

含 1*H*-苯并[*d*]咪唑或 1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑结构的新查尔酮衍生物的合成及 PTP1B 抑制活性研究付 洋^{a,b} 盛 丽^c 高立信^c 李 佳^{*,c} 孙良鹏^{*,a}^(a) 延边大学医学院 延吉 133002)^(b) 中国科学院长春应用化学研究所 长春 130000)^(c) 中国科学院上海药物研究所 国家新药筛选中心 上海 201203)

摘要 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B)作为胰岛素和瘦素信号转导通路的负调节因子, PTP1B 抑制剂有望成为治疗 II 型糖尿病和肥胖症的候选药物. 为了寻找非酸类 PTP1B 抑制剂, 设计、合成了一系列含 1*H*-苯并[*d*]咪唑或 1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑的查尔酮类化合物, 并对化合物进行了 PTP1B 抑制活性测定. 结果显示, 所有化合物对 PTP1B 均显示出较强的抑制活性, 其中 2-(1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(2'-萘基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10i**)活性最佳, IC₅₀ 为(2.98±0.04) μmol·L⁻¹. 更重要的是, 2-(1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(4-甲基苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10h**)在 20 μg/mL 的浓度下对 T 细胞蛋白酪氨酸磷酸酶(TCPTP)没有活性, 显示了较好的选择性.

关键词 PTP1B 抑制剂; 1*H*-苯并[*d*]咪唑; 1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑; 查尔酮

Synthesis and PTP1B Inhibitory Activity of Novel Chalcone Derivatives Bearing 1*H*-Benzo[*d*]imidazol or 1*H*-Benzo[*d*][1,2,3]triazol MoietiesFu, Yang^{a,b} Sheng, Li^c Gao, Lixin^c Li, Jia^{*,c} Sun, Liangpeng^{*,a}^(a) Medical College, Yanbian University, Yanji 133002)^(b) Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130000)^(c) National Center for Drug Screening, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203)

Abstract Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitor has recently been identified as new candidate drug for type II diabetes and obesity due to it is a negative regulator of the insulin and leptin-signaling pathway. In order to find new nonphosphonate-based pTyr mimetics, a series of novel chalcone derivatives bearing 1*H*-benzo[*d*]imidazol or 1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol moieties were designed, synthesized, and evaluated for their PTP1B inhibitory activities. The results demonstrated that all compounds presented potent inhibitory activities against PTP1B, among which 2-(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-yl)-*N'*-(4-(3-(naphthalen-2-yl)-3-oxoprop-1-en-1-yl)benzylidene)acetohydrazide (**10i**) exhibited the best potency with IC₅₀ value of (2.98±0.04) μmol·L⁻¹. Importantly, 2-(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-yl)-*N'*-(4-(3-oxo-3-(*p*-tolyl)prop-1-en-1-yl)benzylidene)acetohydrazide (**10h**) showed no significant inhibition on T-cell protein tyrosine phosphatase (TCPTP) at the concentration of 20 μg/mL, suggesting the highly selectivity of this agent toward PTP1B.

Keywords PTP1B inhibitor; 1*H*-benzo[*d*]imidazol; 1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol; chalcone

蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B (PTP1B)在胰岛素信号转导通路中起着关键的负调控作用, 通过对胰岛素受体的去磷酸化作用使胰岛素受体失活, 降低胰岛素的敏感

性, 产生胰岛素抵抗. PTP1B 在体内过度表达, 还会造成瘦素受体不能对瘦素应答而引起肥胖症^[1,2]. 因此, PTP1B 已经成为治疗 II 型糖尿病和肥胖症等相关疾病

* Corresponding authors. E-mail: lpsun@ybu.edu.cn; jli@simm.ac.cn

Received November 26, 2018; revised December 21, 2018; published online January 8, 2019.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81460524, 81773779) and the Scientific Research Fund Project of Education Department of Jilin Province (No. 2015-50).

国家自然科学基金(Nos. 81460524, 81773779)和吉林省教育厅“十二五”科学技术研究项目(No. 2015-50)资助项目.

的重要的药物靶点. 近年来, 随着 PTP1B 酶三维结构的阐明, 发现了大量的 PTP1B 抑制剂^[3]. 然而, 这些化合物多数具有较高的负电荷, 导致细胞通透性差, 药代动力学性质欠佳, 难于成药. 研究者试图利用杂环结构来有效替代磷酸、羧酸等具有较高负电荷基团, 有可能解决因极性高而导致膜通透性差的难题. 通过复合物 X 射线晶体结构分析发现, 1,2,5-噻二唑烷-3-酮-1,1-二氧化物(**1**, TDZ)和异噻二唑烷-3-酮-1,1-二氧化物(**2**, IZD)都可以以非常完美的嵌入 PTP1B 的活性位点, 并且与之结合^[4~7]. 这些结果为寻找类药性好、非酸类 PTP1B 抑制剂的研究提供了重要思路.

基于 PTP1B 酶的催化结构域、第二活性位点以及其周边的结构域设计的多位点结合型 PTP1B 抑制剂不仅可以增强抑制剂与酶的亲和性, 而且还可以改善选择性^[8~10]. 根据本实验室前期研究发现^[11~14], 查尔酮类化合物由于具有较好的分子柔性及易与不同的受体结合的特点, 可以作为理想的分子模板; 若在其结构上引入能与酶活性部位相匹配的杂环, 则可以发现活性较好的新型 PTP1B 抑制剂. 考虑到 1*H*-苯并[*d*]咪唑(**3**)和 1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑(**4**)具有广泛生理活性, 如抗炎、抗菌、抗 HIV-1、抗肿瘤、抗惊厥、肝保护及降糖作用^[15,16], 且结构中的含有 2~3 个氮原子, 氮原子作为电子供体易与氨基酸残基形成氢键作用, 可以增加配体与受体结合的机会. 因此, 根据活性亚结构拼接和活性叠加原理, 将查尔酮和 1*H*-苯并[*d*]咪唑或 1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑通过脲键构筑于同一分子中, 设计了目标化合物(图 1).

