连氨基脲链的三氮唑并噻二唑类 DOT1L 抑制剂的设计、合成及活性

刘娜^{†,a} 郭思岐^{†,b,c} 刘俊芳^a 陈彦韬^b 徐晓明^a 张静^a
康亚青^a 罗成^b 陈示洁^{*,b} 陈华^{*,a}

(^a 河北大学化学与环境科学学院 河北省化学生物学重点实验室 河北保定 071002)

(^b 中国科学院上海药物研究所 新药研究国家重点实验室 上海 201203)

(^c 南昌大学药学院 南昌 330006)

摘要 依据优势片段结合的药物设计方法, 设计了新的连接有氨基脲链的三氮唑并噻二唑类 DOT1L(类端粒沉默干扰体 1)酶抑制剂。化合物的合成以芳香酸为原料, 经五步反应得到了含苄基氯结构的三氮唑并噻二唑中间体 **13**。弱碱性(DIPEA)条件下, 化合物 **13** 与氨基侧链发生亲核取代反应, 得到连氨基脲链的三氮唑并噻二唑类化合物 **15a~15k**; 而在强碱性(NaH)条件下, 化合物 **13** 自身反应得到新的三氮唑并噻二唑连三氮唑并噻二唑的二聚结构类似物 **22a~22d**。测试了化合物 **15** 和 **22** 对 DOT1L 的酶抑制活性, 结果显示所测化合物在 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时表现出中等或较弱的 DOT1L 抑制活性, 其中化合物 **15k** 和二聚类似物 **22a** 活性最好, IC_{50} 值分别为 25.92 和 10.59 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 但均低于阳性对照物 (*E*)-6-(2-(呋喃-2-基)乙烯基)-3-苯基-[1,2,4]三唑[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑的酶抑制活性。分子对接实验提示, 氨基脲侧链体积较大, 可能是所合成化合物活性较低的主要原因。

关键词 DOT1L 抑制剂; 三氮唑并噻二唑; 三氮唑并噻二唑; 亲核取代

Design, Synthesis, and Biological Activities of Novel Triazolothiadiazole Derivatives Linked with Amino Side Chain Containing Urea Group as DOT1L Inhibitors

Liu, Na^{†,a} Guo, Siqi^{†,b,c} Liu, Junfang^a Chen, Yantao^b Xu, Xiaoming^a
Zhang, Jing^a Kang, Yaqing^a Luo, Cheng^b Chen, Shijie^{*,b} Chen, Hua^{*,a}

(^a Key Laboratory of Chemical Biology of Hebei Province, College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding, Hebei 071002)

(^b State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Science, Shanghai 201203)

(^c School of Pharmacy, Nanchang University, Nanchang 330006)

Abstract Based on the drug design method of combination of privileged fragments, a series of novel triazolothiadiazole derivatives linked with amino side chain containing urea group were designed as potential DOT1L (disruptor of telomeric silencing 1-like) inhibitors. The intermediate **13** with benzyl chloride on triazolothiadiazole structure was synthesized from aromatic acid through five steps. Under the condition of weak base (DIPEA), the nucleophilic substitution reaction between **13** and amino chain with urea group resulted in triazolothiadiazole derivatives linked with amino side chain containing urea group **15a~15k**, while under the condition of strong base (NaH), the new dimeric structure analogues **22a~22d** bearing with triazolothiadiazole-triazolothiadiazine were obtained by intermolecular reaction of two molecules of **13**. The inhibitory activities of compounds **15** and **22** against DOT1L were tested. The results showed that the tested compounds exhibited moderate or weak DOT1L inhibitory activities at 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Among them, compounds **15k** and **22a** were the best ones with IC_{50} values of 25.92 and 10.59 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, lower than that of the positive control (*E*)-6-(2-(furan-2-yl)vinyl)-3-phenyl-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazole (**10**). The results of docking experiments suggested that the bulky amino-urea side chain

* Corresponding authors. E-mail: shijiechen@simm.ac.cn; hua-todd@163.com

Received October 29, 2019; revised January 13, 2020; published online May 25, 2020.

Project supported by the Natural Science Interdisciplinary Research Program of Hebei University (No. DXK201903).

河北大学自然科学基金交叉研究计划(No. DXK201903)资助项目.

[†] 共同第一作者(These authors contributed equally to this work).

might be the main reason for the loss of the activities of the compounds, which sterically hindered the molecular from binding to the DOT1L enzyme.

Keywords DOT1L inhibitor; triazolothiadiazole; triazolothiadiazine; nucleophilic substitution

DOT1L(类端粒沉默干扰体 1)是一种不含 SET (histone lysine methyltransferases)结构域的组蛋白赖氨酸甲基转移酶(HKMTs), 它特异性催化位于核小体中的组蛋白 H3 上赖氨酸 79 (H3K79)的单、双和三甲基化. *S*-腺苷-*L*-甲硫氨酸(SAM)作为甲基供体, 在 HKMTs 作用下将其甲基转移至底物, 生成相应的酶促反应产物 *S*-腺苷-*L*-高半胱氨酸(SAH)(图 1)^[1-2]. DOT1L 的活性异常, 可以导致 HOXA9 与 MEIS1 高表达, 诱发混合谱系白血病(Mixed Lineage Leukemia, MLL)的发生, 是这种恶性肿瘤白血病发生的必需驱动因子^[3-4]. 因此, 通过抑制 DOT1L 有望实现混合谱系白血病 MLL 的治疗^[5-7].

目前, 已报道的 DOT1L 抑制剂按结构分为两类,

一类是基于 SAM 及其相应的酶促反应产物 SAH 结构设计的核苷类 DOT1L 抑制剂^[8-15], 如化合物 1~4(图 1); 另一类则是非核苷类 DOT1L 抑制剂^[16-24], 如化合物 5~10(图 1).

