

***In Silico* Analysis of *Curcuma longa* Against PCAF Histon Asetiltransferase**

(Analisis *In Silico* *Curcuma longa* terhadap PCAF Histon Asetiltransferase)

Artha Vinsentricia¹, Djarot Sasongko Hami Seno¹, Maria Bintang¹

¹*Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia*

Received : 13 May 2015; Accepted: 18 August 2015

Corresponding author: Artha Vinsentricia, S.Pd, M.Si; Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; Telp/Fax. +62251-8423267; E-mail: keziaartha19@gmail.com

ABSTRACT

Curcumin turmeric (C. longa) has been found capable of inhibiting p300/CBP associated factor (PCAF) histone acetyltransferase (HAT) as a cancer biomarker. However, the molecular mechanism of inhibition is unknown. This study is aimed to analyse the molecular inhibition mechanisms by in silico method. The analysis showed that curcumin's Gibbs free energy (ΔG) was stable and capable of binding amino acid residues believed to be active site of PCAF HAT. Curcumin is predicted to be a PCAF HAT inhibitor, and further in vitro analysis is required.

Keywords: *Curcumin, Docking, In Silico, PCAF*

ABSTRAK

Kurkumin telah diketahui mampu menghambat histon asetiltransferase (HAT) yang merupakan biomarker kanker. Namun, mekanisme molekuler inhibisi terhadap PCAF HAT belum diketahui. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan analisis mekanisme molekuler inhibisi terhadap PCAF HAT secara in silico. Hasil analisis menyatakan kurkumin memiliki energi bebas gibs (ΔG) yang stabil dan mampu mengikat residu-residu asam amino yang diduga sebagai sisi aktif PCAF HAT. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kurkumin diprediksi mampu menjadi inhibitor PCAF HAT sehingga dapat menjadi pertimbangan untuk diteliti lebih lanjut secara in vitro.

Kata kunci: *Docking, In Silico, Kurkumin, PCAF*

1. PENDAHULUAN

Pada sel normal, HAT dan Histon deasetilasi (HDAC) berperan dalam proses fisiologi, siklus sel, *checkpoint* terhadap DNA

yang berbahaya, replikasi DNA, stabilitas kromosom (Eliseeva *et al.* 2007). HAT mengasetilasi lisin pada histon membentuk ϵ -N-lisin asetil yang merupakan daerah pengenalan

untuk faktor transkripsi (TF) penempelan pada DNA (Ott & Verdin 2010). Asetilasi lisin mengurangi perubahan yang bersifat positif terhadap dasar poli ekor histon, yang berakibat penurunan interaksi elektrostatis dengan DNA. Penurunan hubungan elektrostatis nukleosomal antara inti histon dan DNA menyebabkan kurangnya keamatan dalam pengemasan kromatin dan memfasilitasi dalam menghasilkan *co-regulator* serta kompleks RNA polimerase terhadap modifikasi lokus. Asetilasi p53 meningkat diakibatkan stress *in vivo* (Stern & Berger 2000).

Pada kanker dapat menyebabkan asetilasi yang tidak terkontrol yang mampu membuat gen berekspresi terlalu berlebihan sehingga gen yang seharusnya tidak aktif menjadi aktif atau berekspresi terlalu berlebihan sedangkan gen lain yang sudah diekspresikan menjadi ditekan (Fan-qi *et al.* 2013). Hal ini menginduksi proliferasi sel dan menggagalkan perbaikan DNA yang berbahaya, yang mampu menyebabkan kanker payudara, kolorektal, dan glioblastomas, sehingga HAT mampu menjadi biomarker kanker (Stern & Berger 2000). P53 adalah gen yang berfungsi sebagai penekan tumor dan mampu memicu apoptosis dalam keseimbangan sel (Salahshoor *et al.* 2013). P53 bertindak sebagai TF dengan mengikat p53-spesifik DNA yang dapat meningkatkan sintesis dan ekspresi dari Bax yang bertindak sebagai gen apoptosis atau p21 sebagai Cdk inhibitor (Kim *et al.* 2010). P21 akan mengikat dan menginaktifkan kompleks CDK4 mengakibatkan penghambatan fosforilasi Rb dan penghentian pelepasan faktor transkripsi E2F sehingga siklus sel berhenti pada tahap G1-S. DNA mampu memperbaiki diri sebelum

memasuki tahap pembelahan selanjutnya (Sa & Das 2008).

Dalam pengobatan kanker berbasis HAT telah banyak publikasi terkait senyawa-senyawa inhibitor HAT, diantaranya asam anakardik (Ghizzoni *et al.* 2010), isothiazolon (Stimson *et al.* 2005; Dekker *et al.* 2009), dan kurkumin (Balasubramanyam *et al.* 2004). Hasil penelitian menunjukkan dalam kinetika enzim (plot Lineweaver-Burk) kurkumin mampu menurunkan efisiensi pengikatan histon dan asetil KoA dan mampu menghambat inti histon PCAF HAT (Balasubramanyam *et al.* 2004). Namun, sejauh ini mekanisme inhibisi belum diketahui. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan analisis *in silico* sebagai awal usaha untuk mengetahui mekanisme molekulernya.