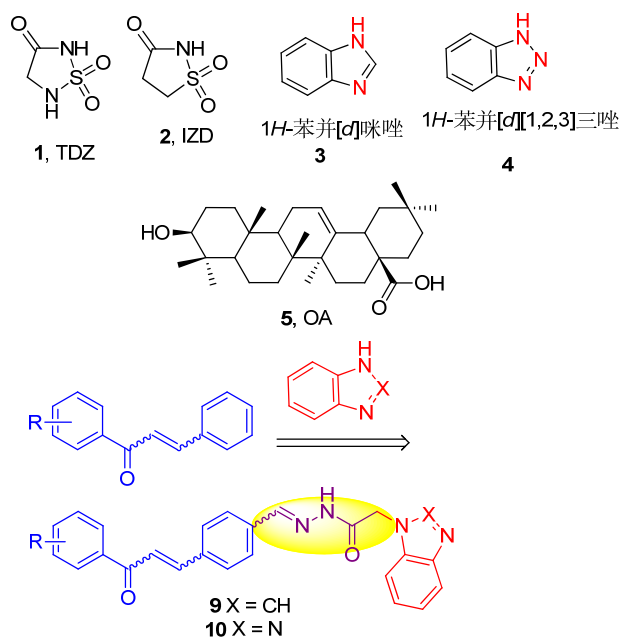
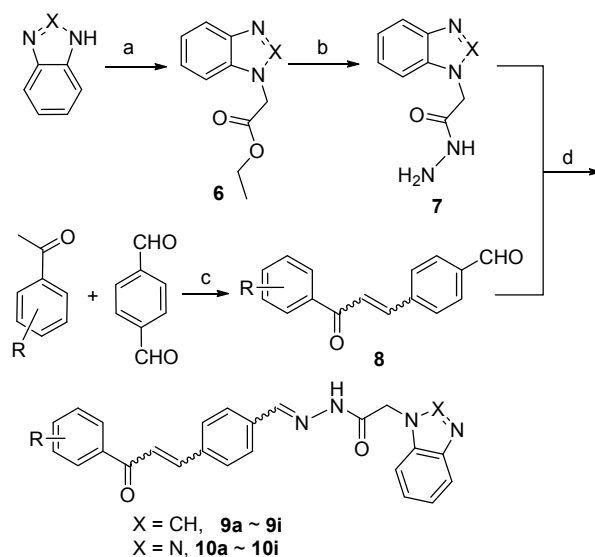


图 1 目标化合物的设计
Figure 1 Design of target compounds

合成了 18 个未见报道的化合物, 其结构经 ¹H NMR, ¹³C NMR, HRMS 确认, CH=N 和 CH=CH 结构单元的顺反异构未经证实. 合成路线如 Scheme 1 所示.



R = 4-F (**9a**), 2,4-Cl₂ (**9b**), 3-Br (**9c**), 4-Br (**9d**), H (**9e**), 3-CH₃ (**9f**), 4-CH₃ (**9g**), 3-OCH₃ (**9h**), C₆H₅ (3,4-fused) (**9i**)
R = 4-F (**10a**), 3-Cl (**10b**), 4-Cl (**10c**), 2,4-Cl₂ (**10d**), 4-Br (**10e**), H (**10f**), 3-CH₃ (**10g**), 4-CH₃ (**10h**), C₆H₅ (3,4-fused) (**10i**)

Reagents and conditions: (a) ethyl chloroacetate, DMF, TEA, 80 °C, 8 h; (b) N₂H₄·H₂O, EtOH, 80 °C, 12 h; (c) NaOH, EtOH, HCl; (d) EtOH, CH₃COOH, 50 °C, 4 h.

图式 1 目标化合物 9 和 10 的合成路线
Scheme 1 Synthetic route for target compounds 9 and 10

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成与表征

1*H*-苯并[*d*]咪唑和 1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑分别与氯乙酸乙酯反应合成了化合物 **6**, 化合物 **6** 肼解得化合物 **7**; 取代苯乙酮和对苯二甲醛为起始原料经过 Claisen-Schmidt 反应, 合成了 4-(3-取代苯基-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯甲醛(**8**); 再在冰醋酸的作用下, 化合物 **7** 与 **8** 缩合得到目标化合物 **9** 和 **10**. 通过 ¹H NMR, ¹³C NMR 和 HRMS 分析方法对所合成的化合物进行了表征. ¹H NMR 谱图中, HC=N 上的质子信号分别在 δ 5.6 和 6.1 左右处呈现单峰, N—NH 上的质子信号在 δ 12.0 左右处呈现单峰, 在 δ 7.00~8.90 处为芳环氢和查尔酮双键氢的质子信号; HRMS 谱图中, 所有的化合物均出现了 [M+H]⁺ 峰.