Epizyme 公司报道的化合物 1~3 分子中含有脲基侧链, 该链较 SAM 中的半胱氨酸链能更好地与 DOT1L 催化域口袋匹配, 使分子表现出更高效的 DOT1L 抑制活性. 化合物 4 和 6^[19]中也均含有类似的氨基侧链. 化合物 7^[21]、9^[22]和 10^[23]是中国科学院上海药物研究所近年来报道的双喹啉类和三氮唑并噻二唑类 DOT1L 抑制剂. 分子模拟结果表明, 化合物 7 的喹啉连噻啉部分可以有效占据 SAM 的结合位点, 从而表现出良好的

图 1 SAM、SAH 以及 DOT1L 抑制剂结构
Figure 1 Structures of SAM, SAH, and DOT1L inhibitors

DOT1L 抑制活性。依据优势片段结合的药物设计方法, 实验室设计合成了新的连接有氨基脲链的喹啉连噻啶化合物 **8**^[24], 亦表现了良好的 DOT1L 抑制活性, 并显著地提高了化合物的抗肿瘤细胞活性。

在此工作基础上, 因化合物 **9** 和 **10** 中的三氮唑并噻二唑部分主要也是与 SAM 结合位点作用, 因此, 本文依据优势片段结合的药物设计方法, 拟设计合成新的连接有氨基脲链的三氮唑并噻二唑结构衍生物, 并测试化合物的 DOT1L 酶抑制活性, 以期发现高效的 DOT1L 抑制剂。

1 结果与讨论

1.1 含氨基脲链的三氮唑并噻二唑化合物 15a~15k 的合成

参照文献方法^[25], 以芳香酸 **11** 为起始原料, 经酯化、肼解、二硫化碳(CS₂)成盐及水合肼关环四步反应, 得到4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑衍生物 **12**。在三氯氧磷条

件下, 化合物 **12** 与氯乙酸脱水环合得到含苄氯的三氮唑并噻二唑关键中间体 **13**。弱碱性条件下, 化合物 **13a** 和 **13b** 分别与已有的氨基脲链 **14** 和 **16**^[24], 经亲核取代反应合成了目标化合物 **15a**~**15i** (Scheme 1)。

为拓展氨基上的 R¹ 取代基团, 叔丁氧羰基(Boc)保护的 3-氨基哌啶 **17** 与 **13b** 发生亲核取代反应, 酸性条件下脱除 Boc 后得到化合物 **18**, 再与 4-叔丁基苯基异氰酸酯 **19** 反应, 合成了目标化合物 **15j** (Scheme 2)。此外, 以 Boc 保护的乙二醇胺和 **13b** 为原料, 经上述同样的步骤合成了化合物 **21**, 继而与 **19** 反应得到含双脲基链的化合物 **15k** (Scheme 3)。由于氨基与异氰酸酯反应活性高, 调整试剂的比例、缚酸剂和反应温度, 均没有得到含单脲基链的产物。

1.2 三氮唑并噻二唑连三氮唑并噻二唑衍生物 22a~22d 的合成

在合成化合物 **15a** 时, 强碱如氢化钠(NaH)条件下, 化合物 **13a** 和氨基脲链 **14** 不能反应制备目标化合物

图式 1 化合物 15a~15i 的合成
Scheme 1 Synthesis of compounds 15a~15i

图式 2 化合物 15j 的合成
Scheme 2 Synthesis of compound 15j

图式 3 化合物 15k 的合成
Scheme 3 Synthesis of compound 15k

15a, 而是生成了 13a 的二聚类似物 22a (Scheme 4). 随后, 直接以 13a 为原料, 室温 NaH 条件下进行反应 1 h, 除生成 22a 和一个极性大难以展开分离的副产物外, 无其它杂质生成, 但反应收率不高, 只有 31.7%. 经简单条件摸索, 在冰浴条件下反应时间延长至 3 h, 收率可达 70.5%. 在相同的条件下, 分别以 13b~13d 为原料, 高产率地合成了相应的二聚类似物 22b~22d. 该类化合物结构经波谱分析鉴定为三氮唑并噻二唑连三氮唑并噻二噻类衍生物. 以化合物 22c 的结构鉴定为例, 高分辨质谱确定该化合物的分子式为 $C_{22}H_{18}ClN_8O_2S_2$ ($[M+H]^+$), 即两分子的原料减去一个氯化氢. 通过 1H , 1H -COSY 和 HSQC 二维核磁共振(NMR)谱确定 C、H 信号归属后, 氢谱中 δ 6.26 处的单峰和碳谱中 δ 36.8 处的碳信号显示噻二噻环的存在. 进一步通过 HMBC 谱和一些关键的相关信号峰(图 2), 如 C-9'/C-8、C-9、C-10/10'-H 以及 C-10'/C-9/10-H 等, 确证化合物结构如图 2 所示.

图式 4 化合物 22a~22d 的合成
Scheme 4 Synthesis of compounds 22a~22d

推测可能的反应机理如 Scheme 5 所示: 13a 中的硫原子亲核性强, 取代另一分子中较活泼的相当于苄位的氯原子, 给出硫鎓; 硫正离子的形成, 活化了与其直接相连的“苄位”, 使得该位置的氢酸度加大, 更易被 NaH 夺去形成硫叶立德; 后者重排扩环得到三氮唑并噻二唑连三氮唑并噻二噻类化合物 22a.

图 2 化合物 22c 中关键的 HMBC 信号相关
Figure 2 Key HMBC correlations of compound 22c

图式 5 化合物 22a 的合成机理
Scheme 5 Possible mechanism for the synthesis of 22a

1.3 化合物 15 和 22 的 DOT1L 抑制活性

对所合成的化合物 15a~15k 和 22a~22d 进行了 DOT1L 酶抑制活性测试^[24], 化合物 10 为阳性对照. 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时抑制率 75% 以上的化合物, 进一步测试了其 IC_{50} 值, 结果见表 1. 由表 1 可知, 所测试化合物 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时大多表现出中等或较弱的 DOT1L 抑制活性, 均低于阳性对照化合物 10 的酶抑制活性, 其半数抑制浓度(IC_{50})值为 7.25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 初步的构效关系分析表明, 三氮唑并噻二唑部分所连接的氨基脲侧链的体积较大, 可能不利于分子与酶的结合, 导致所合成的化合物活性要低于阳性对照化合物. 含双脲基链的化合物 15k, 在 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时其 DOT1L 抑制活性为 79.62%, IC_{50} 值为 25.92 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 活性相对较好, 这可能是 15k 中两个叔丁基的疏水性较强, 使其更有利于与 DOT1L 结合, 导致活性略有增强. 二聚类似物 22a~22d 在 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时也表现出一定的 DOT1L 抑制活性, 其中 22a 表现出了较好的酶抑制活性, IC_{50} 为 10.59 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 是所测四个二聚类似物中活性最好的, 提示这可能是一类新结构的 DOT1L 抑制剂. 进一步的合成活性研究正在进行之中.