Mekanisme tersebut penting dalam tahapan perkembangan obat komersil. Senyawa yang diduga mampu menjadi obat komersil harus melalui dua tahap besar yaitu *biomarker discovery* dan *medicine systems*. Prediksi *in silico* perubahan molekuler dari suatu senyawa merupakan tahap kedua dari *medicine systems* setelah mencari berbagai literatur mengenai senyawa target obat (Mischak *et al.* 2015).

2. METODOLOGI

Pada preparasi struktur ligan (kurkumin), struktur kurkumin digambar secara manual menggunakan *marvin sketch* 6.0 dan disimpan dalam bentuk file.pdb untuk dilakukan penambahan hidrogen (eksplisit) dan hidrogen atom polar dengan menggunakan aplikasi *open bubble*. Struktur hasil *open bubble* diinput ke dalam aplikasi AutoDockVina 1.5.6 yang diikuti pemilihan menu *set number* pada menu *torsin tree* yang terdapat dalam menu

ligan. *Set number* tidak diperbolehkan melebihi dua puluh. Penambahan *compute gasteiger* terhadap kurkumin pada menu edit dan *charges*. Kurkumin disimpan dalam bentuk file *.pdbqt*. Bentuk file ini dianalisis *docking* terhadap makromolekul. Kurkumin dalam bentuk *.pdb* dianalisis dengan *Lipinski Rule of Five* dengan pemilihan pH 7 (Lipinski *et al.* 2001).

Untuk preparasi struktur makromolekul (PCAF HAT), struktur PCAF (kode 1CM0) diunduh dari *database Protein Data Bank* (PDB) dalam bentuk file *.pdb* pada situs *www.rcsb.org*. PCAF yang diunduh berbentuk kristal yang masih tertempel ligan KoA, sehingga dilakukan penghilangan ligan KoA dan rantai B PCAF melalui *discovery studio 3.5 client*. Hasilnya, diinput melalui aplikasi AutoDock Vina 1.5.6 untuk dilakukan penambahan hidrogen polar, *merge non polar*, *compute gasteiger* yang terdapat di dalam menu edit. Hasil akhir penambahan PCAF disimpan dalam bentuk *.pdbqt*. Bentuk file ini dianalisis *docking* terhadap ligan. Kurkumin dan PCAF disimpan dalam satu folder pada *disk C*. Cara yang serupa dilakukan untuk rantai B PCAF (Modifikasi Kumar *et al.* 2012).

Pada analisis *docking in silico*, kurkumin ditambahkan dengan PCAF menggunakan aplikasi AutoDock Vina 1.5.6. Menu grid dipilih untuk menentukan koordinat penambatan dan Grid Box. Penentuan koordinat dan penambatan Grid Box secara *blind* (koordinat penambatan (x,y,z) dan Grid Box (x,y,z) yang dihasilkan dapat dikontrol dan diubah-ubah hingga protein dan ligan tertutup). Koordinat penambatan yang dihasilkan berupa x=57.112, y=25.565, z=-0.611 Å dan ukuran Grid Box x=56, y=50, z=50 Å untuk rantai A PCAF dengan kurkumin.

Sementara, rantai B PCAF dengan kurkumin, koordinat penambatan x=-6.172, y=24.827, z=0.712 Å dan ukuran Grid Box x=46, y=46, z=44 Å. Angka tersebut dicatat dalam *conf* (seperangkat folder *docking*) dan di simpan. *Docking* dilakukan 100 kali (*exhaustiveness* =100 pada *conf*). Selanjutnya, perintah *docking* dengan membuka *cmd*, mengetik lokasi folder penyimpanan kurkumin dan protein, menarik vina ke dalam *cmd* dan menuliskan *--config conf.txt – log log.txt* dan *enter*. Kondisi dengan nilai ΔG yang semakin negatif, menghasilkan kespontanan reaksi yang semakin baik dan paling stabil. Interaksi dan jarak ikatan dianalisis menggunakan Ligplot⁺ 1.5.4 dengan radius interaksi kurang dari 5 Å dan hasilnya dibandingkan dengan data yang diunduh dari *uniprot.org* (Clements *et al.* 1999; Hodwadeker & Marmostein 2007).

