α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺含氟类似物的合成与白血病细胞 K562 抑制活性

陈衍炽 任玉杰*

(上海应用技术学院化学与环境工程学院 上海 201418)

摘要 以 *L*-谷氨酰胺为原料, 经氨基保护、缩合闭环、氨基脱保护得中间体 3-氨基-2,6-哌啶二酮盐酸盐(**4**), 另以不同的 2-甲基-硝基苯甲酸甲酯为原料, 经硝基还原、Balz-Schiemann 反应、硝化反应、溴化反应得一系列 2-溴甲基苯甲酸甲酯衍生物 **9a~9d** 和 **12a~12b**; **4** 与不同的 2-溴甲基苯甲酸甲酯衍生物在弱碱下反应得到了一系列新的 α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺含氟类似物 **10a~10d**, **13a~13b** 和 **15**; **13a** 和 **13b** 经硝基还原得两个目标化合物 **14a** 和 **14b**. 合成化合物的结构经 ^1H NMR 和 HRMS 确证. 用噻唑蓝(MTT)法测试了 7 个目标化合物对白血病细胞株 K562 的抑制活性, 结果表明, 化合物 **10a** 对 K562 细胞的抑制作用与来那度胺相当; 化合物 **15** 对 K562 细胞具有较强的抑制作用, 在 25 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下抑制率达 99%.

关键词 α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺; 合成; 白血病; 抑制活性

Synthesis and Leukemia Cell Line K562 Inhibitory Activities of α -(Fluoro-substituted isoindolinone-2-yl)glutarimide Analogues

Chen, Yanchi Ren, Yujie*

(School of Chemical and Environmental Engineering, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418)

Abstract A series of α -(fluoro-substituted isoindolinone-2-yl)glutarimide analogues **10a~10d**, **13a~13b** and **15** were synthesized from 3-amino-piperidine-2,6-dione hydrochloride (**4**) and different methyl 2-bromomethylbenzoate derivatives under alkaline condition, respectively. Furthermore, target compounds **14a** and **14b** were obtained via nitro reduction of **13a** and **13b**, respectively. The intermediate **4** was synthesized via amino-protection, cyclization and amino-deprotection using *L*-glutamine as the starting material. Different methyl 2-bromomethylbenzoate derivatives **9a~9d** and **12a~12b** were readily available via nitro reduction, Balz-Schiemann reaction, nitration reaction and bromination reaction strategies of nitro-substituted 2-methyl benzoic acid methyl esters. The structures of all compounds have been confirmed by ^1H NMR and HRMS spectra. The inhibitory activity against leukemia cell line K562 of seven target compounds was evaluated by thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) method. The results indicated that the inhibitory activity to K562 cells of compound **10a** was comparable with lenalidomide. Compound **15** exhibited strong inhibitory effect against K562 cells and with an inhibition rate of 99% at the concentration of 25 $\mu\text{g/mL}$.

Keywords α -(isoindolinone-2-yl)glutarimide; synthesis; leukemia; inhibitory activity

慢性淋巴细胞白血病(CLL)是一种原发于造血组织的恶性肿瘤, 是中老年人最常见的白血病之一. 仅在美国, 2014 年新诊断的 CLL 病例就高达 15720 人, 其中有 4600 人将丧生于 CLL^[1]. 近些年来, 随着环境的变化和人口老龄化趋势的加重, 我国 CLL 的发病率也不断上升. 由于常规的化疗方案如氟达拉滨、环磷酰胺联合利

妥昔单抗, 常常加重免疫系统功能的缺失并造成严重的感染^[2], 目前还没有更好的药物能够有效地治疗 CLL.

来那度胺(Lenalidomide, revlimid)(图 1)是沙利度胺的类似物, 由 Celgene 公司研发, 常用于致死性血液疾病以及癌症的治疗. 来那度胺由于具有广泛的免疫调节作用——如上调细胞因子 IL-2, 进而刺激 T 细胞的产生

* E-mail: clab@sit.edu.cn

Received December 1, 2014; revised December 25, 2014; published online January 14, 2015.

Project supported by the Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (No. 13142201001).

上海市科学技术委员会(No. 13142201001)资助项目.

[3], 抑制肿瘤坏死因子 TNF- α 的生成[4], 增强自然杀伤细胞的毒性[5]——曾为 CLL 的治疗带来新的希望[6,7]. 然而, 来那度胺在维持治疗中常常伴有外周神经毒性以及严重的血液系统副反应[8]. 在 CLL 的临床治疗中, 来那度胺可诱导较高频率的不能忍受的燃瘤反应(TFR)和溶瘤综合征(TLS)[9,10]. 在 Celgene 的一个 III 期开放实验(NCT00910910)中, 来那度胺比苯丁酸氮芥治疗的 CLL 患者出现了更高的病死率. 因此, 2013 年 7 月 FDA 决定暂停来那度胺用于 CLL 的临床试验. 而近几年来, 随着来那度胺等免疫系统调节剂的作用机理逐步被发现[3,11~13], 许多高活性的 α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺类似物已被设计合成[13~15], 部分候选化合物已进行更深入的研究. 研究表明, α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺(图 1)是重要的药效基团, 可与 CRBN 蛋白受体结合[13,16]. 药物-蛋白晶体结构显示, 戊二酰亚胺基团埋入于 CRBN 受体的凹穴之中, 而邻苯二甲酰亚胺基团的 C-5、C-6 位则完全暴露于溶剂中. 小基团(如氨基、甲基或氯)取代于沙利度胺的 C-4 位时, 可增强药物的活性; 较大的基团取代于沙利度胺的 C-4 位时, 化合物与受体 CRBN 的亲合力不受影响, 然而当较大的基团取代于沙利度胺的 C-4、C-5 位, 或 C-4 和 C-6 位时, 化合物的活性会严重降低. 这表明暴露于溶剂的大基团在 C-4 位或者甲基同时在 C-5 和 C-6 位时, 可能干扰了配体与 IKZF1 的结合[13]. 此外, 来那度胺等免疫系统调节剂增强 CRBN 蛋白与 IKZF1 和 IKZF3 的结合, 甚至其诱导产生的多效免疫调节作用, 还可能与 CRBN 蛋白周围的残基存在重要联系[12,13]. 因此, α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺类似物的合成和构效关系的研究仍然具有重要意义.