1.2 生物活性测试

目标化合物未分离得到单一构型的异构体, 以混合物的形式直接进行活性测试. 在 20 μg/mL 的浓度下, 对 PTP1B 进行初筛, 再对抑制率高于 50% 的化合物进行复筛, 得到 IC₅₀. 从表 1 可知, 所有化合物对 PTP1B 均有

抑制活性. 在 20 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下, 抑制率为 58.76%~97.99%; IC_{50} 为 $(2.98 \pm 0.04) \sim (22.72 \pm 3.14) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中化合物 **10i** ($2.98 \pm 0.04 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 活性最强, 近似于阳性对照物 ($2.69 \pm 0.15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). 分析化合物 **9** 和 **10** 的构效关系, 查尔酮 A 环上的取代基的类型与取代位置对活性影响的规律性不明显; 比较化合物 **9e**, **9i**, **10f** 和 **10i** 的 IC_{50} 值发现, 含有萘环的 **9i** 和 **10i** 的活性优于含有苯环的 **9e** 和 **10f**, 推测可能由于查尔酮末端芳环部分延伸至催化中心周边的疏水性区域, 萘环比苯环能与之形成更加稳定的疏水性作用所致^[12]. 比较化合物 **9a** 与 **10a**, **9b** 与 **10d**, **9d** 与 **10e**, **9e** 与 **10f**, **9f** 与 **10g**, **9g** 与 **10h**, **9i** 与 **10i** 的 IC_{50} 发现, 化合物 **10** 比化合物 **9** 对 PTP1B 显示了更强的活性. 该结论与分子对接结果相吻合, 通过比较化合物 **9a** 和 **10a** 与酶的分子对接结果可以发现, 化合物 **10a** 的三唑环上 2 位的氮原子与酶催化活性中心的氨基酸残基 ALA217 额外多形成了一根氢键.

表 1 化合物 **9** 和 **10** 对 PTP1B 的抑制活性^a

Table 1 Inhibitory activities of compounds **9** and **10** against PTP1B

Compd.	X	R	PTP1B	
			Inhibition rate ^a /%	IC_{50} ^b /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
9a	CH	4-F	58.76 ± 4.74	22.72 ± 3.14
9b	CH	2,4-Cl ₂	83.88 ± 2.22	8.51 ± 0.88
9c	CH	3-Br	81.34 ± 7.38	19.46 ± 3.17
9d	CH	4-Br	76.86 ± 4.16	8.31 ± 0.04
9e	CH	H	69.28 ± 2.77	10.19 ± 3.14
9f	CH	3-CH ₃	97.99 ± 1.21	9.33 ± 0.12
9g	CH	4-CH ₃	93.46 ± 2.50	6.30 ± 0.24
9h	CH	3-OCH ₃	77.80 ± 3.23	17.23 ± 0.07
9i	CH	C ₆ H ₆ (3,4-fused)	79.46 ± 1.98	8.05 ± 0.39
10a	N	4-F	81.68 ± 1.80	5.92 ± 1.43
10b	N	3-Cl	73.48 ± 5.08	3.32 ± 0.41
10c	N	4-Cl	80.70 ± 1.57	8.53 ± 0.68
10d	N	2,4-Cl ₂	73.94 ± 2.94	5.14 ± 1.11
10e	N	4-Br	92.61 ± 3.97	4.58 ± 0.76
10f	N	H	80.62 ± 3.64	6.18 ± 1.42
10g	N	3-CH ₃	87.53 ± 3.92	3.19 ± 0.12
10h	N	4-CH ₃	78.94 ± 4.24	4.30 ± 0.21
10i	N	C ₆ H ₆ (3,4-fused)	75.14 ± 5.21	2.98 ± 0.04
OA ^c			2.69 ± 0.15	

^a Values tested at 20 $\mu\text{g/mL}$ concentration. ^b The pNPP assay. IC_{50} values were determined by regression analyses and expressed as means $\pm$ SD of three replications. ^c Positive control.

选取活性较好的化合物 **9g**, **9i**, **10h**, **10i** 对其他相关 PTP, 如 TCPTP, 细胞周期分裂蛋白 25B (cell division cycle 25 homolog B, CDC25B) 和白细胞共同抗原相关蛋白 (leukocyte antigen-related phosphatase, LAR), 及含

SH2 结构域蛋白酪氨酸磷酸酶 1 和 2 (Src homology phosphatase, SHP-1 和 SHP-2) 进行选择评价, 结果如表 2 所示, 除了 **10h** 以外, **9g**, **9i**, **10i** 在 20 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下对 CDC25B, LAR, SHP-1 和 SHP-2 没有抑制活性, 显示了较好的选择性; 对于 TCPTP, **9g**, **9i**, **10i** 显示了近 2~4 倍的选择性, 而化合物 **10h** 在 20 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下对 TCPTP 没有活性, 显示了较好的选择性.

为了阐述该类化合物与酶的作用机理, 利用 Discovery Studio 2016 (DS) 软件将复合物晶体结构 (ID: 1NNY) 及配体小分子 (**9a** 和 **10a**) 进行分子对接. 如图 2 所示, 化合物的苯并咪唑乙酰肼和苯并三唑乙酰肼部分均能占据 PTP1B 催化活性中心, 羰基与 ARG221, GLN266 形成氢键相互作用, 与 GLY220 形成 C—H 键相互作用; 苯并咪唑环和苯并三唑环分别与 ALA217 形成 Alkyl 相互作用, 苯环还与 TYR46 发生 π - π 相互作用. 值得注意的是, 比较二者发现, 苯并三唑环上 2 位的 N