3. HASIL

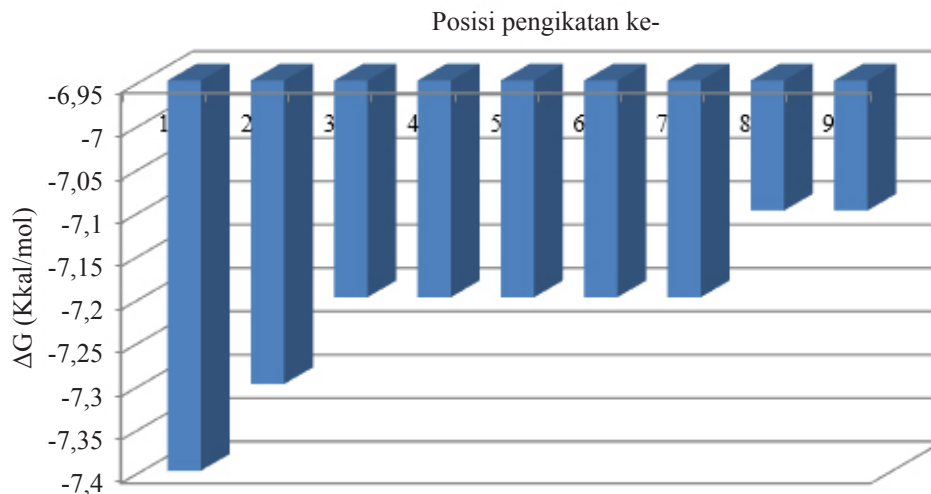
Berdasarkan hasil analisis Lipinski terhadap kurkumin diperoleh bobot massa (370 gram/mol), Log P (3.36), donor proton ikatan hidrogen (3), akseptor ikatan hidrogen (6), kebiasaan molar (105.97). Kondisi analisis tersebut menunjukkan senyawa memenuhi kaidah aturan Lipinski yang dapat diasumsikan mampu berdistribusi di dalam tubuh. Nilai ΔG yang negatif menunjukkan kestabilan interaksi antara ligan (kurkumin) dan protein (PCAF HAT). Hasil analisis ΔG *in silico* kurkumin dan PCAF rantai A (Gambar 1) menunjukkan nilai negatif dan berbeda-beda pada berbagai *mode* pengikatan.

Hasil visualisasi Ligplot⁺ 1.5.4 interaksi pengikatan pada nilai ΔG paling negatif (-7.4 kkal/mol) membawa pada dugaan lima residu

asam amino (Cys574, Asp610, Gly586, Tyr612, dan Val582) sebagai sisi aktif PCAF rantai A yang berinteraksi dengan kurkumin (Tabel 1 dan Gambar 2).

Hasil interaksi kurkumin dengan rantai B PCAF dapat dilihat pada Gambar 3, Tabel 2, dan

Gambar 4. Dari interaksi pengikatan diperoleh nilai ΔG paling negatif dan lebih rendah (-8.1 kkal/mol) dibandingkan dengan ΔG kurkumin terhadap rantai A PCAF. Selain itu terdapat perbedaan asam amino yang diduga terlibat dalam interaksi molekuler (Tabel 3).



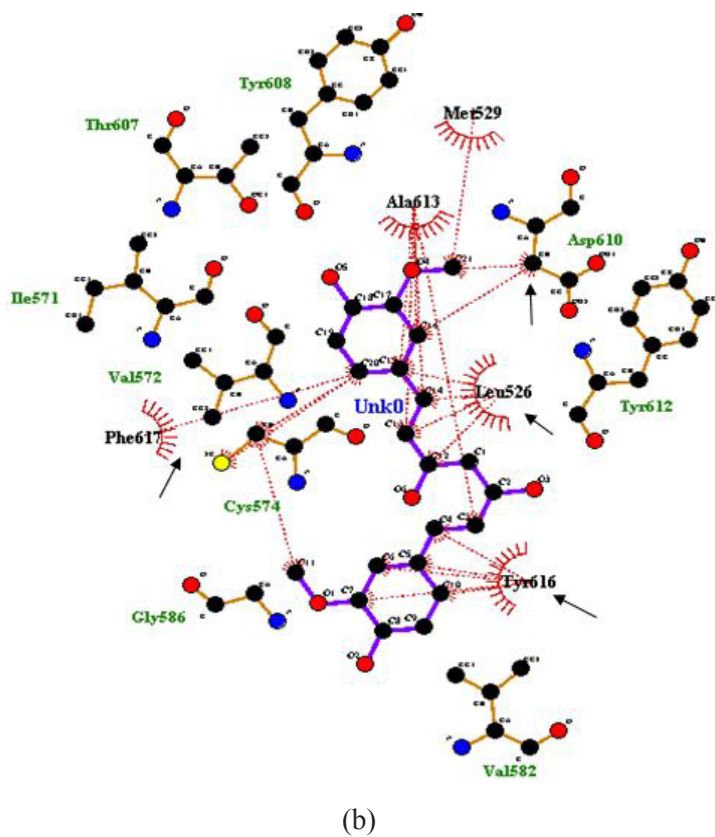
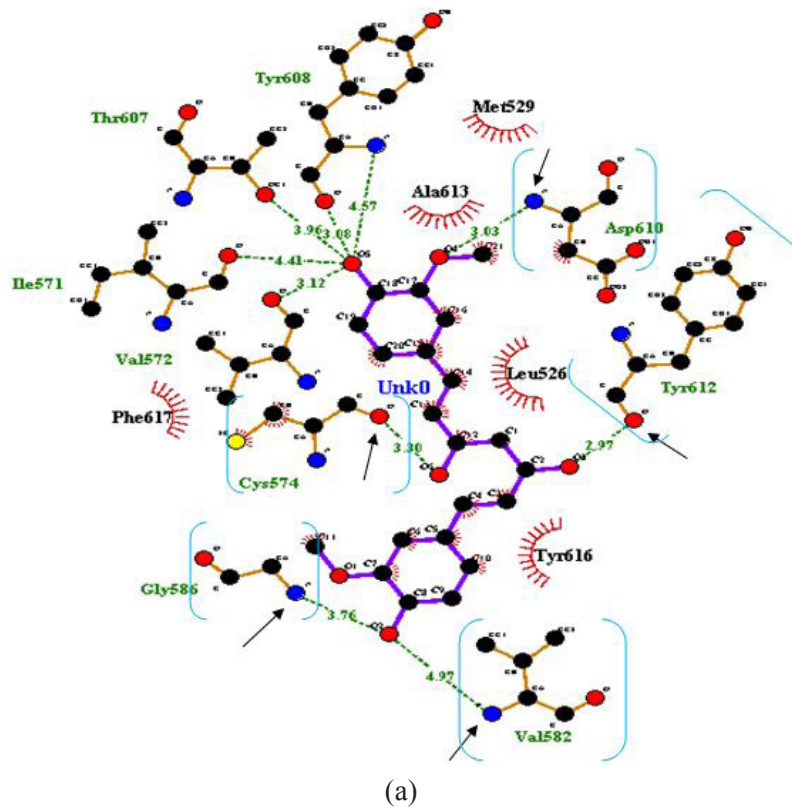
Gambar 1 Afinitas energi (ΔG) kurkumin terhadap rantai A PCAF

