za ostvarivanje međumolekulskih interakcija (vodikove veze) s aminokiselinim ostacima što je preduvjet pravilnog smještanja inhibitora i kompleksiranja (slika 3.) (36).

Slika 3. ► Interakcije vorinostata s aminokiselinim ostacima i kiferanje iona cinka u aktivnom mjestu enzima (39)



Vorinostat inhibira skupinu 1 i 2 HDAC enzima te se ubraja u pan inhibitore (39). Citostatsko djelovanje ostvaruje na razini transkripcije gena, ali i putem netranskripcijskih učinaka. Transkripcijski učinci mogu biti izravni i neizravni. Izravni transkripcijski učinci posljedica su promjena u ekspresiji gena: određeni geni, poput gena za p21, TBP-2, metalotionein 1L, histon H2B, su inducirani, dok su drugi (geni za ciklin D1, ErbB2, timidilat sintaza, importin b) utišani (43). Neizravne transkripcijske učinke vorinostat ostvaruje povećanom acetilacijom transkripcijskih faktora (E2F-1, YY1, Smad7, EKLF, p53, BCL-6, HIF-1, NF- κ B i dr.) što u konačnici opet dovodi do promjene u ekspresiji gena. Primjerice, acetilacija transkripcijskog promotora p53 povećava njegovu sposobnost vezanja za DNA što se očituje u povećanoj ekspresiji gena reguliranih tim transkripcijskim faktorom (44). Netranskripcijske učinke vorinostat postiže acetilacijom nehistonskih proteina. Primjer su α -tubulin i protein toplinskog šoka 90 (Hsp90). Inhibicija HDAC 6 dovodi do povećane acetilacije Hsp90, a to rezultira smanjenom aktivnošću proteina koji potiču rast i preživljavanje stanice (Bcr-Abl, c-Raf i AKT) (45). Povećana razina acetiliranih histona i nehistonskih proteina narušava stanični ciklus i kontrolne točke te je spriječena mitotička stanica (46).

Vorinostat primijenjen peroralno u dozama od 200 do 600 mg pokazuje linearnu ovisnost između primijenjene doze i koncentracije u plazmi (47). Apsorpcija i bioraspoloživost ovog lijeka nisu ovisne o hrani, iako uzimanje lijeka s hranom može spriječiti gastrointestinalne nuspojave. Vorinostat se metabolizira glukuronidacijom putem uridin difosfat glukuronozil transferaze (UGT). Polimorfizam gena koji kodira za ovaj enzim odgovoran je za toksičnost lijeka u pojedinaca (48). Vorinostat se ne metabolizira preko CYP enzima, niti inhibira iste. Poluvrijeme života lijeka iznosi od 60 do 100 minuta.

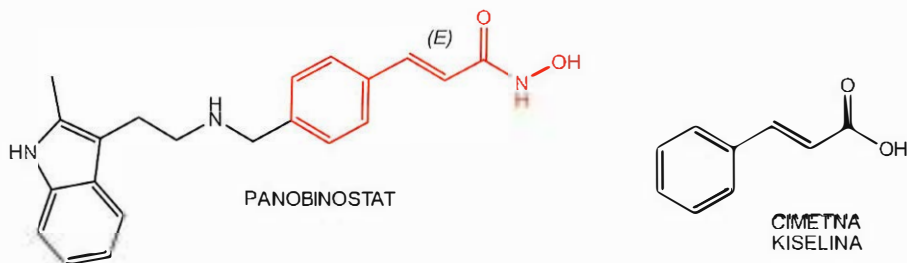
Vorinostat je odobrila Američka agencija za hranu i lijekove (engl., *Food and Drug Administration*, FDA) za liječenje kožnog limfoma T-stanica. Primjenjuje se peroralno, u dozi od 400 mg, jednom dnevno (49). U ovoj dozi rijetko izaziva po život opasne nuspojave. Ukoliko nuspojave ipak postanu životno ugrožavajuće moguće je smanjenje doze na 300 mg dnevno. Ispitivana je učinkovitost i sigurnost intravenske primjene ovoga lijeka pri čemu je zaključeno kako je jednako učinkovita kao i peroralni oblik. Međutim, zabilježene su ozbiljne hematološke nuspojave prilikom intravenske primjene. Zbog toga su oralne kapsule preferirani oblik primjene (50).

Kada se vorinostat primjenjuje unutar odobrene doze, nuspojave su slabe do umjerne, a uključuju: umor, mučninu, povraćanje, dijareju. Ozbiljnije nuspojave, pogotovo ako se prekorači preporučena dnevna doza, su: anemija, trombocitopenija, dehidracija, plućna embolija te karcinom skvamoznih stanica (51). Zabilježeni su i slučajevi produljenja QTc-intervalu prilikom terapije vorinostatom (52). Ovaj lijek je u kategoriji D za primjenu u trudnoći. Studije na životinjama pokazale su da prolazi placentu te ozbiljno oštećuje plod (53).