表 1 化合物 15a~15k 和 22a~22d 的 DOT1L 抑制活性^a
Table 1 DOT1L Inhibitory activity of compounds 15a~15k and 22a~22d

Compd.	Inhibition rate/%	IC ₅₀ / (μmol·L ⁻¹)	Compd.	Inhibition rate/%	IC ₅₀ / (μmol·L ⁻¹)
15a	31.35	— ^a	15b	11.04	—
15c	0.32	—	15d	3.21	—
15e	11.35	—	15f	50.27	—
15g	22.02	—	15h	37.43	—
15i	62.35	—	15j	55.47	—
15k	79.62	25.92	22a	86.16	10.59
22b	69.86	—	22c	47.12	—
22d	39.36	—	10	86.71	7.25

^aTested concentration at 50 μmol·L⁻¹, “—” undetermined.

1.4 化合物 10, 15i, 15k, 22a 和 DOT1L 的结合模式分析

为了更直观地分析化合物 10、15k、15i 和 22a 的构效关系, 通过分子对接测试了以上 4 个化合物与 DOT1L 的可能结合模式^[26-28]. 因化合物 15k 和 15i 结构中含有与 EPZ004777 (2, 图 1)相似的氨基脲侧链, 所以对接的大分子选用了 DOT1L 与 EPZ004777 的复合物结构(PDB ID:4EKI)^[13], 结果如图 3 所示. 结合模式分析显示: 化合物 10、15k、15i 和 22a 均能较好地占据 DOT1L 的 SAM 结合口袋. 与其他化合物相比, 阳性对照化合物 10 的三氮唑并噻二唑连接的丙烯咪唑基团更小、更容易进入口袋, 同时苯基与 F243 具有 Pi-Pi 堆积相互作用, 从而使得化合物 10 能更好地占据 DOT1L 的 SAM 结合口袋. 而化合物 22a 的三氮唑并噻二唑连接的三氮

唑并噻二噻基团较大, 不易进入延伸结合口袋致其活性减小, 这与实验测得的 10 活性优于 22a 的结果一致. 对于连接有氨基脲链的衍生物 15i 和 15k 而言, 其氨基脲侧链空间位阻较大, 亦使其不容易进入 SAM 的延伸结合口袋; 并且三氮唑环上体积突出, 且易带正电的 *N,N*-二甲基苯胺基团, 使得 15i 和 15k 的活性更弱于 10 和 22a; 但化合物 15k 中两个叔丁基的疏水性较强, 有利于其与 DOT1L 结合, 使得 15k 的活性要优于化合物 15i 的.

2 结论

依据优势片段结合的药物设计理念, 设计合成了新的连接有氨基脲链的三氮唑并噻二唑衍生物 15a~15k, 以及三氮唑并噻二唑连三氮唑并噻二噻类结构衍生物 22a~22d. 化合物在 50 μmol·L⁻¹ 时, 表现出中等或较弱的 DOT1L 抑制活性, 其中化合物 15k 和二聚类似物 22a 是所测化合物中, 两个活性最好的衍生物, IC₅₀ 值分别为 25.92 和 10.59 μmol·L⁻¹. 分子对接实验提示, 氨基脲侧链的空间位阻可能阻碍了分子与酶的结合, 致使其活性降低.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

熔点由 SGW[®] X-4 显微熔点仪(温度计未校正)测定; 核磁共振谱用 BRUKER AC-P600 (600 MHz)型核磁共

图 3 活性化合物与 DOT1L 的结合模式

Figure 3 Putative binding poses of the active compounds

(A) Compounds 10, 15i, 15k and 22a were aligned with SAM (salmon) in the SAM binding pocket of DOT1L (4EKI); (B) 10; (C) 15i; (D) 15k; (E) 22a

振仪、Bruker advance II 400 FT-NMR 型核磁共振仪, 内标为 TMS; 质谱(ESI)用 Agilent G6300 离子阱液相质谱联用仪; 高分辨质谱(ESI)用 FTICR-MS (Ionspec 7.0T) 型质谱仪测定; 层析用硅胶(200~300 目)为青岛海洋化工厂产品。本工作所用其他试剂均为分析纯, 无水试剂均按常规方法处理, 水为二次蒸馏水。

3.2 实验方法

3.2.1 化合物 **13a**~**13d** 的合成

化合物 **12a**^[25] (3.8 g, 20 mmol) 和 60 mL 三氯氧磷置于 250 mL 圆底烧瓶中, 加入 1.2 equiv. 氯乙酸升温至 100 °C 反应 10 h。待薄层色谱(TLC)检测反应完全, 加 50 mL 水淬灭三氯氧磷, 然后用 40% 氢氧化钠溶液中和溶液至中性, 析出棕黄色固体, 减压抽滤。滤饼用水(10 mL×2)洗涤, 然后柱层析分离[V(乙酸乙酯): V(二氯甲烷)=1:10]得到化合物 **13a**。

按相同的方法, 分别以 **12b**~**12d** 为原料, 得到了相应的产物 **13b**~**13d**。

6-(氯甲基)-3-苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑(**13a**): 无色油状, 产率 53.2%。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 8.22 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.46 (d, *J*=6.6 Hz, 3H), 4.84 (s, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 166.0, 154.6, 146.5, 130.5, 128.9, 126.3, 125.2, 39.6; HR-ESI-MS calcd for C₁₀H₈ClN₄S [M+H]⁺ 251.0158, found 251.0153。