Tabel 1 Interaksi yang terjadi di sekitar ligan terhadap rantai A PCAF pada radius <math><5\text{\AA}</math>

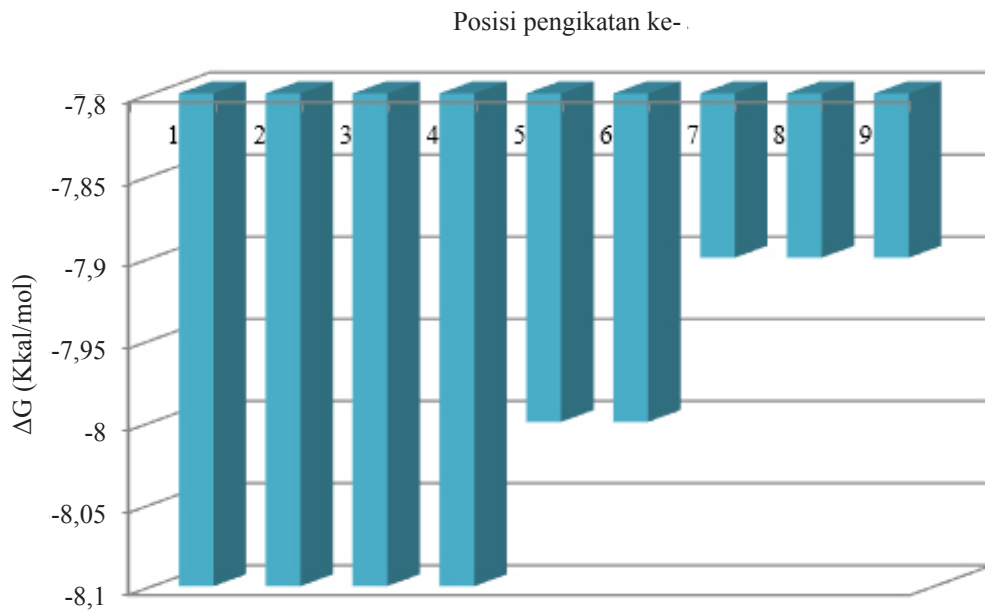
Struktur kurkumin ke-	Jarak ikatan hidrogen residu pendugaan sisi aktif (\AA)	Residu pendugaan sisi aktif (ikatan hidrogen)	Residu pendugaan sisi aktif (ikatan hidrofobik)
Rantai A	3.30	Cys574	Leu526, Asp610, Tyr616, Phe617
	3.03	Asp610	
	3.76	Gly586	
	2.97	Tyr612	
	4.97	Val582	

Tabel 2 Interaksi yang terjadi di sekitar ligan terhadap rantai B PCAF pada radius <math><5\text{\AA}</math>