Panobinostat

Panobinostat također spada u skupinu HDAC inhibitora koji sadrže hidroksamsku kiselinu. Osim spomenute kelirajuće skupine, u strukturi su indolski prsten supstituiran metilnom skupinom na položaju 2 kao *cap* grupa te ugljikovodični lanac isprekidan amino skupinom, benzenskim prstenom i dvostrukom vezom u *E* konfiguraciji kao poveznica (slika 4.) (39). Desni dio molekule lijeka (označen crvenom bojom) pokazuje sličnost s cimetnom kiselinom kojoj su pridružena brojna farmakološka djelovanja, između ostalog i antitumorsko (54).

Panobinostat je snažniji HDAC inhibitor od vorinostata, a također se ubraja u pan inhibitore (55,56). Ostvaruje antitumorski učinak putem višestrukih mehanizama koji uključuju izravnu i neizravnu regulaciju genske ekspresije te inhibiciju staničnih mehanizama koji uzrokuju degradaciju neželjenih ili krivo smotanih proteina. Inhibicijom skupine 1 HDAC može ponovno aktivirati



Slika 4. ► Struktura panobinostata i sličnost s molekulom cimetne kiseline

tumor-supresorske gene (primjerice *p21*) koji su u stanicama tumora epigenetički utišani (57). Dobar primjer je i protutumorski gen tetraspanin *CD9* koji kodira protein s inhibitornim učinkom na progresiju tumora, metastaziranje i izbjegavanje imunskog odgovora. U primarnim plazma stanicama multiplog mijeloma ekspresija ovog proteina je utišana. Terapija panobinostatom omogućava ponovnu ekspresiju proteina (58).

Povećanom acetilacijom nehistonskih proteina panobinostat neizravno regulira gensku ekspresiju. Primjerice, povećani broj acetiliranih proteina *p53* uzrokuje povećanu transkripciju gena *p21*. Također, panobinostat može inhibirati aktivnost STAT-3, Akt i HIF- α izravno ili ometanjem šaperonske uloge proteina toplinskog šoka 90 čime su narušeni preživljavanje tumorskih stanica i angiogeneza (55). Panobinostat zaustavlja alternativni put degradacije proteina djelovanjem na agresom, inkluziju koje se temelji na mikrotubulima. Inhibicijom HDAC6 sprječava acetilaciju mikrotubula koja je ključna za funkcionalnost agresoma. Upravo je spomenuti alternativni put zaslužan za razvoj rezistencije na bortezomib (inhibira proteasom). Kombinacijom bortezomiba i panobinostata u terapiji se stoga postiže sinergistički učinak i nadvladava rezistencija (59).

Panobinostat se primjenjuje peroralno, najčešće kao jednokratna dnevna doza od 20 mg, i to 1., 3., 5., 8., 10. i 12. dana 21-dnevnog ciklusa kroz osam ciklusa. Brzo se apsorbira iz gastrointestinalnog sustava, a oralna bioraspoloživost iznosi 21 %. Hrana može usporiti, ali ne i smanjiti apsorpciju lijeka (60,61). Za proteine plazme se veže oko 90 %, neovisno o koncentraciji u plazmi. Panobinostat je supstrat P-glikoproteina. Intenzivno se metabolizira redukcijom, oksidacijom, hidrolizom i glukuronidacijom. Glavni enzim u metabolizmu je CYP3A4, a manje su važni CYP2D6 i CYP2C19. Lijekovi CYP3A4 inhibitori mogu povećati, a lijekovi CYP3A4 induktori smanjiti koncentraciju panobinostata te je u tom slučaju potrebna prilagodba doze lijeka (62).

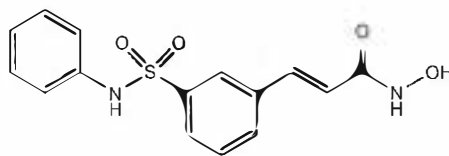
Lijek se izlučuje iz organizma uglavnom fecesom, u manjoj mjeri renalno. Uglavnom se eliminira u obliku metabolita, dok se u malom postotku izlučuje nepromijenjen (manje od 2,5 %). Vrijeme poluživota je 30 sati (61).

Česte nuspojave uključuju mučninu, povraćanje i dijareju. Mogu se razviti lokalne ili sistemske infekcije, bakterijskog, gljivičnog ili virusnog podrijetla te pojaviti krvarenje. Ostale ozbiljne nuspojave su mijelosupresija, kardiotsičnost i hepatotsičnost. Prije početka i tijekom liječenja potrebno je kontrolirati krvnu sliku, odnosno broj trombocita i neutrofila. Kardiotsični učinci najčešće uključuju produženje WQTc intervala, što je vidljivo na elektrokardiogramu. Lijek oštećuje plod te se ne bi trebao uzimati za vrijeme trudnoće. Ne postoje informacije da li se izlučuje u majčino mlijeko pa se ne preporuča korištenje za vrijeme dojenja (60).