4-{6-(氯甲基)-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-3-基}-*N,N*-二甲基苯胺(**13b**): 黄色固体, 产率 51.0%。m.p. 166.5~167.7 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃+CD₃OH) δ: 8.01 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 6.71 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 4.86 (s, 2H), 2.99 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃+CD₃OH) δ: 169.8, 157.7, 155.7, 151.2, 131.5, 115.7, 115.6, 115.4, 43.7, 43.4; HR-ESI-MS calcd for C₁₂H₁₃ClN₅S [M+H]⁺ 294.0580, found 294.0586。

6-(氯甲基)-3-(3-甲氧基苯基)-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑(**13c**): 白色固体, 产率 49.7%。m.p. 124.7~125.5 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.84 (d, *J*=24.0 Hz, 2H), 7.40~7.38 (m, 1H), 7.00 (d, *J*=6.0 Hz, 1H), 4.85 (s, 2H), 3.86 (s, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 166.0, 159.9, 154.6, 146.4, 130.0, 126.4, 118.7, 116.8, 111.4, 55.5, 39.6; HR-ESI-MS calcd for C₁₁H₁₀ClN₄OS [M+H]⁺ 281.0264, found 281.0272。

6-(氯甲基)-3-(邻甲苯基)-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑(**13d**): 无色油状, 产率 57.8%。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.76 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.39 (t, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.35 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 7.31 (t, *J*=7.8 Hz, 1H), 4.80 (s, 2H), 2.53 (s, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ:

165.7, 154.1, 147.1, 138.1, 131.3, 130.5, 129.4, 125.9, 124.4, 39.6; HR-ESI-MS calcd for C₁₁H₁₀ClN₄S [M+H]⁺ 265.0315, found 265.0322。

3.2.2 化合物 **15a**~**15i** 的合成

于 50 mL 圆底烧瓶中, 称取 **13a** (0.1 g, 0.5 mmol) 溶于 15 mL 四氢呋喃(THF)中, 加入 *N,N*-二异丙基乙胺(DIPEA, 348 μL, 4.0 equiv.)和氨基脲链 **14**^[24] (0.2 g, 1.2 equiv), 升温至 50 °C 反应 36 h。TLC 监测反应完全后, 旋蒸除去 THF。残留物用 10 mL 二氯甲烷溶解, 依次用 0.1 mol/L 盐酸(5 mL×3)和水(5 mL×3)洗, 以无水硫酸钠干燥, 浓缩的残留物经硅胶色谱柱分离[V(乙酸乙酯): V(二氯甲烷)=2:1]得到白色固体化合物 **15a**。

按相同的方法, 分别以 **13a** 和 **13b**, 以及氨基脲链 **14** 和 **16**^[24] 为原料, 得到相应的产物 **15b**~**15i**。

1-[3,5-二(三氟甲基)苯基]-3-{2-{甲基[(3-苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基)甲基]氨基}乙基}脲(**15a**): 白色固体, 产率 33.4%。m.p. 146.3~147.8 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 9.41 (s, 1H), 8.12 (d, *J*=7.8 Hz, 2H), 7.97 (s, 2H), 7.49~7.44 (m, 3H), 7.38 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.55 (m, 2H), 2.80 (t, *J*=5.4 Hz, 2H), 2.43 (s, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 174.6, 155.6, 155.0, 146.5, 141.8, 132.0, 131.8, 131.1, 129.2, 126.3, 124.5, 124.2, 122.4, 117.9, 114.8, 57.2, 57.1, 43.2, 38.2; HR-ESI-MS calcd for C₂₂H₂₀F₆N₇OS [M+H]⁺, 544.1354, found 544.1352。

1-[3,5-二(三氟甲基)苯基]-3-{3-{甲基[(3-苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基)甲基]氨基}丙基}脲(**15b**): 白色固体, 产率 35.8%。m.p. 178.3~179.3 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 8.05 (d, *J*=7.8 Hz, 2H), 7.96 (s, 2H), 7.42 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 7.40~7.36 (m, 3H), 6.99 (s, 1H), 4.05 (s, 2H), 3.54 (d, *J*=4.2 Hz, 2H), 2.94 (s, 2H), 2.78 (q, *J*=6.6 Hz, 2H), 1.10 (t, *J*=6.6 Hz, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 176.0, 155.7, 154.9, 146.3, 141.9, 132.0, 131.7, 130.9, 129.1, 126.2, 124.4, 124.2, 122.4, 117.9, 114.7, 53.9, 53.8, 39.1, 29.7, 11.6; HR-ESI-MS calcd for C₂₃H₂₂F₆N₇OS [M+H]⁺ 558.1510, found 558.1505。

1-[4-(叔丁基)苯基]-3-{2-{甲基[(3-苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基)甲基]氨基}乙基}脲(**15c**): 白色固体, 产率 58.0%。m.p. 101.9~103.7 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 8.27 (d, *J*=12.0 Hz, 1H), 8.19~8.151 (m, 2H), 7.45~7.44 (m, 3H), 7.33 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.25 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 6.31 (s, 1H), 3.83 (s, 2H), 3.46 (dd, *J*=6.0 Hz, *J*=10.8 Hz, 2H), 2.70 (t, *J*=5.4 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 1.26 (s, 9H); ¹³C NMR (150 MHz,

CDCl_3) δ : 174.0, 156.6, 145.6, 137.0, 130.5, 128.9, 126.3, 125.8, 125.2, 119.6, 57.4, 57.1, 42.8, 37.9, 34.2, 31.4; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_7\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 464.2232, found 464.2238.