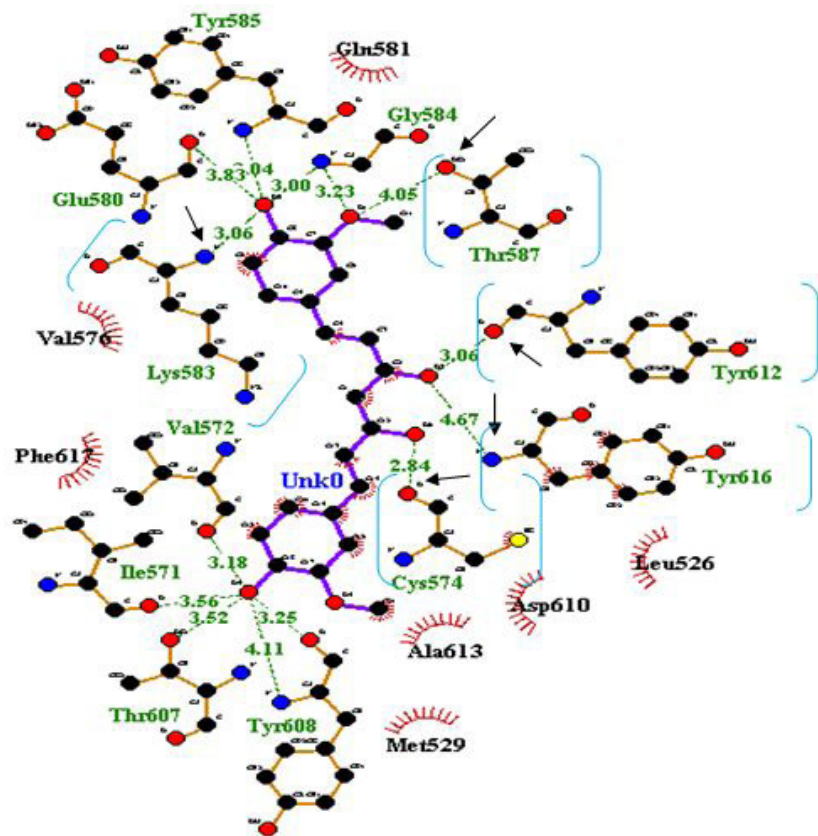
Struktur kurkumin ke-	Jarak ikatan hidrogen residu pendugaan sisi aktif (\AA)	Residu pendugaan sisi aktif (ikatan hidrogen)	Residu pendugaan sisi aktif (ikatan hidrofobik)
Rantai B	4.05	Thr587	Asp610, Val 576
	3.06	Tyr612	
	4.67	Tyr616	
	2.84	Cys574	
	3.06	Lys583	



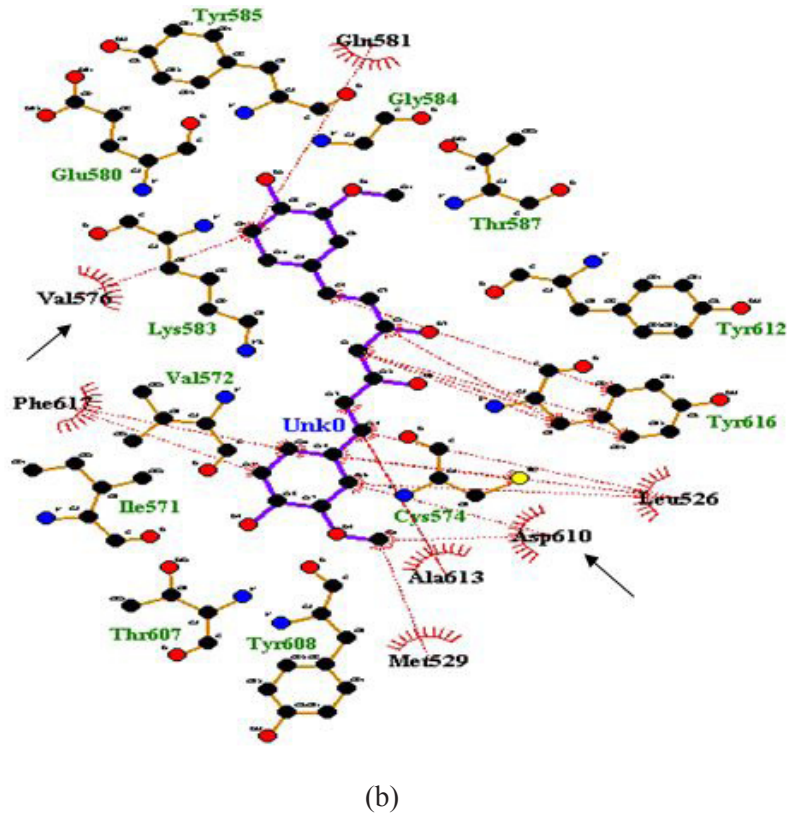
Gambar 2 *Docking* kurkumin terhadap rantai A PCAF. (a = ikatan hidrogen, b = ikatan hidrofobik. Tanda anak panah merupakan pendugaan residu asam amino sebagai sisi aktif PCAF rantai A)



Gambar 3 Afinitas energi (ΔG) kurkumin terhadap rantai B PCAF KoA kompleks



(a)



Gambar 4 *Docking* kurkumin terhadap rantai B PCAF. (a = ikatan hidrogen, b = ikatan hidrofobik. Tanda anak panah merupakan pendugaan residu asam amino sebagai sisi aktif PCAF rantai B)

Tabel 3 Perbedaan interaksi pengikatan residu asam amino antara PCAF rantai A dan B terhadap kurkumin

Pengikatan kurkumin	Residu pendugaan sisi aktif (ikatan hidrogen)	Residu pendugaan sisi aktif (ikatan hidrofobik)	Nilai ΔG (kkal/mol)
PCAF rantai A	Cys574 Asp610 Gly586 Tyr612 Val582	Leu526, Tyr616, Phe617, Asp610	-7.4
PCAF rantai B	Thr587 Tyr612 Tyr616 Cys574 Lys583	Asp610, Val 576	-8.1

4. PEMBAHASAN

Analisis secara *in silico* yang dilakukan harus mengikuti kaidah Lipinski yang mengatur mekanisme senyawa yang dapat berinteraksi secara aktif dengan target (Lipinski *et al.* 2001).