图 1 来那度胺和 α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺
Figure 1 Lenalidomide and α -(isoindolinone-2-yl)glutarimide

在药物设计中, 氟修饰策略已成为药物结构改造的重要策略之一. 氟原子或含氟基团的引入可以调节药物的理化性质、改变药物代谢动力学特性、提高生物利用

度[17]以及增强配体-蛋白相互作用[18]. 通过阻断药物的易代谢位点, 氟取代基可以改变药物代谢途径, 提高药物代谢稳定性, 延长药物在体内的作用时间[17,19]. 此外, 由于氟原子与氢原子的原子半径相近, 氟原子取代后, 化合物空间结构改变较小, 有利于保留母药的良好活性, 因此, 设计了 7 个 α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺含氟类似物, 期望找到抗 CLL 活性更好和安全性更高的化合物.

本工作共合成了 7 个未见文献报道的化合物, 其结构经 ^1H NMR 和 HRMS 表征, 并采用 MTT 法对 CLL 细胞株 K562 进行了抗肿瘤活性测试. 目标化合物的合成路线如 Scheme 1 所示.

1 结果与讨论

1.1 化合物的合成

以 L-谷氨酰胺为原料, 经过氨基保护、分子内缩合闭环和氨基脱保护得中间体 **4**; 硝基化合物经还原、Balz-Schiemann 反应得中间体 **8a** 和 **8d**; **8a**~**8d** 经溴化反应得化合物 **9a**~**9d**; **9a**~**9d** 与化合物 **4** 在弱碱下反应得 α -(氟取代-异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺衍生物 **10a**~**10d**. 实验发现温度对硝化反应影响比较大, 在 -10 ~ -5 $^{\circ}\text{C}$, **8b** 与混酸 [$V(68\% \text{HNO}_3)/V(98\% \text{H}_2\text{SO}_4) = 1/3$] 反应 1 h, 主要得到 5-位硝化产物 **11b**; 而室温下, 3-位硝化产物则显著生成(5-位硝化产物和 3-位硝化产物的物质的量比 15:4). -10 $^{\circ}\text{C}$ 下, **8a** 与混酸反应得单一的硝化产物 **11a**. 化合物 **11a** 和 **11b** 的溴化反应都比较困难, 即使 NBS 的用量由 1.1 倍提高到 2.5 倍, 或者引发剂 AIBN 的用量由 5% 提高到 30%, 底物的转化率都不到 20%. 然而, 实验发现当 NBS 和 AIBN 都少量分批加入时, 底物的转化率可提高到 40% 以上. 在氮气保护下, **12a** 或 **12b** 与化合物 **4** 在三乙胺催化下反应得 **13a** 或 **13b**. 当不用氮气保护时, **12b** 与 **4** 反应生成 **15**. **13a** 和 **13b** 在锌粉/冰醋酸体系中可以很好地反应得到 **14a** 和 **14b**.

1.2 白血病细胞 K562 抑制活性

以来那度胺作为阳性对照, 选用 CLL 细胞株 K562 做增殖抑制实验. 阳性对照以及化合物 **10a**~**10d**、**14a**~**14b** 和 **15** 对 K562 的增殖抑制作用如表 1 所示.

阳性对照以及化合物 **10a**~**10d** 和 **14a**~**14b** 对 CLL 细胞株 K562 都没有显著的抑制作用. 这与来那度胺单独作用于其他肿瘤细胞株相似[20]. 由于来那度胺类免疫系统调节剂主要通过提高 IL-2, 刺激 T 细胞的产生, 增强自然杀伤细胞的毒性或影响肿瘤的微环境, 进而诱导肿瘤细胞的凋亡[3,5,12], 简单的细胞增殖抑制实验显示不出明显的抗肿瘤活性. 尽管如此, 随着给药浓度的增

Scheme 1

表 1 目标化合物对 K562 细胞的增殖抑制活性结果

Table 1 Results of anti-proliferative activity of target compounds on K562 cells

Compd.	Cell proliferation (inhibition%) ^a				
	0 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$
Lenalidomide	0	4.6	6.5	12.8	14.3 ^b
10a	0	5.6	9.5	11.6	18.6 ^c
10b	0	12.1	—11.6	—13.6	7.0
10c	0	9.4	6.8	9.1	6.8
10d	0	7.12	4.8	5.5	10.7 ^b
14a	0	9.8	—3.5	0.5	4.8
14b	0	2.1	6.0	7.0	13.0 ^b
15	0	99.1 ^d	99.3 ^d	—	—

^a All data were presented as the mean $\pm$ S.D. of three parallel samples in each team; Significant differences from control were indicated; ^b $p < 0.05$; ^c $p < 0.01$; ^d $p < 0.001$.

加, 化合物 **10a** 和阳性对照物对 K562 细胞的抑制率都

显示出了一定的升高趋势, 化合物 **10a** 对 K562 细胞的抑制活性至少与来那度胺相当. 这再次表明, 小基团取代 α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺的 C-4 位是有利的^[13]. 而化合物 **10b**~**10d** 和 **14a** 对 K562 细胞并未表现出浓度依赖性细胞抑制作用, 这表明氟原子取代于 α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺的 C-5、C-6 和 C-7 位, 或者氨基取代于 C-7 位, 都不利于化合物的活性. 与阳性对照相比, 化合物 **15** 对 K562 细胞显示出了明显的抑制作用, 并且在 $25\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的浓度下抑制率达到了 99%. 已有研究表明戊二酰亚胺可与 CRBN 蛋白结合^[13,16], 因此, 不排除含有戊二酰亚胺基团的化合物 **15** 也是 CRBN 蛋白的重要配体, 相关研究正在进行中.