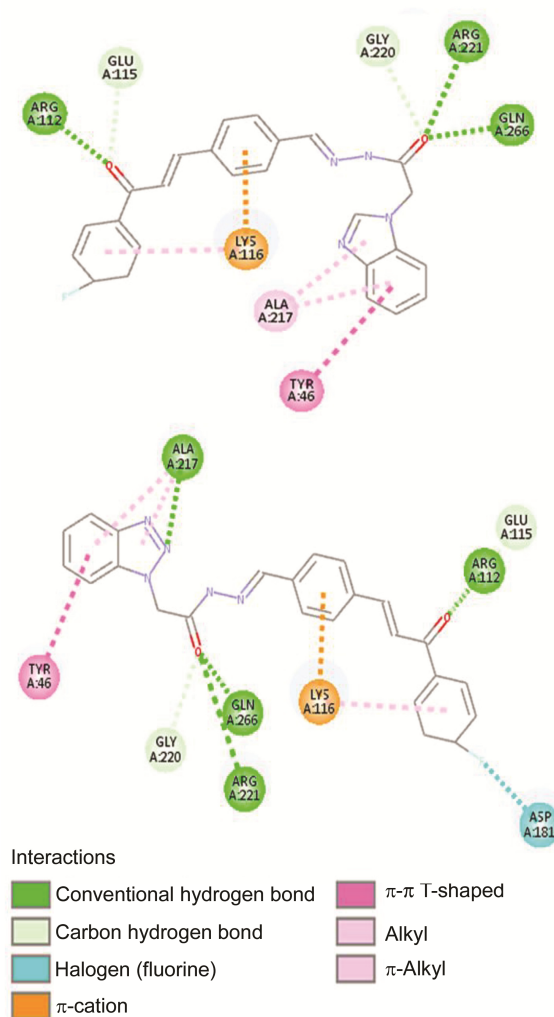


图 2 化合物 **9a** 和 **10a** 与 PTP1B 的分子对接
Figure 2 Docking result of compound **9a** and **10a** in the PTP1B catalytic pocket

表 2 部分化合物对相关 PTPs 的抑制活性[IC₅₀/(μmol·L⁻¹)]^a
Table 2 Inhibitory activity [IC₅₀/(μmol·L⁻¹)] of selected compounds against related PTPs

Compd.	PTP1B	TCPTP	CDC25B	LAR	SHP-1	SHP-2
9g	6.30±0.24	13.27±0.52	NA ^b	NA	NA	NA
9i	8.05±0.39	20.72±0.35	NA	NA	NA	NA
10h	4.30±0.21	NA	42.93±6.99	NA	NA	NA
10i	2.98±0.04	10.43±0.04	NA	NA	NA	NA

^a The pNPP assay. IC₅₀ values were determined by regression analyses and expressed. ^b Not active at 20 μg/mL concentration.

原子与 ALA217 额外多形成一条氢键相互作用。查尔酮部分延伸至催化活性中心周边区域, LYS116 分别与查尔酮的 A、B 环形成 π -Cation 和 π -Alkyl 相互作用, 羰基分别与 ARG112 和 GLU115 形成氢键和 C—H 键相互作用。分子对接结果符合我们的设计预期, 目标化合物与 PTP1B 酶通过氢键及疏水性作用等相互结合。

2 结论

在查尔酮的 B 环上通过脲结构引入了 1*H*-苯并[*d*]咪唑和 1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑杂环, 设计合成了 18 个新型的查尔酮衍生物, 目标化合物经 ¹H NMR, ¹³C NMR 和 HRMS 确定其结构。活性结果表明, 该类化合物对 PTP1B 具有较好的抑制作用; 对于其他相关 PTP 显示了较好的选择性, 特别是化合物 10h 在 20 μg/mL 的浓度下对 TCPTP 没有活性。分子对接结果表明, 苯并咪唑乙酰肼和苯并三唑乙酰肼部分占据酶的催化活性中心, 查尔酮部分延伸至周边区域, 与酶形成了多位点结合。通过该研究, 发现了具有良好 PTP1B 抑制活性的含有 1*H*-苯并[*d*]咪唑和 1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑杂环的查尔酮衍生物, 并初步确立此类化合物抑制 PTP1B 活性的构效关系, 为进一步结构优化奠定了基础。

3 实验部分

3.1 仪器和试剂

熔点用毛细管法测定, 温度计未经校正; ¹H NMR, ¹³C NMR 用 BRUKER AV-300 型核磁共振仪测定(TMS 为内标, DMSO-*d*₆ 为溶剂); ESI-HRMS 用 Thermo scientific LTQ Orbitrap XL 高分辨质谱仪测定。本实验所用试剂均为 AR 级或 CP 级, 阳性对照药齐墩果酸(oleanolic acid, 5)为 HPLC ≥ 98% 的标准品。

3.2 化合物的合成

3.2.1 4-(3-取代苯基-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯甲醛(8)的合成

查尔酮 8 根据文献[13, 14]报道的方法制备。

3.2.2 2-(1*H*-苯并[*d*]咪唑-1-基)乙酸乙酯或 2-(1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑-1-基)乙酸乙酯(6)的合成

将 11.8 mmol 1*H*-苯并[*d*]咪唑(或 1*H*-苯并[*d*][1,2,3]

三唑)、23.6 mmol 氯乙酸乙酯、3.1 mL 三乙胺和 2 mL *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)分别加入到 100 mL 圆底烧瓶中。N₂ 保护, 升温至 80 °C, 反应 8 h, 薄层色谱(TLC)跟踪反应至完毕。减压蒸除 DMF, 加少量水和 CH₂Cl₂ 萃取 3 次。合并有机层, 无水硫酸镁干燥, 抽滤, 减压蒸除溶剂后得到粗品, 粗品经硅胶柱层析分离[*V*(二氯甲烷): *V*(甲醇)=100:1]得到化合物 6。