Senyawa yang diberikan kepada pasien sebagai terapi obat, akan masuk ke dalam tubuh melalui beberapa tahapan yaitu: absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan keamanan di dalam tubuh. Mekanisme ini dikenal dengan istilah farmakokinetika (Zhang & Wilkinson 2007).

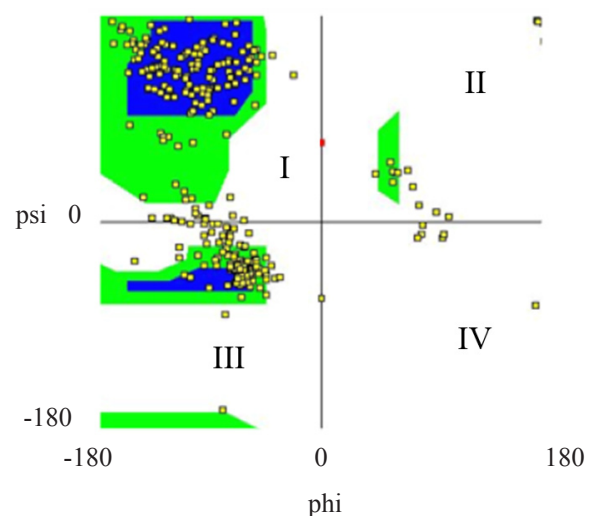
Kaidah Lipinski merupakan bagian dari tahapan farmakokinetika mengenai identifikasi suatu molekul senyawa aktif terhadap kemungkinan aktivitas absorpsi di dalam tubuh (Gupta *et al.* 2013).

Kurkumin yang digunakan pada penelitian ini adalah kurkumin keto. Berat molekul (BM) dari kurkumin ini diindikasikan mampu melewati dinding saluran cerna ke pembuluh darah dengan cara menembus sel-sel dinding saluran cerna (Leeson & Springthorpe 2007). Log P (partisi) kurkumin (3.36) cukup baik dalam penyerapan di usus melalui difusi pasif, yakni pergerakan obat dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah, spontan, non selektif, dan akan berhenti ketika konsentrasi obat dan target mencapai konsentrasi yang sama, sehingga berperan baik pada aspek kinetik serta aksi obat yang tepat (Leeson & Springthorpe 2007). Tiga donor proton dan enam akseptor kurkumin membentuk konformasi yang stabil. Protein akan mengalami perubahan konformasi yang stabil jika banyak ikatan hidrogen yang terjadi antara ligan (inhibitor) dengan protein yang ditargetkan (Arwansyah 2014).

Kelayakan pemilihan enzim PCAF dapat dilihat dari plot Ramachandran (Gambar 5). Diagram Ramachandran mempunyai empat kuadran *most favoured regions* pada kuadran I, *additional allowed regions* pada kuadran II, *generously allowed regions* pada kuadran III, dan *disallowed regions* pada kuadran IV. Phi (Φ) menyatakan sumbu x, sedangkan psi (ψ) menyatakan sumbu y dari asam amino suatu struktur protein (Bosco & Brasseur 2005). PCAF bersifat stabil dan memiliki kualitas yang sangat baik. Hal ini terlihat dari presentase residu asam amino yang berada di kuadran I (*most favoured regions*) $\pm 65\%$, kuadran II (*additional allowed*

regions) $\pm 25\%$, kuadran III (*generously allowed regions*) $\pm 4\%$, kuadran IV (*disallowed regions*) $\pm 6\%$ yang sebagian besar berupa asam amino glisin. Asam amino glisin hanya memiliki rantai samping hidrogen, sehingga glisin memiliki efek sterik yang rendah terhadap asam amino yang lain dan mampu bergerak bebas. Semakin besar residu asam amino yang berada pada *most favored region* dan semakin rendah persentase residu pada *disallowed region* maka kualitas struktur semakin bagus dan stabil (Bosco & Brasseur 2005).

Pembandingan data dalam simulasi ini menggunakan penelitian dari Clements *et al.* (1999) dan Hodwadeker & Marmostein (2007). Sementara, ligan pembandingan yang komersial menurut *drugs bank* terhadap PCAF HAT belum ada (<http://www.drugbank.ca>). Namun, secara eksperimental sudah dilakukan analisis *in silico* mengenai penghambatan terhadap PCAF HAT menggunakan ligan asam anakardik (Ghizzoni *et al.* 2010) dengan aplikasi PLANTS v1.6. dan divisualisasikan dengan MOE 2008.10 dan Molegro Virtual Docker (MVD). Hasilnya,



Gambar 5 Plot Ramachandran PCAF (Bosco & Brasseur 2005)

asam anarkardik mampu mengikat lima residu yang diduga sebagai sisi aktif KoA terhadap PCAF (Val582, Lys583, Gly584, Gly586, dan Thr587). Sementara, isothiazolones (Dekker *et al.* 2009), mengikat tiga residu yang berbeda (Cys574, Gln581, dan Val576). Kedua hasil penelitian tersebut tidak menampilkan nilai ΔG , namun ternyata posisi pengikatan isothiazolones terhadap PCAF sesuai dengan posisi pengikatan dengan nilai ΔG terendah dari simulasi menggunakan Autodock Vina.