2 结论

共合成了 7 个新型的 α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚

胺含氟类似物. 初步的白血病细胞株 K562 测试结果显示, 氟原子取代 α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺的 C-4 位后, 化合物 **10a** 对 K562 细胞的抑制活性至少与来那度胺相当; α -(异吲哚啉酮-2-基)戊二酰亚胺的 C-5、C-6 或 C-7 位被氟原子取代, 或 C-6、C-7 被氨基取代后, 化合物 **10b**~**10d** 和化合物 **14a**~**14b** 在本测试中均未显示出 K562 细胞抑制活性; 而母核结构含有戊二酰亚胺基团的化合物 **15** 显示出了较强的 K562 细胞抑制活性. 化合物 **10a** 和化合物 **15** 都有望成为抗 CLL 候选化合物并进行活性研究.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

WPS-2A 数字熔点仪, 温度计未经校正; 核磁共振仪: 瑞士 Bruker Avance III 500M 型核磁共振仪; 液相色谱质谱联用仪: LCMS-2020, 日本岛津公司; 气相色谱质谱联用仪: GCMS-QP2010 Ultra, 日本岛津公司; 高分辨率质谱: Solarix-70FT-MS 瑞士布鲁克公司. 所用试剂均为市售的分析纯和化学纯.

3.2 化合物的合成部分

3.2.1 *N*-(叔丁氧羰基)-*L*-谷氨酰胺(**2**)的合成

14.6 g *L*-谷氨酰胺溶解于 100.0 mL 1.0 mol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液, 冰浴下缓慢滴加 21.8 g 二碳酸二叔丁酯. 撤走冰浴, 室温下搅拌过夜. 反应结束后用硫酸氢钾调 pH=1~1.5, 用 500 mL 乙酸乙酯分 3 次萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 减压旋干, 得 19.5 g 油状物, 产率 79%. 可直接投下一步. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 7.29 (s, 1H), 7.06 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 6.77 (s, 1H), 3.82~3.87 (m, 1H), 2.12 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 1.87~1.94 (m, 1H), 1.66~1.73 (m, 1H), 1.37 (s, 9H); ESI-HRMS calcd for C₁₀H₁₉N₂O₅ [M+H]⁺ 247.1288, found 247.1286.

3.2.2 *N*-(2,6-吡啶二酮-3-基)氨甲酸叔丁酯(**3**)的合成

19.0 g 化合物 **2**、17.8 g EDCI 和 12.6 g HOBt 溶于 200 mL 乙腈中, 室温下缓慢滴加 15.7 g 三乙胺. 将反应溶液转移至油浴中回流 24 h. 反应结束后, 旋干溶剂, 加入 500 mL 水, 室温搅拌 1 h, 抽滤, 用大量清水洗涤滤饼, 再用少量无水乙醇冲洗, 抽干, 得 7.2 g 白色固体, 产率 41%. m.p. 214.4~214.5 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 10.79 (s, 1H), 7.17 (d, *J*=8.7 Hz, 1H), 4.24~4.29 (m, 1H), 2.71~2.79 (m, 1H), 2.53~2.55 (m, 1H), 1.93~1.98 (m, 2H), 1.44 (s, 9H); ESI-HRMS calcd for C₁₀H₁₆N₂NaO₄ [M+Na]⁺ 251.1003, found 251.0992.

3.2.3 3-氨基-2,6-吡啶二酮盐酸盐(**4**)的合成

用 5.0 mL 1,4-二氧六环将 1.4 g *N*-(2,6-吡啶二酮-3-基)氨甲酸叔丁酯溶解, 加入 30 mL 2.0 mol·L⁻¹ 的 1,4-二氧六环盐酸溶液, 室温下搅拌 4 h. 过滤, 用少量乙酸乙酯洗涤滤饼, 抽干, 得 0.99 g 白色固体, 产率 98%. m.p. 278.6~279.3 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 11.24 (s, 1H), 8.83 (s, 3H), 4.21 (dd, *J*=5.1, 13.0 Hz, 1H), 2.69~2.76 (m, 1H), 2.58 (d, *J*=17.3 Hz, 1H), 2.27 (t, *J*=6.9 Hz, 1H), 2.02~2.11 (m, 1H).

3.2.4 2-甲基-3-硝基苯甲酸甲酯的合成

将 9.0 g 2-甲基-3-硝基苯甲酸溶于 40 mL 无水甲醇中, 缓慢滴加 15 mL SOCl₂, 室温下搅拌反应 0.5 h, 再转入油浴中回流 1 h. 反应结束后, 旋干溶剂, 加入 200 mL 乙酸乙酯, 分别用饱和 Na₂CO₃ 溶液和饱和食盐水溶液洗涤有机相 1 次, 分液、干燥; 浓缩有机相, 重结晶得 9.1 g 浅黄色固体, 产率 93%. m.p. 65.5~66.1 °C. 可直接投下一步反应.

3.2.5 2-溴甲基-3-硝基苯甲酸甲酯的合成

4.8 g 2-甲基-3-硝基苯甲酸甲酯、4.79 g *N*-溴代丁二酰亚胺(NBS)和 0.3 g 过氧化苯甲酰(BPO)溶于 50 mL CCl₄ 中, 在 90 °C 的油浴中回流 8 h. 反应结束后, 旋干溶剂, 用 150 mL 乙酸乙酯溶解残物, 分别用 120 mL 饱和 NaHCO₃ 溶液和饱和食盐水溶液洗涤有机相 1 次, 分液; 干燥有机相, 重结晶得 5.4 g 浅黄色固体, 产率 81%. m.p. 71.7~72.3 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 8.13 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.98 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.56 (t, *J*=8.0 Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.02 (s, 3H). ESI-HRMS calcd for C₉H₉BrNO₄ [M+H]⁺ 273.9709 and 275.9689, found 273.9698 and 275.9678.