Panobinostat je za sada jedini registrirani HDAC inhibitor u Republici Hrvatskoj. U kombinaciji s borteomibom i deksametazonom, indiciran je za liječenje odraslih bolesnika s recidivirajućim i/ili refraktornim multiplim mijelomom koji su primili najmanje dva prethodna režima uključujući borteomib i imunomodulator (63).

Belinostat

Prema kemijskoj strukturi belinostat je (2*E*)-*N*-hidroksi-3-[3-(fenilsulfamoil)fenil]prop-2-enamid (slika 5.). Fenil sa sulfonamidom (polarna vezujuća jedinica) čini *cap* grupu. Hidrofobni lanac je kratak: sastoji se od fenila te dvostruke veze. Hidroksamska kiselina ima ponovno ulogu kelirajuće skupine. Valja primijetiti sličnost dijela molekule belinostata (hidrofobni lanac i kelirajuća skupina) s molekulom panobinostata (39).



Slika 5. ► Struktura belinostata

Belinostat inhibira HDAC enzime skupina I, II i IV (pan-inhibitor). Uzrokuje povećanu akumulaciju acetiliranih histona što ima sljedeće učinke: povećana ekspresija epigenetički utišanih tumor-supresorskih gena (TGF- β receptor II), utištava se ekspresija survivina (protein uključen u mitozu, s antiapoptotskim učinkom) te konačno dovodi do zaustavljanja staničnog ciklusa i apoptoze (64).

Belinostat je indiciran za liječenje relapsirajućeg ili refraktornog perifernog limfoma T-stanica. Ova indikacija odobrena je ubrzanim postupkom. Lijek se primjenjuje intravenskom infuzijom jednom dnevno u dozi 1 mg/m², kroz 30 minuta, od prvog do petog dana 21-dnevnog ciklusa. Ciklus se može ponoviti svaki 21 dan sve dok se ne uoči napredovanje bolesti ili neprihvatljiva toksičnost (65).

Belinostat ima ograničen volumen raspodjele u organizmu, a više od 90 % lijeka je vezano za proteine plazme. Belinostat je supstrat P-glikoproteina, međutim ne inhibira ga. Metabolizam je pretežito hepatski, prvenstveno glukuronidizacijom preko enzima UGT1A1. Također se metabolizira preko enzima CYP2A6, CYP2C9 i CYP3A4, a produkti su odgovarajući amid i kiselina. Enzimi putem kojih nastaju metaboliti metilbelinostat i 3-(anilinosulfonil)-benzenkarboksilna kiselina (3-ASBA) zasada nisu poznati. Belinostat i njegovi metaboliti inhibiraju enzime CYP2C8 i CYP2C. Izlučuju se urinom, s tek 2 % nemetaboliziranog lijeka (65,66).

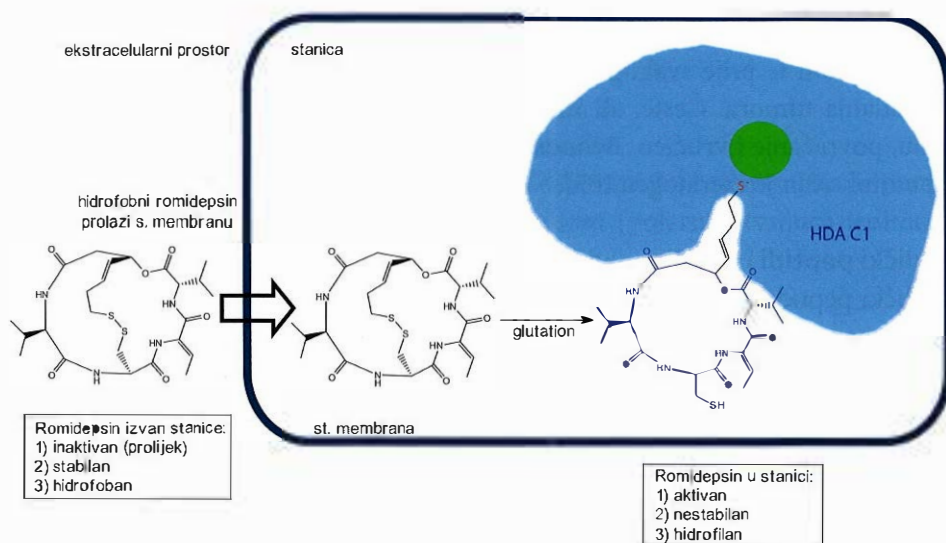
Belinostat može uzrokovati ozbiljne nuspojave. Od hematoloških, česte su trombocitopenija, leukopenija i anemija zbog čega je potrebno kontrolirati broj krvnih stanica na tjednoj bazi te, prema potrebi, prilagoditi dozu lijeka. Tijekom terapije belinostatom zabilježene su opasne, a ponekad i fatalne infekcije poput pneumonije ili sepse te se lijek ne bi trebao primjenjivati pacijentima s aktivnom infekcijom. Zabilježena je i fatalna hepatotoksičnost te abnormalnosti u rezultatima jetrenih testova. Potrebno je napraviti jetrene testove prije početka terapije belinostatom te prije svakog 21-dnevnog ciklusa. Moguća je pojava sindroma raspadanja tumora. Česte, ali manje opasne nuspojave uključuju umor, mučninu, povraćanje i vrućicu. Belinostat je u kategoriji D za primjenu u trudnoći. Gentotoksičan je i teratogen (65).