Hasil simulasi kami menunjukkan bahwa kurkumin mengikat lima residu asam amino (Cys574, Asp610, Gly586, Tyr612, dan Val582) pada rantai A, dan lima residu asam amino (Thr587, Tyr612, Tyr616, Cys574, Lys583) pada rantai B PCAF. Hasil *in silico* dari asam anakardik dan isothiazolones (Ghizzoni *et al.* 2010; Dekker *et al.* 2009) hanya menggunakan rantai B PCAF HAT saja yang diindikasikan bahwa rantai B memiliki kestabilan interaksi yang lebih baik antara ligan dan protein dibandingkan rantai A PCAF HAT (nilai ΔG yang lebih negatif). Analisis *in silico* dari kurkumin yang kami lakukan menunjukkan posisi pengikatan baik pada rantai A maupun B PCAF HAT sebagai penapisan awal dalam pertimbangan lebih lanjut.

Menurut Clements *et al.* (1999) dan Hodwadeker & Marmostein (2007), kurkumin seharusnya mengikat residu asam amino Glu570 yang mampu menghambat secara kompetitif dengan histon terhadap PCAF HAT. Namun, Glu570 memiliki peran yang sama dalam proses deprotonisasi histon dengan residu asam amino Asp610 baik pada rantai A maupun B. Kedua residu sama fungsinya dengan residu asam amino Val572, Tyr608, dan Ile571 sebagai sisi pengikatan histon terhadap PCAF HAT (substrat

lisin). Sementara, pendugaan penghambatan KoA terhadap PCAF HAT oleh kurkumin seharusnya mengikat pada residu asam amino Gln 525, Cys574, Ala575, Val576, Gln 581, Val582, Lys583, Gly584, Gly586, Thr587, Tyr612, Ala613, Gly615, Tyr616, Phe617. Ikatan hidrogen terjadi secara non kovalen antara atom hidrogen dengan atom elektronegatif. Jarak interaksi antara kurkumin terhadap residu asam amino juga berpengaruh, semakin dekat jarak interaksi ligan terhadap residu asam amino target, semakin kuat dan stabil. Sebaliknya, semakin jauh jarak interaksi kurkumin terhadap residu asam amino target, semakin lemah dan kurang stabil.

Pendugaan sisi aktif PCAF HAT rantai A, kurkumin menghasilkan pengikatan residu histon (Asp610) maupun KoA (Cys574, Tyr612, Val582, Gly586) dengan membentuk ikatan hidrogen. Hasil visualisasi ini bertipe dua dimensi yang hanya mampu menggambarkan dua bentuk ikatan yaitu ikatan hidrogen (ditunjukkan oleh garis hijau) dan ikatan hidrofobik (ditunjukkan oleh garis merah). Ikatan hidrogen (ikatan non kovalen) antara kurkumin dan PCAF terikat oleh atom oksigen (O_2) dan nitrogen (N_2). Ikatan ini menggambarkan stabilitas intrastruktur dalam molekulnya. Ikatan hidrofobik menghindari lingkungan cair dan cenderung berkelompok bersama-sama dalam struktur globular. Ikatan ini menyebabkan terjadinya pelipatan PCAF dan pembentukan membran sel. Ikatan ini menggambarkan interaksi kurkumin yang sangat larut lemak dengan lemak dari suatu sel membran.

Residu Cys574 mempunyai sisi pengikatan $\beta 5$ -loop- $\alpha 4$ PCAF HAT terhadap KoA dalam bentuk *pantetheine* yang berperan sebagai orientasi atom sulfidril dalam proses

transfer asetil. Kurkumin dan residu Leu526 yang terikat secara hidrofobik mampu mempengaruhi aktivitas koenzim A. Ala613, Leu526, Phe617, dan Tyr616 yang terikat dengan kurkumin secara hidrofobik mampu mengubah konformasi (kekuatan yang sangat lemah) dalam pengikatan sisi untaian β 4 PCAF HAT terhadap KoA dalam bentuk *pantetheine* (bentuk monomer yang merupakan hasil intermediet produksi KoA dalam tubuh) seperti terlihat pada Tabel 1 dan Gambar 2 (Clements *et al.* 1999).

Posisi pengikatan kurkumin terhadap rantai B PCAF HAT menghasilkan pengikatan residu pendugaan terhadap KoA saja. Residu Tyr616 yang terikat hidrogen dengan kurkumin mampu mengubah konformasi (kekuatan yang agak kuat) dalam pengikatan sisi untaian β 4 PCAF HAT terhadap KoA dalam bentuk *pantetheine*. Residu Cys574 juga dijumpai dalam pengikatan ini yang memiliki fungsi sama dengan PCAF rantai A. Residu Histon (Asp610) terikat secara hidrofobik dengan kurkumin yang diprediksi menghasilkan kekuatan yang sangat lemah dalam penghambatan Histon terhadap protein tersebut. Residu Val576 yang terikat secara hidrofobik dengan kurkumin tidak kuat dalam penghambatan sisi β 4 pada lengan *pantetheine* (Gambar 4).