1-[4-(叔丁基)苯基]-3-{2-[(3-苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基)甲基]氨基}乙基}脲(**15d**): 白色固体, 产率 47.6%. m.p. 178.0~181.3 °C; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.36~8.28 (m, 1H), 8.15 (dd, $J=2.4$ Hz, $J=6.0$ Hz, 2H), 7.42~7.41 (m, 3H), 7.31 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.24 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.37 (d, $J=4.2$ Hz, 1H), 3.91 (s, 2H), 3.42 (q, $J=5.4$ Hz, 2H), 2.77 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.66 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.26 (s, 9H), 1.02 (t, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 175.6, 156.6, 154.9, 146.0, 145.5, 137.0, 130.4, 128.9, 126.3, 125.7, 125.2, 119.6, 53.7, 53.6, 48.7, 38.4, 31.4, 11.7; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 478.2388, found 478.2391.

1-[4-(叔丁基)苯基]-3-{3-[(3-苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基)甲基]氨基}丙基}脲(**15e**): 白色油状, 产率 38.8%. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.18 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 7.99 (s, 1H), 7.46~7.44 (m, 3H), 7.27 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.22 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.31 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 3.83 (s, 2H), 3.33 (dd, $J=6.0$ Hz, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.69 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.65 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.78~1.73 (m, 2H), 1.25 (s, 9H), 1.04 (t, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 175.8, 156.6, 154.8, 146.0, 145.4, 136.9, 130.4, 128.9, 126.3, 125.3, 119.5, 53.4, 51.4, 48.1, 37.8, 34.1, 28.0, 11.7; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_7\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 492.2545, found 492.2538.

1-[4-(叔丁基)苯基]-3-{2-[(3-(4-(二甲基氨基)苯基)-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基)甲基](甲基)氨基}乙基}脲(**15f**): 白色固体, 产率 64.0%. m.p. 125.7~127.3 °C; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.42 (s, 1H), 8.03 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.25 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.46 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 3.82 (s, 2H), 3.48 (dd, $J=5.4$, 10.8 Hz, 2H), 3.00 (s, 6H), 2.71 (t, $J=5.4$ Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 1.27 (s, 9H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.8, 156.8, 151.6, 146.8, 137.2, 127.6, 125.7, 119.5, 119.5, 112.6, 111.7, 57.3, 57.1, 42.8, 40.1, 37.9, 34.2, 31.5, 29.7; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_8\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 507.2654, found 507.2655.

1-[4-(叔丁基)苯基]-3-{2-[(3-(4-(二甲基氨基)苯基)-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基)甲基](乙基)氨基}乙基}脲(**15g**): 白色固体, 产率 63.6%. m.p.

179.8~181.3 °C; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.25 (s, 1H), 8.02 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.25 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.40 (s, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.46 (d, $J=4.8$ Hz, 2H), 3.00 (s, 6H), 2.80 (s, 2H), 2.68 (q, $J=6.6$ Hz, 2H), 1.27 (s, 9H), 1.04 (t, $J=6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 174.1, 156.5, 151.5, 146.7, 145.8, 136.8, 127.6, 125.8, 125.7, 120.2, 112.7, 111.7, 53.7, 53.6, 48.8, 40.1, 38.5, 34.2, 31.4, 29.7, 11.8; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 521.2811, found 521.2816.

1-[4-(叔丁基)苯基]-3-{3-[(3-(4-(二甲基氨基)苯基)-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基)甲基](甲基)氨基}丙基}脲(**15h**): 白色固体, 产率 38.5%. m.p. 205.4~206.7 °C; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.07~8.04 (m, 3H), 7.29 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.72 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.37 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.35 (dd, $J=6.0$, 12.0 Hz, 2H), 3.01 (s, 6H), 2.64 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.30 (s, 3H), 1.78~1.74 (m, 2H), 1.44 (s, 2H), 1.24 (s, 9H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 173.1, 156.7, 153.8, 151.6, 146.8, 145.1, 137.2, 127.6, 125.6, 119.4, 112.6, 111.7, 57.1, 55.1, 42.4, 40.1, 37.6, 34.1, 31.4, 28.4, 27.9; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 521.2811, found 521.2813.

1-[4-(叔丁基)苯基]-3-{3-[(3-(4-(二甲基氨基)苯基)-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基)甲基](乙基)氨基}丙基}脲(**15i**): 白色固体, 产率 33.7%. m.p. 174.5~175.8 °C; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.34 (s, 1H), 8.03 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.30 (d, $J=2.4$ Hz, 2H), 7.20 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.59 (s, 1H), 3.78 (s, 2H), 3.31 (d, $J=4.8$ Hz, 2H), 2.98 (s, 6H), 2.67 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.60 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.75~1.70 (m, 2H), 1.24 (s, 9H), 1.00 (t, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 174.7, 156.8, 153.8, 151.5, 146.7, 144.8, 137.3, 127.6, 125.6, 119.1, 112.6, 111.7, 77.4, 77.3, 77.2, 77.0, 53.3, 51.3, 48.1, 40.1, 37.8, 31.5, 29.7, 27.9, 11.7; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{N}_8\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 535.2967, found 535.2970.

3.2.3 化合物 **15j** 和 **15k** 的合成

于 50 mL 圆底烧瓶中, 称取 **13b** (0.3 g, 1.0 mmol) 溶于 15 mL 四氢呋喃(THF)中, 加入 DIPEA (661 μL , 4.0 equiv.) 为缚酸剂, 以及 *R*-3-(叔丁氧羰基氨基)哌啶(**17**) (0.2 g, 1.2 equiv.), 升温至 50 °C 反应 36 h. TLC 监测反应完全后, 旋蒸除去 THF. 残留物用 10 mL 乙酸乙酯溶解, 依次用 0.1 mol/L 盐酸(5 mL $\times$ 3)和水(5 mL $\times$ 3)洗, 以无水硫酸钠干燥, 浓缩得残留物经硅胶色谱柱分离

[*V*(乙酸乙酯):*V*(二氯甲烷)]=1:6], 得到哌啶环上氨基叔丁氧羰基氨基(Boc)保护的白色固体化合物。

于 25 mL 圆底烧瓶中, 称取上述化合物(0.5 g, 1 mmol)溶于 4 mL 二氯甲烷, 加入 2 mL 三氟醋酸, 室温下搅拌。TLC 监测反应完全后, 旋蒸除去二氯甲烷及三氟醋酸。经硅胶色谱柱分离[*V*(甲醇):*V*(二氯甲烷)]=1:10]得到无色油状化合物 **18**。