Ciklički peptidi i ostali makrocikli

Ciklički peptidi se u literaturi spominju kao ciklički tetrapeptidi, budući da do sada poznati spojevi sadrže u strukturi četiri peptidne jedinice povezane u prsten. Često se susreće i termin depsi-peptidi koji se odnosi na peptide prirodnog ili sintetskog podrijetla u kojima je jedna ili više amidnih skupina zamijenjena esterskom (67). Depsi-peptide možemo smatrati podskupinom cikličkih peptida. Makrociklima općenito smatramo prstenove koji sadrže 12 ili više atoma (68), a upravo su takvih veličina ciklički peptidi ove skupine. Skupina cikličkih peptida strukturno je najsloženija. Može se reći da spojevi iz ove skupine slijede opću strukturnu formulu HDAC inhibitora. Ciklički tetrapeptid, depsi-peptid ili makrocikl imaju ulogu *cap*-grupe. Poveznice su različite varijante alkilnih lanaca. Cink-vezujuće skupine su veoma raznolike (hidroksamska kiselina, karboksilna kiselina, tiol, keton i druge skupine). Spojevi iz ove skupine su snažni inhibitori HDAC te su selektivni prema grupi I HDAC enzima (35). Najpoznatiji i jedini registrirani predstavnik je romidepsin.

Romidepsin

Romidepsin je prirodni produkt, izoliran iz bakterije *Chromobacterium violaceum* (69). Pripada skupini depsiheptida. U odnosu na ostale HDAC inhibitore, karakterizira ga kompleksnija struktura: građen je od bicikličkog prstenastog sustava (70). Romidepsin je prolijeak. Izvan stanice nalazi se u oksidiranom obliku, a u strukturi sadrži disulfidnu vezu. Takav romidepsin je stabilan, ali i hidrofovan što mu omogućava prelazak stanične membrane. Unutar stanice romidepsin se djelovanjem glutathiona reducira te nastaju slobodne tiolne skupine. Tiolna skupina koja je preko kratkog ugljikovodičnog lanca s dvostrukom vezom (poveznica) vezana na ciklički prsten ima sposobnost keliranja iona cinka u aktivnom mjestu HDAC. Ciklički sustav djeluje kao *cap*-grupa (slika 6.). Aktivirani romidepsin je nestabilan te hidrofilan. Nestabilnost se posebno očituje u mogućnosti metiliranja slobodnih tiolnih skupina i gubitku aktivnosti (71).



Slika 6. ► Ulazak romidepsina u stanicu, aktivacija unutarstaničnim glutatonom i inhibicija HDAC1 (modificirano prema 71)

U liječenju limfoma T-stanica romidepsin se primjenjuje intravenski u dozi 14 mg/m², kroz četiri sata, prvi, osmi i petnaesti dan 28-dnevnog ciklusa. Romidepsin se jako veže za proteine plazme, uglavnom za α1-kiseli-glikoprotein. Intenzivno se metabolizira preko enzima CYP3A4, u manjoj mjeri preko CYP3A5, CYP1A1, CYP2B6 i CYP2C19. U terapijskoj dozi romidepsin ne inhibira CYP

enzime. Poluvrijeme života ovoga lijek je 3 h. Istraživanja su pokazala da spol, dob ili rasa nemaju utjecaja na farmakokinetiku lijeka (72).

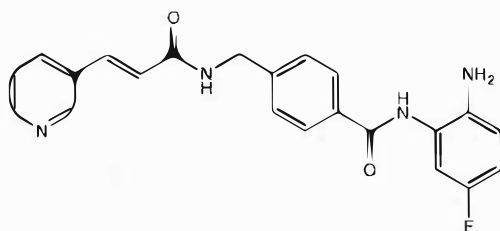
Uobičajene nuspojave uključuju mučninu, povraćanje, dijareju, umor, gubitak apetita. Od ozbiljnijih nuspojava moguće su trombocitopenija, leukopenija i anemija te promjene T-vala i ST-segmenta na elektrokardiogramu. Iako nema odgovarajućih studija, ne preporuča se primjena ovog lijeka u trudnoći (73).