Interaksi *in silico* kurkumin berindikasi menjadi ligan yang mampu menghambat pengikatan pada KoA, Histon, atau keduanya terhadap PCAF HAT kompleks (ΔG yang negatif). Hal itu terlihat dari residu yang mampu diikat oleh kurkumin dari masing-masing rantai PCAF. Oleh karena itu, kurkumin diprediksi berpotensi sebagai inhibitor komersial terhadap PCAF HAT yang layak menjadi pertimbangan untuk diteliti lebih lanjut secara *in vitro*.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Arwansyah. 2014. Molecular docking simulation of curcumin and its analogs as selective androgen receptor modulators (SARMs) on prostate cancer [Thesis]. Bogor: Bogor Agricultural Univ.
- Balasubramanyam K, Varier RA, Altaf M, Swaminathan V, Siddappa NB, Ranga U, Kundu TK. 2004. Curcumin, a novel p300/CREB-binding protein-specific unhibitor of acetyltransferase, represses the acetylation of histone/nonhistone proteins and histone acetyltransferase-dependent chromatin transcription. *J. Biol. Chem.* 279: 51163-51171.
- Bosco KH, Brasseur R. 2005. The Ramachandran plots of glycine and pre-proline. *BMC Struct Bio.* 5:1-14.
- Clements A, Rojas JR, Trievel RC, Wang L, Berger SL, Marmostein R. 1999. Crystal structure of the histone acetyltransferase domain of human PCAF transcriptional regulator bound to coenzyme A. *The EMBO J.* 18(13): 3521-3532.
- Dekker FJ, Ghizzoni M, Meer NVD, Wisastra R, Haisma HJ. 2009. Inhibition of the PCAF histone acetyl transferase and cell proliferation by isothiazolones. *Bioorg Med Chem.* DOI: 10.1016/j.bmc.2008.12.008.
- Eliseeva ED, Valkov V, Jung M, Jung MO. 2007. Characterization of novel inhibitors of histone acetyltransferases. *Molecular Cancer Therapeutics.* 6:2391-2398.
- Fan-qi Z, Shi-ming P, Li L, Li-bing M, Zhen-hua Z, Zhi-yuan Z, Niu H. 2013. Structure-based identification of drug-like inhibitors of p300 histone acetyltransferase. *Acta Pharmaceutica Sinica.* 48(5): 700-708.
- Ghizzoni M, Boltjes A, Graaf CD, Haisma HJ, Dekker FJ. 2010. Improved inhibition of the histone acetyltransferase PCAF by an anacardic acid derivative. *Bioorg Med Chem.* 18: 5826-5834.
- Gupta S, Kesarla R, Omri A. 2013. Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems. *ISRN Pharmaceutics.* DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/848043>.

- Hodawadekar SC, Marmostein R. 2007. Chemistry of acetyl transfer by histone modifying enzymes: structure, mechanism and implications for effector design. *Oncogene*. 26:5528-5540.
- Kim S, Kang H, Na H, Lee M. 2010. Trichostatin A enhances acetylation as well as protein stability of Era through induction of p300 protein. *Breast Cancer Research*. 12:1-8.
- Kumar R, Sanjuktha M, Singaravel R, Ramakrishnan S, Rajan JJS, Kumar S, Poornima M, Santiago TC, Alavandi SV. 2012. Molecular modelling and Docking studies on shrimp vitellogenin receptor and ligand target mediated delivery system. *International J Research in Drug Delivery*. 2(1): 11-14.
- Leeson PD, Springthorpe B. 2007. The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. *Nature Reviews*. 6:881-890. DOI: 10.1038/nrd2445.
- Lipinski CA, Lombardo F, Segawa T, Ko D. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. *Adv Drug Deliv Rev*. 46: 3-26.
- Mischak H, Delles C, Vlahou A, Vanholder R. 2015. Proteomic biomarkers in kidney disease: issues in development and implementation. *Nature Reviews Nephrology*. DOI: 10.1038/nrneph.2014.247.
- Ott M, Verdin E. 2010. HAT trick: p300, small molecule, inhibitor. *Previews: Chemistry and biology*.
- Sa G, Das T. 2008. Review: Anti cancer effects of curcumin: cycle of life and death. *Cell Division*. 3:14.
- Salahshoor M R, Jalili C, Shebanizadeh D, Khazaei M, Roshankhah S, Ghorbani R. 2013. The apoptotic effects of the p300 activator on breast cancer and lung fibroblast cell lines. *Middle East J Cancer*. 4(4): 163-173.
- Sterner DE, Berger SL. 2000. Acetylation of histones and transcription-related factors. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*. 64(2): 435-459.
- Stimson L, Rowlands MG, Newbatt YM, Smith NF, Raynaud FI, Rogers P, Bavetsias V, Gorsuch S, Jarman M, Bannister A. 2005. Isothiazolones as inhibitors of PCAF and p300 histone acetyltransferase activity. *Mol Cancer Ther*. 4(10): 1521-1532. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-05-0135.
- Zhang M, Wilkinson B. 2007. Drug discovery beyond the rule of five. *Current Opinion in Biotechnology*. 18:478-488. DOI: 10.1016/j.copbio.2007.10.005.