3.2.3 2-(1*H*-苯并[*d*]咪唑-1-基)乙酰肼或 2-(1*H*-苯并[*d*][1,2,3]三唑-1-基)乙酰肼(7)的合成

将 2.16 mmol 化合物 6、2 mL 水合肼和 10 mL 无水乙醇分别加入到 100 mL 圆底烧瓶中, N₂ 保护, 升温至 80 °C, 反应 12 h, TLC 跟踪反应至结束, 减压蒸除溶剂后得粗品, 粗品经硅胶柱层析分离[*V*(二氯甲烷): *V*(甲醇)=100:1]得到化合物 7。

3.2.4 化合物 9a~9i 和 10a~10i 的合成

分别取 1 mmol 的化合物 7 和 8 于 100 mL 圆底烧瓶, 加入适量的无水乙醇, 催化量的冰乙酸, N₂ 保护, 加热至 50 °C, 反应 4 h。TLC 监测至反应完全, 趁热抽滤, 少量无水乙醇洗涤, 干燥, 重结晶得到目标化合物 9a~9i 和 10a~10i。

2-(1*H*-苯并[*d*]咪唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(4-氟苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(9a): 收率 93.9%, 浅黄绿色粉末。m.p. 270.5~272.1 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 11.92 (s, 1H, NH), 8.32~8.28 (m, 2H, ArH), 8.24 (s, 1H, NH, ImidazoH), 8.11 (s, 1H, CH=N), 8.01~7.23 (m, 12H, ArH, CH=CH), 5.62 (s, 2H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.13, 169.14, 166.60 (d, *J*_{CF}=251.25 Hz), 145.61, 143.83, 143.81, 143.68, 136.57, 136.42, 135.22, 134.69, 134.37, 132.12 (d, *J*_{CF}=10 Hz), 129.90, 127.90, 123.06, 122.71, 121.82, 119.72, 116.41 (d, *J*_{CF}=21.25 Hz), 111.07, 45.93; ESI-HRMS calcd for C₂₅H₂₀FN₄O₂ [M+H]⁺ 427.1565, found 427.1569。

2-(1*H*-苯并[*d*]咪唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(2,4-二氯苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(9b): 收率 56.0%, 浅黄绿色粉末。m.p. 219.3~221.1 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 11.88 (s, 1H, NH), 8.21 (s, 1H, ImidazoH), 8.09 (s, 1H, CH=N), 7.87~7.21 (m, 13H, ArH,

CH=CH), 5.59 (s, 2H, CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 192.81, 169.13, 146.39, 145.60, 143.68, 137.78, 136.87, 136.18, 135.94, 135.21, 131.74, 131.22, 130.19, 129.90, 128.05, 127.18, 122.72, 121.83, 119.72, 111.04, 49.08; ESI-HRMS calcd for C₂₅H₁₉Cl₂N₄O₂ [M + H]⁺ 477.0880, found 477.0885.

2-(1*H*-苯并[d]咪唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(3-溴苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**9c**): 收率 43.4%, 浅黄色粉末. m.p. 268.4~271.1 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 11.90 (s, 1H, NH), 8.24 (s, 1H, ImidazoH), 8.11 (s, 1H, CH=N), 8.07~7.22 (m, 14H, ArH, CH=CH), 5.60 (s, 2H, CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 206.93, 169.13, 145.61, 144.46, 143.73, 139.80, 136.51, 135.31, 135.21, 134.35, 133.41, 131.38, 130.05, 128.69, 127.87, 127.66, 122.77, 121.81, 119.73, 111.06, 45.92; ESI-HRMS calcd for C₂₅H₂₀BrN₄O₂ [M + H]⁺ 487.0764, found 487.0754.

2-(1*H*-苯并[d]咪唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(4-溴苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**9d**): 收率 90.0%, 浅黄色粉末. m.p. 235.3~263.1 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 11.91 (s, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, ImidazoH), 8.11 (s, 1H, CH=N), 8.14~7.22 (m, 14H, ArH, CH=CH), 5.61 (s, 2H, CH₂); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 188.75, 169.14, 145.61, 144.17, 143.79, 143.68, 136.51, 136.50, 132.37, 131.09, 129.95, 127.90, 122.94, 122.71, 111.07, 45.93; ESI-HRMS calcd for C₂₅H₂₀BrN₄O₂ [M + H]⁺ 487.0764, found 487.0759.

2-(1*H*-苯并[d]咪唑-1-基)-*N'*-(4-(3-苯基-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**9e**): 收率 64.2%, 浅黄绿色粉末. m.p. 266.5~268.0 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 11.90 (s, 1H, NH), 8.24 (s, 1H, ImidazoH), 8.11 (s, 1H, CH=N), 8.20~7.22 (m, 13H, ArH, CH=CH), 5.61 (s, 2H, CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 189.58, 169.18, 147.22, 145.63, 143.78, 137.94, 136.60, 136.37, 133.75, 129.88, 129.32, 129.07, 127.91, 123.21, 122.73, 121.84, 119.69, 111.10, 45.95; ESI-HRMS calcd for C₂₅H₂₁N₄O₂ [M + H]⁺ 409.1659, found 409.1649.

2-(1*H*-苯并[d]咪唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(3-甲基苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**9f**): 收率 69.0%, 浅黄色粉末. m.p. 247.5~249.5 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 11.91 (s, 1H, NH), 8.24 (s, 1H, ImidazoH), 8.11 (s, 1H, CH=N), 8.05~7.22 (m, 14H, ArH, CH=CH), 5.59 (s, 2H, CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 189.58, 169.16, 145.63, 143.67, 138.73, 137.98, 136.63, 136.33, 135.23, 134.36, 129.86,

129.32, 127.96, 126.30, 123.28, 122.73, 121.84, 119.71, 111.11, 45.94, 21.39; ESI-HRMS calcd for C₂₆H₂₃N₄O₂ [M + H]⁺ 423.1816, found 423.1811.