称取化合物 **18** (0.4 g, 1 mmol)于 25 mL 圆底烧瓶中, 加入 5 mL 三乙胺(TEA)和 1.7 mmol/mL 的对叔丁基异氰酸酯 **19** (720 μ L, 1.2 equiv.), 室温反应 0.5 h, TLC 检测反应结束。用等体积的乙酸乙酯和水的混合溶液(5 mL $\times$ 3)萃取, 收集乙酸乙酯相。用无水硫酸钠干燥有机相后, 浓缩得到的残留物经硅胶色谱柱分离[*V*(乙酸乙酯):*V*(二氯甲烷)]=1:1], 得到白色油状物 **15j**。

按相同的方法, 以 **13b** 和 Boc 保护的乙二胺 **20** 为起始原料, 经中间体化合物 **21**, 得到了相应的目标产物 **15k**。

(*R*)-1-[4-(叔丁基)苯基]-3-{1-{[3-[4-(二甲基氨基)苯基]-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基]甲基}哌啶-3-基}脲(**15j**): 白色油状, 产率 60.0%。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 8.40 (s, 1H), 8.09 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.31 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.22 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 6.72 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 6.32 (s, 1H), 4.03 (s, 1H), 3.70 (s, 2H), 2.98 (s, 6H), 2.92 (s, 1H), 2.85 (s, 1H), 2.43 (s, 3H), 1.68 (s, 2H), 1.49 (d, *J*=28.2 Hz, 2H), 1.23 (s, 9H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 172.0, 155.9, 153.9, 151.6, 146.9, 145.4, 137.0, 127.6, 125.7, 119.7, 112.7, 111.8, 59.2, 57.6, 53.9, 45.7, 40.1, 34.2, 31.4, 29.4, 22.4; HR-ESI-MS calcd for C₂₈H₃₇N₈O₂S [M+H]⁺ 533.2810, found 533.2804。

3-[4-(叔丁基)苯基]-1-{2-{[3-[4-(叔丁基)苯基]脲基]乙基}-1-{[3-[4-(二甲基氨基)苯基]-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基]甲基}脲(**15k**): 白色固体, 产率 23.7%。m.p. 155.3~155.9 $^{\circ}$ C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.64 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.52 (s, 1H), 7.32 (d, *J*=2.8 Hz, 4H), 7.14 (s, 4H), 6.62 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 5.81 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.30 (s, 1H), 3.57~3.19 (m, 5H), 2.89 (s, 6H), 1.21 (d, *J*=6.0 Hz, 18H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 167.7, 161.9, 156.7, 156.2, 151.6, 151.5, 145.7, 136.2, 129.8, 128.8, 126.7, 126.1, 125.7, 120.0, 112.3, 111.6, 40.0, 34.6, 34.2, 31.4, 31.2; HR-ESI-MS calcd for C₃₆H₄₆N₉O₂S [M+H]⁺ 668.3495, found 668.3496。

3.2.4 化合物 **22a**~**22d** 的合成

称取氢化钠(NaH, 0.2 g, 4.0 equiv.)于 25 mL 反应瓶中, 加入 5 mL THF, 冰浴下搅拌 10 min, 滴加化合物 **13a** (0.3 g, 1 mmol)的四氢呋喃溶液 5 mL, 继续冰浴条

件下反应 3 h, TLC 检测反应结束。加甲醇淬灭 NaH, 浓缩得到粗产物经柱层析分离[*V*(甲醇):*V*(二氯甲烷)]=1:10], 得到白色固体 **22a**。

按相同的方法, 分别以 **13b**~**13d** 为原料, 得到了相应的目标产物 **22b**~**22d**。

6-(氯甲基)-3-苯基-7-(3-苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-6-基)-7*H*-[11,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑(**22a**): 白色固体, 产率 70.5%。m.p. 131.4~132.6 $^{\circ}$ C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.15~8.13 (m, 2H), 7.81 (d, *J*=7.8 Hz, 2H), 7.65~7.64 (m, 3H), 7.36 (t, *J*=7.2 Hz, 1H), 7.10 (t, *J*=7.8 Hz, 2H), 6.28 (s, 1H), 5.05 (s, 2H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.6, 154.9, 154.0, 150.8, 144.8, 139.3, 130.8, 130.3, 129.0, 128.8, 127.7, 125.3, 125.2, 124.9, 44.9, 36.1; HR-ESI-MS calcd for C₂₀H₁₄ClN₈S₂ [M+H]⁺ 465.0471, found 465.0476。

4-{6-{6-(氯甲基)-3-[4-(二甲基氨基)苯基]-7*H*-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-7-基]-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-3-基}-*N,N*-二甲基苯胺(**22b**): 黄色固体, 产率 68.2%。m.p. 178.2~180.3 $^{\circ}$ C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.13 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.57 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 6.92 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 6.2 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 5.05 (s, 2H), 3.02 (s, 6H), 2.80 (s, 6H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃+CD₃OD) δ : 162.9, 153.4, 152.4, 152.0, 151.7, 138.4, 129.5, 127.2, 111.7, 111.6, 111.2, 45.2, 39.7, 39.6; HR-ESI-MS calcd for C₂₄H₂₄ClN₁₀S₂ [M+H]⁺ 551.1315, found 551.1312。

6-(氯甲基)-3-(3-甲氧基苯基)-7-[3-(3-甲氧基苯基)-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基]-7*H*-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑(**22c**): 黄色固体, 产率 77.4%。m.p. 128.0~130.8 $^{\circ}$ C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.67~7.63 (m, 2H), 7.54~7.50 (m, 1H), 7.32 (d, *J*=11.4 Hz, 1H), 7.20 (dd, *J*=3.0 Hz, *J*=9.0 Hz, 1H), 6.98 (dd, *J*=3.0 Hz, *J*=12.6 Hz, 1H), 6.90 (t, *J*=12.0 Hz, 1H), 6.26 (s, 1H), 5.06 (d, *J*=1.8 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.71 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.4, 159.9, 159.3, 154.2, 151.2, 145.3, 139.7, 130.6, 130.3, 126.8, 126.6, 120.6, 118.0, 116.9, 116.8, 113.5, 110.1, 55.8, 55.6, 45.3, 36.8; HR-ESI-MS calcd for C₂₂H₁₈ClN₈O₂S₂ [M+H]⁺ 525.0682, found 525.0689。