3.2.6 3-(4-硝基-1,3-二氢-1-氧代-2*H*-异吲哚-2-基)-2,6-吡啶二酮的合成

0.82 g 化合物 **4** 和 1.36 g 2-溴甲基-3-硝基苯甲酸甲酯溶于 50 mL *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)中, 在氮气保护下滴加 1.01 g 三乙胺, 然后转入 50 °C 油浴中反应 4 h, 再升温至 75 °C 反应 18 h. 反应结束后, 加入 150 mL 去离子水, 过滤, 用少量甲醇洗涤滤饼, 抽干. 用乙酸乙酯重结晶得 0.45 g 白色固体, 产率 31%. m.p. 274.9~275.3 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 11.06 (s, 1H), 8.48 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 8.20 (d, *J*=7.4 Hz, 1H), 7.85 (t, *J*=7.8 Hz, 1H), 5.19 (dd, *J*=5.2, 13.3 Hz, 1H), 4.86 (dd, *J*=19.2, 56.7 Hz, 2H), 2.88~2.95 (m, 1H), 2.51~2.62 (m, 2H), 2.00~2.05 (m, 1H); ESI-HRMS calcd for C₁₃H₁₂N₃O₅ [M+H]⁺ 290.0771, found 290.0762.

3.2.7 3-(4-氨基-1,3-二氢-1-氧代-2H-异吲哚-2-基)-2,6-吡啶二酮的合成

0.21 g 3-(4-硝基-1,3-二氢-1-氧代-2H-异吲哚-2-基)-2,6-吡啶二酮溶于 30 mL 乙腈/甲醇($V/V=1/1$)溶液中, 加入 0.04 g 5%的钨碳(含 50%的水), 插上 H_2 气球, 反复抽出瓶中空气并换入氢气, 在 40 °C 下反应 12 h. 反应结束后, 过滤, 旋干滤液, 重结晶得 0.08 g 浅黄色固体, 产率 41%. m.p. 262.6~264.3 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 11.02 (s, 1H), 7.20 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.12 (dd, $J=4.9, 13.2$ Hz, 1H), 4.16 (dd, $J=17.0, 49.1$ Hz, 2H), 2.89~2.96 (m, 1H), 2.62 (d, $J=17.3$ Hz, 1H), 2.27~2.35 (m, 1H), 2.03 (t, $J=5.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 172.92, 171.23, 168.91, 143.58, 132.21, 128.84, 125.57, 116.41, 110.43, 51.48, 45.51, 31.20, 22.73; ESI-HRMS calcd for $C_{13}H_{14}N_3O_3$ $[M+H]^+$ 260.1030, found 260.1017.

3.2.8 2-甲基-3-氨基苯甲酸甲酯(6a)的合成

10.0 g 化合物 5a、3.2 g 氯化铵和 9.0 g 锌粉置于 200 mL 乙醇/水($V/V=1/1$)溶液中, 65 °C 油浴反应. TLC 监测反应直到原料反应完全. 旋蒸出大部分溶剂, 用 400 mL 乙酸乙酯萃取, 干燥有机相, 浓缩, 用浓盐酸成盐. 抽滤, 并用乙酸乙酯洗涤滤饼至白色, 真空中干燥, 得 8.8 g 白色固体, 产率 85 %. m.p. 232.5~232.9 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.66~7.69 (m, 2H), 7.39 (t, $J=7.9$ Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 2.47 (s, 3H); ESI-HRMS calcd for $C_9H_{12}NO_2$ $[M+H]^+$ 166.0862, found 166.0852.

2-氨基-6-甲基苯甲酸甲酯(6d)的合成方法类似 6a, 无色油状物, 产率 76%. 1H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 7.12 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.56 (d, $J=3.8$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J=4.6$ Hz, 1H), 5.51 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.46 (s, 3H); ESI-HRMS calcd for $C_9H_{12}NO_2$ $[M+H]^+$ 166.0863, found 166.0852.

3.2.9 3-氟-2-甲基苯甲酸甲酯(8a)合成

8.5 g 化合物 6a 悬浮于 32.4 g 40%的四氟硼酸之中, 冰盐浴下搅拌 10 min. 用尽量少的水将 3.5 g 亚硝酸钠溶解, 缓慢地滴加入上述混合溶液中, 继续搅拌 1 h. 抽滤, 用 DCM 洗涤滤饼至浅黄色. 抽干, 得 7.9 g 固体. m.p. 89.2~90.0 °C.

将 7.9 g 上述所得固体悬浮于 100 mL 甲苯中, 缓慢升温至 80 °C, 恒温后再小心升温至 85 °C, 这时有大量白烟产生. 当白烟几乎消失后, 再次升温并回流 20 min. 反应结束后, 冷却至室温, 加入 100 mL Na_2CO_3 溶液, 分液; 干燥有机相, 浓缩, 柱层析分离[洗脱剂: V (石油醚): V (乙酸乙酯)=50:1]得 2.5 g 无色油状物, 产率

34%. 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.61 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.39 (t, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.31~7.36 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 2.38 (d, $J=2.3$ Hz, 3H); GC-MS (EI, 70 eV) m/z (%): 168 (M^+ , 30), 137 (100), 109 (88).

2-氟-6-甲基苯甲酸甲酯(8d)的合成方法同 8a. 无色油状物, 产率 24%. 1H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 7.29~7.32 (m, 1H); 7.02 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 6.69 (t, $J=9.1$ Hz, 1H), 3.96 (s, 3H), 2.42 (s, 3H); ESI-HRMS calcd for $C_9H_{10}FO_2$ $[M+H]^+$ 169.0659, found 169.0686.

3.2.10 化合物 9a~9d 的合成

550 mg 化合物 8a、695 mg NBS 和 40 mg BPO 溶于 30 mL CCl_4 中, 油浴中回流 6 h. 反应结束后, 旋干溶剂, 加入 100 mL 乙酸乙酯, 分别用饱和 $NaHCO_3$ 溶液和饱和食盐水溶液洗涤有机相 1 次, 分液. 干燥有机相, 浓缩, 柱层析分离[洗脱剂: V (石油醚): V (乙酸乙酯)=50:1]得化合物 9a. 采用类似合成方法合成了 9b~9d.