Orto-aminoanilidi

Ova skupina HDAC inhibitora u strukturi sadrži motiv benzenske jezgre s neposredno vezanom amidnom skupinom te amino skupinom u *orto*-položaju. U literaturi se često susreće i termin benzamidi koje možemo smatrati podskupinom *orto*-aminoanilida. Benzamidi, uz *orto*-aminoanilidni motiv, sadrže benzen kao poveznicu amidne skupine s ostatkom molekule (35,39). Upravo su atomi dušika iz amidne, odnosno amino skupine odgovorni za keliranje iona cinka u aktivnom mjestu HDAC. S druge strane, slobodna amino skupina u strukturi zaslužna je za potencijalnu *in vivo* toksičnost ovih spojeva (74).

Pokazuju selektivnost prema skupini 1 HDAC što smanjuje neželjene učinke. Negativna strana visoke selektivnosti je sposobnost stanica tumora da razviju rezistenciju što predstavlja problem prilikom dugotrajne terapije. Dodatni nedostatak ovih inhibitora je skroman terapijski učinak u kliničkim ispitivanjima, zbog čega je samo jedan *orto*-aminoanilid, pod nazivom kidamid (slika 7.), odobren za uporabu u Kini, za liječenje relapsirajućeg ili perzistentnog perifernog limfoma T-satnica (40,75).

Slika 7. ► Struktura kidamida



Zaključak

Maligne bolesti su, prema mnogim autorima, posljednje neizlječive bolesti. Postoje brojne skupine antitumorskih lijekova, od klasičnih citostatika do novih, »pametnih« lijekova, koji pokazuju određenu selektivnost prema tumorskim stanicama. Unatoč tome, maligne bolesti još uvijek nisu potpuno

kontrolirane te i dalje predstavljaju terapijske izazove za budućnost. Zbog prethodnog, istraživanje patofizioloških mehanizama nastanka tumora i unaprjeđenje terapijskih mogućnosti temeljni su ciljevi suvremene biomedicine. Otkriće kako su epigenetičke modifikacije bitne u procesu nastanka tumora jednako kao i mutacije gena, omogućilo je razvoj nove skupine citostatika – inhibitora HDAC enzima. Proučavanje i razvijanje ove skupine lijekova do sada je rezultiralo s pet registriranih lijekova iz tri kemijske skupine: hidroksamske kiseline (vorinostat, panobinostat, belinostat), ciklički peptidi (romidepsin) i *orto*-aminoanilidi (kidamid). Brojne molekule sa svojstvom inhibicije HDAC enzima u različitim su fazama ispitivanja, od prekliničkih do kliničkih, te će se zasigurno neka od tih molekula u budućnosti pojaviti na tržištu kao novi lijek.

4-5
2020

Histone deacetylase inhibitors as antitumour drugs

G. Poje, Z. Rajić

Abstract Histone deacetylases (HDACs) catalyze the removal of the acetyl group from an ϵ -N-acetyl lysine on a histone, resulting in a more tight DNA structure. In this way, they affect chromatin structure and gene expression. They catalyze the same reaction on some non-histone proteins. Inhibition of overexpressed HDACs in tumour cells results in cell cycle arrest, induction of apoptosis, inhibition of angiogenesis and regulation of cellular signaling pathways in a survival-negative manner. Out of 4 known HDAC classes, classes I, II and IV are zinc-dependent enzymes, while class III is NAD^+ dependent. All known HDACs inhibitors contain zinc-binding group, responsible for complexation of Zn^{2+} from the enzyme's active site. Other main structural features include *cap* group and the linker. With respect to the zinc-binding group, inhibitors can be divided into hydroxamic acids (the most pronounced ability to chelate Zn^{2+}), carboxylic acids, cyclic peptides, and *o*-aminoanilides. Up to date, five HDACs inhibitors have reached the market: vorinostat, belinostat, and panobinostat (hydroxamic acids), romidepsin (cyclic peptide) and chidamide (*o*-aminoanilide). They are used in the therapy of T-cell lymphomas and multiple myeloma.