6-(氯甲基)-3-(邻甲基苯基)-7-[3-(邻甲基苯基)-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑-6-基]-7*H*-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑(**22d**): 黄色固体, 产率 75.4%。m.p. 205.4~206.7 $^{\circ}$ C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.48~7.40 (m, 3H), 7.35 (d, *J*=11.4 Hz, 1H), 7.30 (d, *J*=11.4 Hz, 1H), 7.23 (t, *J*=11.4 Hz, 1H), 7.17 (t, *J*=12.0

Hz, 1H), 7.08 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 6.24 (s, 1H), 4.86 (d, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.05 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.4, 154.6, 153.4, 152.4, 146.4, 138.7, 138.3, 137.7, 131.4, 131.1, 131.0, 129.9, 126.5, 126.0, 125.2, 124.9, 45.4, 37.0, 20.5, 20.0; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{ClN}_8\text{S}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 493.0784, found 493.0787.

3.2.5 DOT1L 抑制活性测试

DOT1L 酶抑制活性通过 AlphaLISA 酶活实验进行检测。实验 Buffer (50 mmol·L $^{-1}$ Tris-HCl, pH 8.0, 150 mmol·L $^{-1}$ NaCl, 3 mmol·L $^{-1}$ MgCl $_2$, 0.1% bovine serum albumin, BSA) 稀释后的化合物 **15a~15k** 和 **22a~22d** (50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 与纯化得到的 DOT1L 蛋白 (80 nmol·L $^{-1}$) 先加入到 384 孔板 (white opaque OptiPlate-384, PerkinElmer) 中, 室温孵育 10 min。向反应体系中加入 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SAM (AdoMet) 和 0.25 ng 核小体 (Reaction Biology), 室温孵育 30 min。然后向反应体系中加入高盐 Buffer (50 mmol·L $^{-1}$ Tris-HCl, pH 7.4, 1 mol·L $^{-1}$ NaCl, 0.1% Tween20, 0.3% poly-L-lysine), 室温孵育 15 min 终止酶活反应。向实验体系中加入组蛋白 H3 受体磁珠和 H3K79me2 抗体的混合物, 室温孵育 1 h。最后向实验体系中加入链酶亲和素供体磁珠, 并室温孵育 30 min, 通过 PerkinElmer 的酶标仪进行信号检测。

用实验 Buffer 梯度稀释化合物 **15k** 和 **22a**, 按相同的方法检测 DOT1L 酶抑制活性, 并通过 GraphPad Prism5 进行 IC $_{50}$ 曲线拟合。

3.2.6 结合模式分析

化合物 **10**、**15i**、**15k** 和 **22a** 与 DOT1L (PDB ID: 4EKI) 的对接通过 Maestro^[26] 完成。首先通过 Maestro 相应模块对蛋白和小分子化合物进行处理与准备, 同时预测小分子质子化状态及生成的立体异构体。然后采用 Maestro 中 Glide 模块的 SP 模式进行 Glide 对接^[27-30]。对接结果用于结合模式的分析。

辅助材料 (Supporting Information) 化合物 **15a~15k** 和 **22a~22d** 的核磁共振氢谱和碳谱, 化合物 **22c** 的二维核磁谱图。这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>) 上下载。