2-溴甲基-3-氟苯甲酸甲酯(9a): 无色油状物, 产率 70%. 1H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 7.80 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.28 (t, $J=8.8$ Hz, 1H), 5.02 (d, $J=1.7$ Hz, 2H), 3.97 (s, 3H); ESI-HRMS calcd for $C_9H_9BrFO_2$ $[M+H]^+$ 246.9764 and 248.9744, found 246.9809 and 248.9788.

2-溴甲基-4-氟苯甲酸甲酯(9b): 无色油状物, 产率 66%. 1H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 8.03 (dd, $J=5.9, 8.7$ Hz, 1H), 7.21 (dd, $J=2.5, 9.2$ Hz, 1H), 7.05~7.09 (m, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.95 (s, 3H); ESI-HRMS calcd for $C_9H_8BrFNaO_2$ $[M+Na]^+$ 268.9584 and 270.9564, found 268.9577 and 270.9558.

2-溴甲基-5-氟苯甲酸甲酯(9c): 无色油状物, 产率 68%. 1H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 7.68 (dd, $J=2.8, 9.3$ Hz, 1H), 7.47 (dd, $J=5.4, 8.5$ Hz, 1H), 7.20~7.23 (m, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.97 (s, 3H); ESI-HRMS calcd for $C_9H_8BrFO_2$ $[M+H]^+$ 246.9764 and 248.9744, found 246.9761 and 248.9741.

2-溴甲基-6-氟苯甲酸甲酯(9d): 无色油状物, 产率 23%. 1H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 7.41 (dd, $J=7.8, 13.6$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.11 (t, $J=9.0$ Hz, 1H), 4.68 (s, 2H), 4.01 (s, 3H); ESI-HRMS calcd for $C_9H_8BrFNaO_2$ $[M+Na]^+$ 268.9584 and 270.9564, found 268.9571 and 270.9551.

3.2.11 化合物 10a~10d 的合成

476 mg (1.9 mmol) 化合物 9a 和 250 mg (1.5 mmol) 化合物 4 溶于 10 mL DMF 中, 氮气保护下滴加入 384 mg (3.8 mmol) 三乙胺. 室温下搅拌 4 h, 然后转入 75 °C 油浴中继续反应 35 h. 反应结束后, 加入 50 mL 水, 过

滤, 用大量水洗涤滤饼, 抽干; 柱层析进一步提纯[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=40:1$], 得化合物 **10a**。采用类似合成方法合成了 **10b~10d**。

3-(4-氟-1,3-二氢-1-氧代-2*H*-异吡啶-2-基)-2,6-嘧啶二酮(**10a**): 蓝色固体, 产率 21%. m.p. 281.0~282.4 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 11.02 (s, 1H), 7.57~7.62 (m, 2H), 7.5 (t, $J=8.7$ Hz, 1H), 5.13 (dd, $J=4.9$, 13.3 Hz, 1H), 4.50 (dd, $J=17.4$, 83.9 Hz, 2H), 2.89~2.96 (m, 1H), 2.61 (d, $J=17.6$ Hz, 1H), 2.40~2.49 (m, 1H), 2.02 (t, $J=5.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 172.84, 170.79, 166.97 (d, $J=2.23$ Hz), 157.05 (d, $J=247.09$ Hz), 134.80 (d, $J=4.67$ Hz), 130.68 (d, $J=6.5$ Hz), 127.84 (d, $J=18.35$ Hz), 119.43 (d, $J=3.32$ Hz), 118.45 (d, $J=19.32$ Hz), 51.73, 44.18, 31.13, 22.25; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{FN}_2\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 263.0826, found 263.0816.

3-(5-氟-1,3-二氢-1-氧代-2*H*-异吡啶-2-基)-2,6-嘧啶二酮(**10b**): 白色固体, 产率 12%. m.p. 292.4~293.2 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 11.01 (s, 1H), 7.78 (dd, $J=5.1$, 8.3 Hz, 1H), 7.50 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.34~7.38 (m, 1H), 5.11 (dd, $J=5.1$, 13.3 Hz, 1H), 4.41 (dd, $J=17.6$, 62.1 Hz, 2H), 2.88~2.96 (m, 1H), 2.61 (d, $J=17.3$ Hz, 1H), 2.36~2.45 (m, 1H), 2.00~2.03 (m, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 172.86, 170.94, 167.08, 164.41 (d, $J=246.66$ Hz), 144.77 (d, $J=10.45$ Hz), 127.98 (d, $J=1.45$ Hz), 125.27 (d, $J=9.95$ Hz), 115.68 (d, $J=23.5$ Hz), 110.92 (d, $J=24.14$ Hz), 51.65, 47.05, 31.16, 22.36; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{FN}_2\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 263.0826, found 263.0823.

3-(6-氟-1,3-二氢-1-氧代-2*H*-异吡啶-2-基)-2,6-嘧啶二酮(**10c**): 白色固体, 产率 44%. m.p. 267.7~269.1 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 11.01 (s, 1H), 7.66 (dd, $J=4.6$, 8.2 Hz, 1H), 7.46~7.53 (m, 2H), 5.13 (dd, $J=5.1$, 13.3 Hz, 1H), 4.39 (dd, $J=17.2$, 60.3 Hz, 2H), 2.89~2.96 (m, 1H), 2.62 (d, $J=17.5$ Hz, 1H), 2.36~2.45 (m, 1H), 2.03 (t, $J=5.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 172.86, 170.87, 167.11 (d, $J=3.52$ Hz), 162.06 (d, $J=242.77$ Hz), 137.85 (d, $J=1.98$ Hz), 133.61 (d, $J=8.59$ Hz), 125.61 (d, $J=8.49$ Hz), 119.14 (d, $J=23.34$ Hz), 109.44 (d, $J=23.23$ Hz), 51.76, 46.94, 31.14, 22.36; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{FN}_2\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 263.0826, found 263.0818.