1. Skinner MK, Manikkam M, Guerrero-Bosagna C. Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology. *Trends Endocrinol Metab.* 2010; 21:214–222.
2. Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res.* 2011; 21:381–395.
3. Handy ED, Castro R, Loscalzo J. Epigenetic Modifications: Basic Mechanisms and Role in Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2011; 123:2145–2156.
4. Zhang J, Zhong Q. Histone deacetylase inhibitors and cell death. *Cell. Mol. Life Sci.* 2014; 71:3885–3901.
5. Cooper MG, Hausman FR. Stanica. 3. ed. Zagreb: Medicinska naklada, 2004.
6. Grunstein M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature.* 1997; 389:349–352.
7. Muraoka M, Konishi M, Kikuchi Yanoshita R, Tanaka K, Shitara N, Chong JM, Iwama T, Miyaki M. p300 gene alterations in colorectal and gastric carcinomas. *Oncogene.* 1996; 12:1565–1569.
8. Seto E, Yoshida M. Erasers of Histone Acetylation: The Histone Deacetylase Enzymes. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014; 6:18713–1839.
9. Glozak MA, Sengupta N, Zhang X and Seto E. Acetylation and deacetylation of non-histone proteins. *Gene.* 2005; 363:15–23.
10. De Ruijter AJ, van Gennip AH, Caron HN, Kemp S, van Kuilenburg AB. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem J.* 2003; 370:737–749.
11. Tang J, Yan H, Zhuang S. Histone deacetylases as targets for treatment of multiple diseases. *Clin. Sci.* 2013; 124:651–662.
12. Blander G, Guarente L. The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu Rev Biochem.* 2004; 73:417–435.
13. Eckschlager T, Plch J, Stiborova M, Hrabeta J. Histone Deacetylase Inhibitors as Anticancer Drugs. *Int J Mol Sci.* 2017; 18:1414–1439.
14. Paik PK, Krug LM. Histone Deacetylase Inhibitors in Malignant Pleural Mesothelioma: Preclinical Rationale and Clinical Trials. *J Thorac Oncol.* 2010; 5:275–279.
15. Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics: From mechanism to therapy. *Cell.* 2012; 150:12–27.
16. Richon VM, Sandhoff TW, Rifkind RA, Marks PA. Histone deacetylase inhibitor selectively induces p21WAF1 expression and gene-associated histone acetylation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000; 97:10014–10019.
17. Schneider-Stock R, Ocker M. Epigenetic therapy in cancer: molecular background and clinical development of histone deacetylase and DNA methyltransferase inhibitors. *IDrugs.* 2007; 10:557–561.

18. Miller CP, Singh MM, Rivera-Del Valle N, Manton CA, Chandra J. Therapeutic strategies to enhance the anticancer efficacy of histone deacetylase inhibitors. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011; 514261–514278.
19. Fulda S. Modulation of TRAIL-induced apoptosis by HDAC inhibitors. *Curr. Cancer Drug Targets.* 2008; 8:132–140.
20. Kwon SH, Ahn SH, Kim YK, Bae GU, Yoon JW, Hong S, Lee HY, Lee YW, Lee HW, Han JW. Apicidin, a Histone Deacetylase Inhibitor, induces apoptosis and Fas/Fas ligand expression in human acute promyelocytic leukemia cells. *J. Biol. Chem.* 2002; 277:2073–2080.
21. Vrana JA, Decker RH, Johnson CR, Wang Z, Jarvis WD, Richon VM, Ehinger M, Fisher PB, Grant S. Induction of apoptosis in U937 human leukemia cells by suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) proceeds through pathways that are regulated by Bcl-2/Bcl-XL, c-Jun, and p21CIP1, but independent of p53. *Oncogene.* 1999; 18:7016–7025.
22. Yuan PX, Huang LD, Jiang YM, Gutkind JS, Manji HK, Chen G. The Mood Stabilizer Valproic Acid Activates Mitogen-activated Protein Kinases and Promotes Neurite Growth. *J. Biol. Chem.* 2001; 276:31674–31683.
23. Zupkovitz G, Tischler J, Posch M, Sadzak I, Ramsauer K, Egger G, Grausenburger R, Schweifer N, Chiocca S, Decker T, Seiser C. Negative and positive regulation of gene expression by mouse histone deacetylase 1. *Mol. Cell Biol.* 2006; 26:7913–7928.
24. Jeong JW, Bae MK, Ahn MY, Kim SH, Sohn TK, Bae MH, Yoo MA, Song EJ, Lee KJ, Kim KW. Regulation and destabilization of HIF-1 by ARD1-mediated acetylation. *Cell.* 2002; 111:709–720.
25. Deroanne CF, Bonjean K, Servotte S, Devy L, Colige A, Clausse N, Blacher S, Verdin E, Foidart JM, Nusgens BV, Castronovo V. Histone deacetylases inhibitors as anti-angiogenic agents altering vascular endothelial growth factor signaling. *Oncogene.* 2002; 21:427–436.
26. Rössig L, Li H, Fisslthaler B, Urbich C, Fleming I, Förstermann U, Zeiher AM, Dimmeler S. Inhibitors of histone deacetylation downregulate the expression of endothelial nitric oxide synthase and compromise endothelial cell function in vasorelaxation and angiogenesis. *Circ. Res.* 2002; 91:837–844.
27. Brest P, Lassalle S, Hofman V, Bordone O, Tanga VG, Bonnetaud C, Moreilhon C, Rios G, Santini J, Barbry P, Svanborg C, Mograbi B, Mari B, Hofman P. MiR-129–5p is required for histone deacetylase inhibitor-induced cell death in thyroid cancer cells. *Endocr. Relat. Cancer.* 2011; 18:711–719.
28. Noonan EJ, Place RF, Pookot D, Basak S, Whitson JM, Hirata H, Giardina C, Dahiya R. miR-449a targets HDAC-1 and induces growth arrest in prostate cancer. *Oncogene.* 2009; 28:1714–1724.
29. Woan KV, Lienlaf M, Perez-Villaroel P, Lee C, Cheng F, Knox T, Woods DM, Barrios K, Powers J, Sahakian E, Wang HW, Canales J, Marante D, Smalley KSM, Bergman J, Seto E, Kozikowski A, Pinilla-Ibarz J, Sarnaik A, Celis E, Weber J, Sotomayor EM, Villagra