2-(1*H*-苯并[d]咪唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(4-甲基苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**9g**): 收率 49.8%, 浅黄色粉末. m.p. 239.5~241.5 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 11.87 (s, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, ImidazoH), 8.11 (s, 1H, CH=N), 8.23~7.22 (m, 14H, ArH, CH=CH), 5.61 (s, 2H, CH₂), 2.41 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 189.02, 169.13, 145.61, 144.19, 143.84, 143.68, 143.29, 129.87, 129.81, 129.21, 127.90, 123.32, 122.71, 121.81, 111.08, 45.93, 21.69; ESI-HRMS calcd for C₂₆H₂₃N₄O₂ [M + H]⁺ 423.1816, found 423.1807.

2-(1*H*-苯并[d]咪唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(3-甲氧基苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**9h**): 收率 73.7%, 浅黄色粉末. m.p. 230.4~231.2 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 11.89 (s, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, ImidazoH), 8.11 (s, 1H, CH=N), 8.02~7.22 (m, 14H, ArH, CH=CH), 5.61 (s, 2H, CH₂), 3.86 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 189.32, 169.14, 160.05, 145.61, 143.76, 143.66, 139.41, 136.48, 135.22, 134.81, 130.45, 129.91, 127.88, 123.28, 122.71, 121.70, 119.73, 113.52, 111.08, 55.86, 49.07; ESI-HRMS calcd for C₂₆H₂₃N₄O₂ [M + H]⁺ 439.1765, found 439.1770.

2-(1*H*-苯并[d]咪唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(2'-萘基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**9i**): 收率 89.6%, 浅黄绿色粉末. m.p. 257.9~259.0 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 11.89 (s, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, ImidazoH), 8.11 (s, 1H, CH=N), 8.18~7.21 (m, 17H, ArH, CH=CH), 5.60 (s, 2H, CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 189.13, 169.13, 145.63, 143.70, 143.55, 136.71, 136.38, 135.56, 135.31, 132.80, 131.02, 130.10, 129.87, 128.97, 128.21, 127.92, 127.47, 124.61, 123.32, 122.73, 121.83, 119.75, 111.07, 45.96; ESI-HRMS calcd for C₂₉H₂₃N₄O₂ [M + H]⁺ 459.1816, found 459.1806.

2-(1*H*-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(4-氟苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10a**): 收率 56.2%, 浅黄色粉末. m.p. 210.4~211.5 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 12.00 (s, 1H, NH), 8.13 (s, 1H, CH=N), 8.32~7.39 (m, 14H, ArH, CH=CH), 6.11 (s, 2H, CH₂); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 188.12, 168.06, 166.59 (d, *J*_{CF}=250 Hz), 145.58, 144.23, 143.82, 136.63, 136.34, 134.68, 134.66, 134.56, 132.12 (d, *J*_{CF}=10 Hz), 129.87, 127.99, 127.72, 124.28, 123.07, 119.47,

116.40 (d, $J_{\text{CF}} = 21.25$ Hz), 111.56, 49.33; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{FN}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 428.1517, found 428.1505.

2-(1*H*-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(3-氯苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10b**): 收率 84.3%; 浅黄色粉末. m.p. 245.1~246.4 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 12.02 (s, 1H, NH), 8.13 (s, 1H, CH=N), 8.32~7.42 (m, 14H, ArH, CH=CH), 6.11 (s, 2H, CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.31, 168.11, 145.56, 144.47, 144.18, 141.89, 139.75, 136.46, 134.34, 133.45, 131.29, 130.05, 128.70, 127.83, 124.30, 122.78, 119.47, 111.57, 49.07; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{ClN}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 444.1222, found 444.1217.

2-(1*H*-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(4-氯苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10c**): 收率 81.4%, 浅黄色粉末. m.p. 272.7~275.3 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 12.00 (s, 1H, NH), 8.13 (s, 1H, CH=N), 8.22~7.42 (m, 14H, ArH, CH=CH), 6.11 (s, 2H, CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.50, 168.08, 145.57, 144.17, 143.40, 138.68, 136.51, 134.55, 130.98, 129.93, 129.41, 128.04, 127.72, 124.28, 122.95, 119.47, 111.56, 49.07; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{ClN}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 444.1222, found 444.1226.

2-(1*H*-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(2,4-二氯苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10d**): 收率 54.9%, 浅黄色粉末. m.p. 240.5~241.3 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 12.00 (s, 1H, NH), 8.11 (s, 1H, CH=N), 7.32~8.30 (m, 13H, ArH, CH=CH), 6.09 (s, 2H, CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 192.80, 168.07, 146.38, 145.60, 144.10, 137.78, 136.79, 136.09, 134.55, 131.75, 131.23, 130.19, 129.89, 128.09, 127.71, 127.20, 124.27, 119.46, 111.53, 49.33; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 478.0832, found 478.0839.

2-(1*H*-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(4-溴苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10e**): 收率 81.5%, 浅黄色粉末. m.p. 282.2~283.5 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 12.02 (s, 1H, NH), 8.13 (s, 1H, CH=N), 8.11~7.40 (m, 14H, ArH, CH=CH), 6.12 (s, 2H, CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.69, 168.07, 145.57, 144.16, 136.93, 136.55, 136.40, 134.55, 132.34, 131.07, 129.92, 127.94, 127.72, 124.27, 122.89, 119.47, 111.56, 49.08; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{BrN}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 488.0717, found 488.0722.