References

- [1] Min, J. R.; Feng, Q.; Li, Z. Z.; Zhang, Y.; Xu, R. M. *Cell* **2003**, *112*, 711.
- [2] Kim, W.; Choi, M.; Kim, J. E. *Cell Cycle* **2014**, *13*, 726.
- [3] Bernt, K. M.; Zhu, N.; Sinha, A. U.; Vempati, S.; Faber, J.; Krivtsov, A. V.; Feng, Z.; Punt, N.; Daigle, A.; Bullinger, L.; Pollock, R. M.; Richon, V. M.; Kung, A. L.; Armstrong, S. A. *Cancer Cell* **2011**, *20*, 66.
- [4] Lillico, R.; Lawrence, C. K.; Lakowski, T. M. *J. Proteome Res.* **2018**, *17*, 2657.
- [5] Anglin, J. L.; Song, Y. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 8972.
- [6] Zhou, S. H.; Sun, P. J.; Zhao, Y. Q.; Zhang, Y.; Yu, N. F. *Acta Pharm. Sin.* **2018**, *53*, 500 (in Chinese). (周仕海, 孙朋举, 赵勇强, 张岩, 余聂芳, 药学报, **2018**, *53*, 500.)
- [7] Ümit Kaniskan, H.; Martini, M. L.; Jin, J. *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 989.
- [8] Basavapathruni, A.; Jin, L.; Daigle, S. R.; Majer, C. R.; Therkelsen, C. A.; Wigle, T. J.; Kuntz, K. W.; Chesworth, R.; Pollock, R. M.; Scott, M. P.; Moyer, M. P.; Richon, V. M.; Copeland, R. A.; Olhava, E. J. *Chem. Biol. Drug Des.* **2012**, *80*, 971.
- [9] Daigle, S. R.; Olhava, E. J.; Therkelsen, C. A.; Majer, C. R.; Sneeringer, C. J.; Song, J.; Johnston, L. D.; Scott, M. P.; Smith, J. J.; Xiao, Y.; Jin, L.; Kuntz, K. W.; Chesworth, R.; Moyer, M. P.; Bernt, K. M.; Tseng, J. C.; Kung, A. L.; Copeland, R. A.; Richon, V. M.; Pollock, R. M. *Cancer Cell* **2011**, *20*, 53.
- [10] Stein, E. M.; Garcia-Manero, G.; Rizzieri, D. A.; Savona, M.; Tibes, R.; Altman, J. K.; Jongen-Lavrencic, M.; Dohner, H.; Armstrong, S.; Pollock, R. M.; Waters, N. J.; Legler, M.; Thomson, B.; Daigle, S.; McDonald, A.; Campbell, C.; Olhava, E.; Hedrick, E. E.; Lowenberg, B.; Copeland, R. A.; Tallman, M. S. *Blood* **2014**, *124*, 387.
- [11] Yao, Y.; Chen, P.; Diao, J.; Cheng, G.; Deng, L.; Anglin, J. L.; Prasad, B. V.; Song, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 16746.
- [12] Anglin, J. L.; Deng, L.; Yao, Y.; Cai, G.; Liu, Z.; Jiang, H.; Cheng, G.; Chen, P.; Dong, S.; Song, Y. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 8066.
- [13] Yu, W.; Chory, E. J.; Wernimont, A. K.; Tempel, W.; Scopton, A.; Federation, A.; Marineau, J. J.; Qi, J.; Barsyte-Lovejoy, D.; Yi, J.; Marcellus, R.; Jacob, R. E.; Engen, J. R.; Griffin, C.; Aman, A.; Wienholds, E.; Li, F.; Pineda, J.; Estiu, G.; Shatseva, T.; Hajian, T.; Al-Awar, R.; Dick, J. E.; Vedadi, M.; Brown, P. J.; Arrowsmith, C. H.; Bradner, J. E.; Schapira, M. *Nat. Commun.* **2012**, *3*, 1288.
- [14] Yu, W.; Smil, D.; Li, F.; Tempel, W.; Fedorov, O.; Nguyen, K. T.; Bolshan, Y.; Al-Awar, R.; Knapp, S.; Arrowsmith, C. H.; Vedadi, M.; Brown, P. J.; Schapira, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 1787.
- [15] Spurr, S. S.; Bayle, E. D.; Yu, W. Y.; Li, F. L.; Tempel, W.; Vedadi, M.; Schapira, M.; Fish, P. V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 4518.
- [16] Chen, J.; Park, H. J. *ACS Chem. Biol.* **2019**, *14*, 873.
- [17] Scheufler, C.; Möbitz, H.; Gaul, C.; Ragot, C.; Be, C.; Fernández, C.; Beyer, K. M.; Tiedt, R.; Stauffer, F. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, *7*, 730.
- [18] Chao, C.; Zhu, H.; Stauffer, F.; Caravatti, G.; Vollmer, S.; Machauer, R.; Holzer, P.; Möbitz, H.; Scheufler, C.; Klumpp, M.; Tiedt, R.; Beyer, K. S.; Calkins, K.; Guthy, D.; Kiffe, M.; Zhang, J.; Gaul, C. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, *7*, 735.
- [19] Möbitz, H.; Machauer, R.; Holzer, P.; Vaupel, A.; Stauffer, F.; Ragot, C.; Caravatti, G.; Scheufler, C.; Fernández, C.; Hommel, U.; Tiedt, R.; Beyer, K. S.; Chao, C.; Zhu, H.; Gaul, C. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, *8*, 338.
- [20] Chen, S. J.; Wang, Y. L.; Zhou, W.; Li, S. S.; Peng, J. L.; Shi, Z.; Hu, J. C.; Liu, Y. C.; Ding, H.; Lin, Y. Y.; Li, L. J.; Cheng, S. F.; Liu, J. Q.; Lu, T.; Jiang, H. L.; Liu, B.; Zheng, M. Y.; Luo, C. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 9028.
- [21] Chen, S.; Li, L.; Chen, Y.; Hu, J.; Liu, J.; Liu, Y. C.; Liu, R.; Zhang, Y.; Meng, F.; Zhu, K.; Lu, J.; Zheng, M.; Chen, K.; Zhang, J.; Jiang, H.; Yao, Z.; Luo, C. *J. Chem. Inf. Model.* **2016**, *56*, 527.
- [22] Wang, Y. L.; Li, L. J.; Zhang, B. D.; Xing, J.; Chen, S. J.; Wan, W.; Song, Y. K.; Jiang, H.; Jiang, H. L.; Luo, C.; Zheng, M. Y. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 2026.
- [23] Song, Y. K.; Li, L. J.; Chen, Y. T.; Liu, J. Q.; Xiao, S. H.; Lian, F. L.; Zhang, N. X.; Ding, H.; Zhang, Y. Y.; Chen, K. X.; Jiang, H. L.; Zhang, C. H.; Liu, Y. C.; Chen, S. J.; Luo, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 1751.
- [24] Zhang, L.; Chen, Y. T.; Liu, N.; Li, L. J.; Xiao, S. H.; Li, X. L.; Chen, K. X.; Luo, C.; Chen, S. J.; Chen, H. *Bioorg. Chem.* **2018**, *80*, 649.
- [25] Cui, P. L.; Li, X. L.; Zhu, M. Y.; Wang, B. H.; Liu, J.; Chen, H. *Eur.*

- J. Med. Chem.* **2017**, *127*, 159.
- [26] *Maestro*, Version 10.4, Schrödinger, LLC, New York, **2015**.
- [27] Friesner, R. A.; Banks, J. L.; Murphy, R. B.; Halgren, T. A.; Klicic, J. J.; Mainz, D. T.; Repasky, M. P.; Knoll, E. H.; Shelley, M.; Perry, J. K.; Shaw, D. E.; Francis, P.; Shenkin, P. S. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1739.
- [28] Friesner, R. A.; Murphy, R. B.; Repasky, M. P.; Frye, L. L.; Greenwood, J. R.; Halgren, T. A.; Sanschagrin, P. C.; Mainz, D. T. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6177.
- [29] Halgren, T. A.; Murphy, R. B.; Friesner, R. A.; Beard, H. S.; Frye, L. L.; Thomas Pollard, W.; Banks, J. L. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1750.
- [30] *Glide*, Version 6.9, Schrödinger, LLC, New York, **2015**.

(Li, L.; Fan, Y.)