- A. Targeting histone deacetylase 6 mediates a dual anti-melanoma effect: Enhanced antitumor immunity and impaired cell proliferation. *Mol. Oncol.* 2015; 9:1447–1457.
30. Gameiro SR, Malamas AS, Tsang KY, Ferrone S, Hodge JW. Inhibitors of histone deacetylase 1 reverse the immune evasion phenotype to enhance T-cell mediated lysis of prostate and breast carcinoma cells. *Oncotarget.* 2016; 7:7390–7402.
31. Yoshida M, Kijima M, Akita M, Beppu T. Potent and specific inhibition of mammalian histone deacetylase both in vivo and in vitro by trichostatin A. *J. Biol. Chem.* 1990; 265:17174–17179.
32. Johnstone RW. Histone deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer. *Nat. Rev. Drug Discovery.* 2002; 1:287–299.
33. Finnin MS, Donigian JR, Cohen A et al. Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. *Nature.* 1999; 401:188–193.
34. Marks PA, Breslow R. Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug. *Nat Biotechnol.* 2007; 25:84–90.
35. Mai A. The therapeutic uses of chromatin-modifying agents. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2007; 11:835–851.
36. Wagner FF, Weiwer M, Lewis MC, Holson EB. Small Molecule Inhibitors of Zinc-dependent Histone Deacetylases. *Neurotherapeutics.* 2013; 10:589–604.
37. Rosenberg G. The mechanisms of action of valproate in neuropsychiatric disorders: can we see the forest for the trees? *Cell Mol Life Sci.* 2007; 64:2090–2103.
38. <https://www.fda.gov/>, datum pristupa: 25.6.2019.
39. Miller TA, Witter DJ, Belvedere S. Histone deacetylase inhibitors. *J. Med. Chem.* 2003; 46:5097–5116.
40. Zhang L, Zhang J, Jiang Q, Zhang Li, Song W. Zinc binding groups for histone deacetylase inhibitors, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry.* 2018; 33:714–721.
41. Kazantsev AG, Thompson LM. Therapeutic application of histone deacetylase inhibitors for central nervous system disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 2008; 7:854–868.
42. Ginsel C, Plitzko B, Froriep D, Stofa DA, Jung M, Kubitz C, Scheidig AJ, Havemeyer A, Clement B. The Involvement of the Mitochondrial Amidoxime Reducing Component (mARC) in the Reductive Metabolism of Hydroxamic Acids. *Drug Metab. Dispos.* 2018; 46:1396–1402.
43. Glaser KB, Staver MJ, Waring JF, Stender J, Ulrich RG, Davidsen SK. Gene expression profiling of multiple histone deacetylase (HDAC) inhibitors: defining a common gene set produced by HDAC inhibition in T24 and MDA carcinoma cell lines. *Mol Cancer Ther.* 2003; 2:151–163.
44. Marks P, Rifkind RA, Richon VM, Breslow R, Miller T, Kelly WK. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nat Rev Cancer.* 2001; 1:194–202.
45. Bali P, Pranpat M, Bradner J, Balasis M, Fiskus W, Guo F, Rocha K, Kumaraswamy S, Boyapalle S, Atadja P, Seto E, Bhalla K. Inhibition of histone deacetylase 6 acetylates

- and disrupts the chaperone function of heat shock protein 90: a novel basis of antileukemia activity of histone deacetylase inhibitors. *J Biol Chem.* 2005; 280:26729–26734.
46. Warren R, Beamish H, Burgess A, Waterhouse NJ, Giles N, Fairlie D, Gabrielli B. Tumor cell-selective cytotoxicity by targeting cell cycle checkpoints. *FASEB J.* 2003; 17:1550–1552.
47. Kelly WK, O'Connor OA, Krug LM, Chiao JH, Heaney M, Curley T, MacGregor-Cortelli B, Tong W, Secrist JP, Schwartz L, Richardson S, Chu E, Olga S, Marks PA, Scher H, Richon VM. Phase I study of an oral histone deacetylase inhibitor, suberoylanilide hydroxamic acid, in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol.* 2005; 23:3923–31.
48. Perera MA, Innocenti F, Ratain MJ. Pharmacogenetic testing for uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1 polymorphisms: Are we there yet? *Pharmacotherapy.* 2008; 28:755–768.
49. Mann BS, Johnson JR, Cohen MH, Justice R, Pazdur R. FDA approval summary: Vorinostat for treatment of advanced primary cutaneous T-cell lymphoma. *Oncologist.* 2007; 12:1247–1252.
50. O'Connor OA, Heaney ML, Schwartz L, Richardson S, Willim R, MacGregor-Cortelli B, et al. Clinical experience with intravenous and oral formulations of the novel histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid in patients with advanced hematologic malignancies. *J Clin Oncol.* 2006; 24:166–173.
51. Duvic M, Talpur R, Ni X, Zhang C, Hazarika P, Kelly C, Chiao JH, Reilly JF, Ricker JL, Richon VM, Frankel Z. Phase II trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) for refractory cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *Blood.* 2007; 109:31–39.
52. Vorinostat (Zolinza) for cutaneous T-cell lymphoma. *Med Lett Drugs Ther.* 2007; 49:23–24.
53. Wise LD, Turner KJ, Kerr JS. Assessment of developmental toxicity of vorinostat, a histone deacetylase inhibitor, in Sprague-Dawley rats and Dutch Belted rabbits. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2007; 80:57–68.
54. Liu L, Hudgins WR, Shack S, Yin MQ, Samid D. Cinnamic acid: A natural product with potential use in cancer intervention. *Int J Cancer.* 1995; 62:345–350.
55. Richardson PG, Laubach JP, Lonial S, et al. Panobinostat: a novel pan-deacetylase inhibitor for the treatment of relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2015; 15:737–748.
56. Atadja P. Development of the pan-DAC inhibitor panobinostat (LBH589): successes and challenges. *Cancer Lett.* 2009; 280:233–241.
57. Ropero S, Esteller M. The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer. *Mol Oncol.* 2007; 1:19–25.
58. De Bruyne E, Bos TJ, Asosingh K, et al. Epigenetic silencing of the tetraspanin CD9 during disease progression in multiple myeloma cells and correlation with survival. *Clin Cancer Res* 2008; 14:2918–2926.