2-(1*H*-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-苯基-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10f**): 收率 92.9%, 浅

黄绿色粉末. m.p. 235.5~237.0 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 12.01 (s, 1H, NH), 8.13 (s, 1H, CH=N), 8.20~7.43 (m, 15H, ArH, CH=CH), 6.12 (s, 2H, CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 189.56, 168.10, 145.56, 144.22, 143.69, 137.94, 136.65, 136.28, 134.56, 133.74, 129.86, 129.19, 127.87, 124.28, 123.22, 119.46, 111.57, 49.35; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 410.1612, found 410.1608.

2-(1*H*-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(3-甲基苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10g**): 收率 96.8%, 浅黄色粉末. m.p. 223.3~224.3 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 12.01 (s, 1H, NH), 8.13 (s, 1H, CH=N), 8.09~7.42 (m, 14H, ArH, CH=CH), 6.10 (s, 2H, CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 189.58, 168.08, 145.56, 144.23, 143.52, 138.73, 137.98, 136.69, 134.45, 129.84, 129.46, 129.18, 127.98, 127.73, 126.31, 124.29, 123.34, 119.46, 111.57, 49.06, 21.38; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 424.1768, found 424.1758.

2-(1*H*-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(4-甲基苯基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10h**): 收率 74.3%, 浅黄色粉末. m.p. 251.3~252.6 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 12.00 (s, 1H, NH), 8.13 (s, 1H, CH=N), 8.11~7.38 (m, 14H, ArH, CH=CH), 6.11 (s, 2H, CH₂), 2.41 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.96, 168.09, 145.56, 144.21, 143.32, 136.72, 136.19, 135.43, 134.56, 129.83, 129.21, 127.86, 124.29, 123.22, 119.46, 111.57, 49.33, 21.68; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 424.1768, found 424.1756.

2-(1*H*-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-*N'*-(4-(3-(2'-萘基)-3-氧亚基-丙-1-烯基)苯亚甲基)乙酰肼(**10i**): 收率 93.5%, 浅黄绿色粉末. m.p. 243.6~244.8 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 12.02 (s, 1H, NH), 8.15 (s, 1H, CH=N), 7.39~8.33 (m, 17H, ArH, CH=CH), 6.12 (s, 2H, CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 193.35, 168.09, 145.56, 144.23, 143.52, 136.76, 136.30, 135.56, 135.27, 134.55, 132.79, 131.06, 129.99, 128.12, 127.61, 124.57, 123.30, 119.46, 111.47, 49.06; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 460.1768, found 460.1759.

3.3 PTP1B 及其 PTPs 抑制活性的测试

药理筛选由中国国家新药筛选中心完成. 具体测试方法参照文献[17], 以对硝基苯磷酸二钠(pNPP)为底物, 以已知的 PTP1B 抑制剂齐墩果酸为阳性对照药物^[18,19], PTP1B 筛选体系为: 30 nmol·L⁻¹ GST-PTP1B, 2 mmol·

L^{-1} pNPP, $50\text{ mmol}\cdot L^{-1}$ 3-吗啉丙磺酸(Mops), pH=6.5, $2\text{ mmol}\cdot L^{-1}$ 二硫苏糖醇(DTT), $1\text{ mmol}\cdot L^{-1}$ 乙二胺四乙酸(EDTA). 对初筛抑制率高于 50% 的化合物测试活性剂量依赖关系, 通过样品活性对样品浓度进行非线性拟和得到 IC_{50} . 计算所用软件为 Graphpad Prism 5, 拟合所使用的模型为 sigmoidal dose-response (variable slope), 拟合曲线底部和顶部分别设定为 0 和 100. 其他相关 PTP 酶抑制活性的测试原理及方法同 PTP1B 的测试.

3.4 分子对接

分子对接采用 Accelrys 公司的 DS 2016 软件, 参考文献[20, 21], 以 PTP1B 晶体结构(ID: 1NNY)作为对接受体, 1NNY 直接通过 DS 从蛋白质结构数据库(PDB)下载^[22]. pH 值设定为 7.00, 蛋白质晶体结构经 Macro-molecules/Prepare Protein 模块下的 Clean Protein 去除蛋白多余构象, 补充非完整的氨基酸残基和加氢处理. 利用 Sketching 构建化合物 **9a** 和 **10a** 的 3D 空间构象, 经 Small Molecules/Prepare or Filter Ligands 模块下的 Prepare Ligands 处理后, 再经 Small Molecules/ Minimize Ligands 模块下的 Full Minimization 对分子结构进行优化. 利用 Receptor-Ligands Interactions 模块下的 Define and Edit Bing Site 定义活性位点后, 执行 Dock Ligands (LibDock)分子对接计算, Input Receptor: 1NNY, Input Site Sphere: 31.1939, 26.6815, 25.6829, 15.6, 其他参数采用缺省值, 不同构象的配体分子分别与受体形成比较合适的相互作用, 然后进行能量优化, 最后保留打分较高的分子对接构象.

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **9a~9i** 和 **10a~10i** 的 1H NMR, ^{13}C NMR 和 HRMS 图谱. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

致谢 活性筛选试验由中国国家新药筛选中心协助测定, 在此对他们的帮助表示诚挚的谢意.