3-(7-氟-1,3-二氢-1-氧代-2*H*-异吡啶-2-基)-2,6-嘧啶二酮(**10d**): 米白色固体, 产率 40%. m.p. 294.8~295.7 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 11.02 (s,

1H), 7.65~7.68 (m, 1H), 7.44 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.29 (t, $J=9.1$ Hz, 1H), 5.09 (dd, $J=5.1$, 13.3 Hz, 1H), 4.43 (dd, $J=17.7$, 65.9 Hz, 2H), 2.88~2.96 (m, 1H), 2.61 (d, $J=17.7$ Hz, 1H), 2.34~2.43 (m, 1H), 2.00~2.04 (m, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 172.85, 170.86, 164.98 (d, $J=2.0$ Hz), 157.91 (d, $J=255.05$ Hz), 145.02 (d, $J=3.06$ Hz), 134.10 (d, $J=7.52$ Hz), 119.91 (d, $J=3.95$ Hz), 118.59 (d, $J=13.18$ Hz), 114.92 (d, $J=18.88$ Hz), 51.45, 47.11, 31.14, 22.28; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{FN}_2\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 263.0826, found 263.0817.

3.2.12 3-氟-2-甲基-6-硝基苯甲酸甲酯(**11a**)的合成

称取 420 mg 化合物 **8a**, 加入 0.4 mL 浓硫酸并搅拌均匀, 缓慢滴加入混酸(0.4 mL 65%的浓硝酸和 1.2 mL 98%的浓硫酸), 维持在-5 °C 以下继续反应 1 h. 反应结束后, 将混合物倒入冰水中, 用乙酸乙酯萃取, 分别用饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液洗涤有机相一次, 分液; 干燥有机相, 浓缩, 柱层析提纯[洗脱剂: $V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=30:1$], 得 350 mg 油状物, 产率 66%. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 8.07 (dd, $J=9.1$, 4.5 Hz, 1H), 7.22 (t, $J=8.6$ Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 2.29 (d, $J=2.3$ Hz, 3H); ESI-HRMS calcd for $\text{C}_9\text{H}_8\text{FNNaO}_4$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 236.0329, found 236.0324.

4-氟-2-甲基-5-硝基苯甲酸甲酯(**11b**)的合成方法与 **11a** 相同, 白色固体, 产率 47%. m.p. 67.9~69.1 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 8.69 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J=11.5$ Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 2.71 (s, 3H); ESI-HRMS calcd for $\text{C}_9\text{H}_9\text{FNO}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 214.0516, found 214.0503.

3.2.13 化合物 **12a** 和 **12b** 的合成

580 mg (2.7 mmol) 化合物 **11a**、727 mg (4.1 mmol) NBS 和 90 mg (0.54 mmol) AIBN 悬浮于 30 mL CCl_4 中, 在氮气保护下回流 12 h. 反应结束后, 旋干溶剂, 加入 50 mL DCM, 分别用饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液洗涤有机相 1 次, 干燥有机相, 浓缩; 柱层析分离[洗脱剂: $V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=50:1$], 得化合物 **12a**。采用类似合成方法合成了 **12b**。

2-溴甲基-3-氟-6-硝基苯甲酸甲酯(**12a**): 浅黄色固体, 产率 53%. m.p. 60.9~61.5 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 8.18 (dd, $J=4.6$, 9.1 Hz, 1H), 7.34 (t, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.55 (d, $J=1.2$ Hz, 2H), 4.03 (s, 3H); ESI-HRMS calcd for $\text{C}_9\text{H}_7\text{BrFNNaO}_4$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 313.9435 and 315.9415, found 313.9434 and 315.9414.

2-溴甲基-4-氟-5-硝基苯甲酸甲酯(**12b**): 无色油状物, 产率 38 %. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 8.74 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J=11.1$ Hz, 1H), 4.98 (s, 2H), 4.01 (s, 3H); ESI-HRMS calcd for $\text{C}_9\text{H}_8\text{BrFNO}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$

291.9615 and 293.9595, found 291.9611 and 293.9591.

3.2.14 化合物 **13a** 和 **13b** 的合成

292 mg (1.0 mmol) 化合物 **12a** 和 164 mg (1.0 mmol) 化合物 **4** 悬浮于 MeCN 中, 在氮气保护下加入 202 mg (2.0 mmol) 三乙胺; 将反应混合物加热至回流, 反应 24 h. 反应结束后, 旋干溶剂, 柱层析分离提纯[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=40:1$], 得化合物 **13a**. 采用类似合成方法合成了 **13b**.

3-(4-氟-7-硝基-1,3-二氢-1-氧代-2*H*-异吲哚-2-基)-2,6-吡啶二酮(**13a**): 浅黄色固体, 产率 27%. m.p. 232.9~234.0 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 11.07 (s, 1H), 8.10 (dd, $J=3.3, 8.5$ Hz, 1H), 7.75 (t, $J=8.5$ Hz, 1H), 5.11 (dd, $J=5.0, 13.2$ Hz, 1H), 4.59 (dd, $J=18.1, 77.3$ Hz, 2H), 2.87~2.94 (m, 1H), 2.61 (d, $J=17.6$ Hz, 1H), 2.40~2.49 (m, 1H), 2.03 (t, $J=5.7$ Hz, 1H); ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{FN}_3\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 308.0677, found 308.0676.

3-(5-氟-6-硝基-1,3-二氢-1-氧代-2*H*-异吲哚-2-基)-2,6-吡啶二酮(**13b**): 白色固体, 产率 22%. m.p. 260.9~261.0 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 11.03 (s, 1H), 8.38 (d, $J=6.6$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J=10.6$ Hz, 1H), 5.14 (dd, $J=5.0, 13.3$ Hz, 1H), 4.55 (dd, $J=18.4, 61.3$ Hz, 2H), 2.88~2.95 (m, 1H), 2.62 (d, $J=17.5$ Hz, 1H), 2.38~2.47 (m, 1H), 2.04 (t, $J=5.7$ Hz, 1H); ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{FN}_3\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 308.0677, found 308.0682.

3.2.15 化合物 **14a** 和 **14b** 的合成

用 3.0 mL 冰醋酸将 80 mg (0.26 mmol) 化合物 **13a** 溶解, 分批加入 64 mg (1.0 mmol) 锌粉; TLC 监测反应至原料反应完全. 反应结束后, 过滤, 收集滤液, 浓缩, 柱层析分离[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=30:1$], 得化合物 **14a**. 采用类似合成方法合成了 **14b**.