59. Catley L, Weisberg E, Kiziltepe T, Tai YT, Hideshima T, Neri P, Tassone P, Atadja P, Chauhan D, Munshi NC, Anderson KC. Aggresome induction by proteasome inhibitor bortezomib and alpha-tubulin hyperacetylation by tubulin deacetylase (TDAC) inhibitor LBH589 are synergistic in myeloma cells. *Blood* 2006; 108:3441–3449.
60. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/205353s000lbl.pdf, datum pristupa: 6.7.2019.
61. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/farydak-epar-product-information_en.pdf, datum pristupa: 6.7.2019.
62. Van Veggel M, Westerman E, Hamberg P. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Panobinostat. *Clin Pharmacokinet.* 2018; 57:21–29.
63. <http://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Farydak/11815/>, datum pristupa: 6.7.2019.
64. Rashidi A, Cashen AF. Belinostat for the treatment of relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma. *Future Oncol.* 2015; 11:1659–1664.
65. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/206256lbl.pdf, datum pristupa: 25.11.2019.
66. Bailey H, McPherson JP, Bailey EB, Werner TL, Gupta S, Batten J, Reddy G, Bhat G, Sharma S, Agarwal N. A phase I study to determine the pharmacokinetics and urinary excretion of belinostat and metabolites in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2016; 78:1059–1071.
67. McNaught AD, Wilkinson A. *Compendium of Chemical Terminology*. 2. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997.
68. Yudin AK. Macrocycles: lessons from the distant past, recent developments, and future directions. *Chem. Sci.* 2015; 6:30–50.
69. Ueda H, Nakajima H, Hori Y, Fujita T, Nishimura M, Goto T, Okuhara M. FR901228, a novel antitumor bicyclic depsipeptide produced by *Chromobacterium violaceum* No. 968 I. Taxonomy, fermentation, isolation, physico-chemical and biological properties, and antitumor activity. *J. Antibiot.* 1993; 47:301–311.
70. Shigematsu N, Ueda H, Takase H, Tanaka H. FR901228, a novel antitumor bicyclic depsipeptide produced by *Chromobacterium violaceum* No. 968 II. Structure determination. *J. Antibiot.* 1993; 47:311–315.
71. Furumai R, Matsuyama A, Kobashi N, Lee KH, Nishiyama M, Nakajima H, Tanaka A, Komatsu Y, Nishino N, Yoshida M, Horinouchi S. FK228 (Depsipeptide) as a Natural Prodrug That Inhibits Class I Histone Deacetylases. *Cancer Res.* 2002; 62:4916–4921.
72. Jain S, Zain J. Romidepsin in the treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *J Blood Med.* 2011; 2:37–47.
73. <https://media.celgene.com/content/uploads/istodax-pi.pdf>, datum pristupa: 28.11.2019.

74. Verna L, Whysner J, Williams GM. 2-acetylaminofluorene mechanistic data and risk assessment: DNA reactivity, enhanced cell proliferation and tumor initiation. *Pharmacol Ther.* 1996; 71:83–105.
75. Ning ZQ, Li ZB, Newman MJ, Shan S, Wang XH, Pan DS, Zhang J, Dong M, Du X, Lu XP. Chidamide (CS055/HBI-8000): a new histone deacetylase inhibitor of the benzamide class with antitumor activity and the ability to enhance immune cell-mediated tumor cell cytotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2012; 69:901–909.

Primljeno: 5. prosinca 2019.