3-(4-氟-7-氨基-1,3-二氢-1-氧代-2*H*-异吲哚-2-基)-2,6-吡啶二酮(**14a**): 浅黄色固体, 产率 42%. m.p. 253.6~254.7 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 11.00 (s, 1H), 7.13 (t, $J=8.9$ Hz, 1H), 6.62 (dd, $J=3.3, 8.9$ Hz, 1H), 5.98 (s, 2H), 5.01 (dd, $J=5.0, 13.3$ Hz, 1H), 4.34 (dd, $J=17.2, 84.4$ Hz, 2H), 2.87~2.94 (m, 1H), 2.60 (d, $J=17.2$ Hz, 1H), 2.36~2.45 (m, 1H), 1.98 (t, $J=5.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 172.93, 171.01, 169.11 (d, $J=2.18$ Hz), 147.84 (d, $J=232.58$ Hz), 143.44 (d, $J=1.01$ Hz), 127.18 (d, $J=18.88$ Hz), 119.85 (d, $J=21.0$ Hz), 114.36 (d, $J=5.50$ Hz), 113.88 (d, $J=3.82$ Hz), 51.32, 43.95, 31.14, 22.24; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{FN}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 278.0935, found 278.0932.

3-(5-氟-6-氨基-1,3-二氢-1-氧代-2*H*-异吲哚-2-基)-2,6-吡啶二酮(**14b**): 白色固体, 产率 48%. m.p. 265.0~266.1 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 10.97 (s, 1H), 7.25 (d, $J=10.75$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.03 (dd, $J=5.0, 13.3$ Hz, 1H), 4.2 (dd, $J=16.6, 56.9$ Hz, 2H), 2.85~2.93 (m, 1H), 2.59 (d, $J=17.2$ Hz, 1H), 2.31~2.40 (m, 1H), 1.96~2.00 (m, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 172.88, 171.09, 167.91, 153.28 (d, $J=241.43$ Hz), 136.99 (d, $J=14.22$ Hz), 129.78 (d, $J=9.01$ Hz), 127.87, 110.06 (d, $J=21.8$ Hz), 109.08 (d, $J=6.2$ Hz), 51.62, 46.42, 31.19, 22.45; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{FN}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 278.0935, found 278.0927.

3.2.16 2-[(2,6-吡啶二酮-3-基)-羟胺]-甲基}-4-氟-5-硝基苯甲酸甲酯(**15**)的合成

293 mg (1.0 mmol) 化合物 **12b** 和 164 mg (1.0 mmol) 化合物 **4** 悬浮于 MeCN 中, 加入 202 mg (2.0 mmol) 三乙胺, 55 °C 下搅拌反应 24 h. 反应结束后, 旋干溶剂, 柱层析分离[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=80:1$], 得 120 mg 黄色固体, 产率 34%. m.p. 83.7~84.4 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 11.08 (s, 1H), 8.65~8.68 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 5.06 (dd, $J=11.0, 18.1$ Hz, 2H), 4.88 (dd, $J=8.3, 17.0$ Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.82~2.89 (m, 1H), 2.63 (d, $J=18.1$ Hz, 1H), 2.20~2.24 (m, 2H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 173.05, 172.21, 165.00, 146.55, 146.31, 131.02, 130.74, 118.27, 115.62, 53.13, 52.60, 44.13, 31.38, 24.10; LC-MS (ES-API) m/z : 356.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

3.3 细胞增殖抑制实验

用噻唑蓝(MTT)法测定目标化合物对白血病细胞株 K562 的生长抑制作用. 收集对数期细胞, 调整细胞悬液浓度, 每孔加入 100 μL 细胞液(使 4000~6000 个细胞/孔), 边缘孔用无菌 PBS 填充. 置于 5% CO_2 、37 °C 的培养箱孵育 24 h. 加入浓度梯度的药物, 设 5 个梯度浓度(0、25、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$), 每孔 100 μL , 设 3 个平行孔. 重新放回 5% CO_2 、37 °C 的培养箱继续孵育 48 h. 取出每孔加入 100 μL 含 10% MTT 的培养液, 其中 MTT 溶液(5 mg/mL, 即 0.5% MTT), 继续培养 4 h. 终止培养, 3000 r/min 离心 30 min, 吸去孔内培养液, 每孔加入 100 μL 二甲基亚砜, 置摇床上低速振荡 10 min, 使结晶物充分溶解. 用全自动多功能酶标仪检测在 OD 492 和 630 nm 处各孔的吸光值. 细胞增殖抑制率=[(阴性对照孔的平均 OD 值-测试孔的平均 OD 值)/阴性对照孔的平均 OD 值] $\times 100\%$ (其中, 阴性对照为等量的培养基).

辅助材料(Supporting Information) 合成化合物的 ^1H NMR (^{13}C NMR)和 HRMS (LCMS、GCMS)谱图。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] American Cancer Society *Cancer Facts & Figures 2014*, American Cancer Society, Atlanta, **2014**.
- [2] Hallek, M.; Fischer, K.; Fingerle-Rowson, G.; Fink, A. M.; Busch, R.; Mayer, J.; Hensel, M.; Hopfinger, G.; Hess, G.; Von Grünhagen, U.; Bergmann, M.; Catalano, J.; Zinzani, P. L.; Caligaris-Cappio, F.; Seymour, J. F.; Berrebi, A.; Jäger, U.; Cazin, B.; Trnny, M.; Westermann, A.; Wendtner, C. M.; Eichhorst, B. F.; Staib, P.; Bühler, A.; Winkler, D.; Zenz, T.; Böttcher, S.; Ritgen, M.; Mendila, M.; Kneba, M.; Döhner, H.; Stilgenbauer, S. *Lancet* **2010**, *376*, 1164.
- [3] Krönke, J.; Udeshi, N. D.; Narla, A.; Grauman, P.; Hurst, S. N.; McConkey, M.; Svinkina, T.; Heckl, D.; Comer, E.; Li, X.-Y.; Ciarlo, C.; Hartman, E.; Munshi, N.; Schenone, M.; Schreiber, S. L.; Carr, S. A.; Ebert, B. L. *Science* **2014**, *343*, 301.
- [4] Muller, G. W.; Chen, R.; Huang, S. Y.; Corral, L. G.; Wong, L. M.; Patterson, R. T.; Chen, Y.; Kaplan, G.; Stirling, D. I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1625.
- [5] Davies, F. E.; Raje, N.; Hideshima, T.; Lentzsch, S.; Young, G.; Tai, Y.-T.; Lin, B.; Podar, K.; Gupta, D.; Chauhan, D.; Treon, S. P.; Richardson, P. G.; Schlossman, R. L.; Morgan, G. J.; Muller, G. W.; Stirling, D. I.; Anderson, K. C. *Blood* **2001**, *98*, 210.
- [6] Lee, B.-N.; Gao, H.; Cohen, E. N.; Badoux, X.; Wierda, W. G.; Estrov, Z.; Faderl, S. H.; Keating, M. J.; Ferrajoli, A.; Reuben, J. M. *Cancer* **2011**, *117*, 3999.
- [7] Shanafelt, T. D.; Ramsay, A. G.; Zent, C. S.; Leis, J. F.; Tun, H. W.; Call, T. G.; LaPlant, B.; Bowen, D.; Pettinger, A.; Jelinek, D. F.; Hanson, C. A.; Kay, N. E. *Blood* **2013**, *121*, 4137.
- [8] McCarthy, P. L.; Owzar, K.; Hofmeister, C. C.; Hurd, D. D.; Hassoun, H.; Richardson, P. G.; Giralt, S.; Stadtmauer, E. A.; Weisdorf, D. J.; Vij, R.; Moreb, J. S.; Callander, N. S.; Besien, K. V.; Gentile, T.; Isola, L.; Maziarz, R. T.; Gabriel, D. A.; Bashey, A.; Landau, H.; Martin, T.; Qazilbash, M. H.; Levitan, D.; McClune, B.; Schlossman, R.; Hars, V.; Postiglione, J.; Jiang, C.; Bennett, E.; Barry, S.; Bressler, L.; Kelly, M.; Seiler, M.; Rosenbaum, C.; Hari, P.; Pasquini, M. C.; Horowitz, M. M.; Shea, T. C.; Devine, S. M.; Anderson, M. M.; Linker, C. *N. Engl. J. Med.* **2012**, *366*, 1770.
- [9] Moutouh-de-Parval, L. A.; Weiss, L.; DeLap, R. J.; Knight, R. D.; Zeldis, J. B. *J. Clin. Oncol.* **2007**, *25*, 5047.
- [10] Andritsos, L. A.; Johnson, A. J.; Lozanski, G.; Blum, W.; Kefauver, C.; Awan, F.; Smith, L. L.; Lapalombella, R.; May, S. E.; Raymond, A.; Wang, D. S.; Knight, R. D.; Ruppert, A. S.; Lehman, A.; Jarjoura, D.; Chen, C.-S.; Byrd, J. C. *J. Clin. Oncol.* **2008**, *26*, 2519.
- [11] Ito, T.; Ando, H.; Suzuki, T.; Ogura, T.; Hotta, K.; Imamura, Y.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. *Science* **2010**, *327*, 1345.
- [12] Lu, G.; Middleton, R. E.; Sun, H.-H.; Naniong, M.; Ott, C.; Mitsiades, C. S.; Wong, K.-K.; Bradner, J. E.; Kaelin, W. G. *Science* **2014**, *343*, 305.
- [13] Fischer, E. S.; Böhm, K.; Lydeard, J. R.; Yang, H.; Stadler, M. B.; Cavadini, S.; Nagel, J.; Serluca, F.; Acker, V.; Lingaraju, G. M.; Tichkule, R. B.; Schebesta, M.; Forrester, W. C.; Schirle, M.; Hasseisen, U.; Ottl, J.; Hild, M.; Beckwith, R. E. J.; Harper, J. W.; Jenkins, J. L.; Thoma, N. H. *Nature* **2014**, *512*(7512), 49.
- [14] Ruchelman, A. L.; Man, H.-W.; Zhang, W.-H.; Chen, R.; Capone, L.; Kang, J.; Parton, A.; Corral, L.; Schafer, P. H.; Babusis, D.; Moghaddam, M. F.; Tang, Y.; Shirley, M. A.; Muller, G. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 360.
- [15] Sun, G.-L.; Zhang, W.-W.; Zhan, X.-P.; Liu, Z.-L.; Mao, Z.-M. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, *34*, 546 (in Chinese). (孙广龙, 张蔚蔚, 詹晓平, 刘增路, 毛振民, 有机化学, **2014**, *34*, 546.)
- [16] Lopez-Girona, A.; Mendy, D.; Ito, T.; Miller, K.; Gandhi, A. K.; Kang, J.; Karasawa, S.; Carmel, G.; Jackson, P.; Abbasian, M.; Mahmoudi, A.; Cathers, B.; Rychak, E.; Gaidarova, S.; Chen, R.; Schafer, P. H.; Handa, H.; Daniel, T. O.; Evans, J. F.; Chopra, R. *Leukemia* **2012**, *26*, 2326.
- [17] Purser, S.; Moore, P. R.; Swallow, S.; Gouverneur, V. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 320.
- [18] Müller, K.; Faeh, C.; Diederich, F. *Science* **2007**, *317*, 1881.
- [19] Wang, J.; Liu, H. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, *31*, 1785 (in Chinese). (王江, 柳红, 有机化学, **2011**, *31*, 1785.)
- [20] Schmidt-Hieber, M.; Dabrowski, R.; Weimann, A.; Aicher, B.; Lohnes, P.; Busse, A.; Thiel, E.; Blau, I. W. *Invest. New Drugs* **2012**, *30*, 480.

(Li, L.; Fan, Y.)