References

- [1] (a) Hunter, T. *Cell* **2000**, *100*, 113.
(b) Zhang, Z. Y.; Lee, S. Y. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2003**, *12*, 223.
(c) Tonks, N. K. *Cell* **2005**, *121*, 667.
(d) Zhang, Z. Y. *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, *1754*, 100.
- [2] (a) Bialy, L.; Waldmann, H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 3814.
(b) Yip, S. C.; Saha, S.; Chernoff, J. *Trends Biochem. Sci.* **2010**, *35*, 442.
- [3] (a) Lee, S.; Wang, Q. *Med. Res. Rev.* **2007**, *27*, 553.
(b) Combs, A. P. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2333.
(c) Barr, A. J. *Future Med. Chem.* **2010**, *2*, 1563.
(d) Tamrakar, A. K.; Maurya, C. K.; Rai, A. K. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2014**, *24*, 1.
- [4] Combs, A. P.; Zhu, W.; Crawley, M. L.; Glass, B.; Polam, P.; Sparks, R. B.; Modi, D.; Takvorian, A.; McLaughlin, E.; Yue, E. W.; Wasserman, Z.; Bower, M.; Wei, M.; Rupa, M.; Ala, P. J.; Reid, B. M.; Ellis, D.; Gonville, L.; Emm, T.; Taylor, N.; Yelleswaram, S.; Li, Y.; Wynn, R.; Burn, T. C.; Hollis, G.; Liu, P. C. C.; Metcalf, B. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3774.
- [5] Sparks, R. B.; Polam, P.; Zhu, W.; Crawley, M. L.; Takvorian, A.; McLaughlin, E.; Wei, M.; Ala, P. J.; Gonville, L.; Taylor, N.; Li, Y.; Wynn, R.; Burn, T. C.; Liu, P. C. C.; Combs, A. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 736.
- [6] Douthy, B.; Wayland, B.; Ala, P. J.; Bower, M. J.; Pruitt, J.; Bostrom, L.; Wei, M.; Klabe, R.; Gonville, L.; Wynn, R.; Burn, T. C.; Liu, P. C. C.; Combs, A. P.; Yue, E. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 66.
- [7] Black, E.; Breed, J.; Breeze, A. L.; Embrey, K.; Garcia, R.; Gero, T. W.; Godfrey, L.; Kenny, P. W.; Morley, A. D.; Minshull, C. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 2503.
- [8] Du, Y.; Ling, H.; Zhang, M.; Shen, J.; Li, Q. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 4891.
- [9] Liu, P.; Du, Y.; Song, L.; Shen, J.; Li, Q. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *118*, 27.
- [10] Maccari, R.; Paoli, P.; Ottana, R.; Jacomelli, M.; Ciurleo, R.; Manna, G.; Steindl, T.; Langer, T.; Vigorita, M. G.; Camici, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5137.
- [11] Sun, L. P.; Jiang, Z.; Gao, L. X.; Li, Y. Z.; Sun, L. Y.; Li, J.; Piao, H. R. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 2108 (in Chinese).
(孙良鹏, 姜哲, 高立信, 李英哲, 孙立云, 李佳, 朴虎日, 有机化学, **2012**, *32*, 2108.)
- [12] Sun, L. P.; Jiang, Z.; Gao, L. X.; Liu, X. F.; Quan, Y. C.; Zheng, G. H.; Li, J.; Piao, H. R. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, *33*, 1496 (in Chinese).
(孙良鹏, 姜哲, 高立信, 刘晓芳, 全迎春, 郑光浩, 李佳, 朴虎日, 有机化学, **2013**, *33*, 1496.)
- [13] Chen, Z. H.; Zheng, C. J.; Sun, L. P.; Piao, H. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5739.
- [14] Jin, X.; Zheng, C. J.; Song, M. X.; Wu, Y.; Sun, L. P.; Li, Y. J.; Yu, L. J.; Piao, H. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *56*, 203.
- [15] (a) Yang, Y. H.; Cheng, M. S.; Wang, Q. H.; Nie, H.; Liao, N.; Wang, J.; Chen, H. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1808.
(b) Rajasekaran, A.; Murugesan, S.; AnandaRajagopal, K. *Arch. Pharm. Res.* **2006**, *29*, 535.
(c) Shingalapuri, R. V.; Hosamani, K. M.; Keri, R. S.; Hugar, M. H. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1753.
(d) Achar, K. C.; Hosamani, K. M.; Seetharamareddy, H. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2048.
- [16] (a) Kuş, C.; Ayhan-Kilcigil, G.; Ozbey, S.; Kaynak, F. B.; Kaya, M.; Coban, T.; Can-Eke, B. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4294.
(b) Mavrova, A. T.; Wesselinova, D.; Tsenov, Y. A.; Denkova, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 63.
(c) Kumar, H.; Javed, S. A.; Khan, S. A.; Amir, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 2688.
(d) Khan, I.; Ali, S.; Hameed, S.; Rama, N. H.; Hussain, M. T.; Wadood, A.; Uddin, R.; Ul-Haq, Z.; Khan, A.; Ali, S.; Choudhary, M. I. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5200.
- [17] (a) Shi, L.; Yu, H. P.; Zhou, Y. Y.; Du, J. Q.; Shen, Q.; Li, J. Y.; Li, J. *Acta Pharmacol. Sin.* **2008**, *29*, 278.
(b) Zhang, W.; Hong, D.; Zhou, Y. Y.; Zhang, Y. N.; Shen, Q.; Li, J. Y.; Hu, L. H.; Li, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2006**, *1760*, 1505.
- [18] (a) Qiu, W. W.; Shen, Q.; Yang, F.; Wang, B.; Zou, H.; Li, J. Y.; Li, J.; Tang, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 6618.
(b) Qian, S.; Li, H. J.; Chen, Y.; Zhang, W. Y.; Yang, S. Y.; Wu, Y.; J. *Nat. Prod.* **2010**, *73*, 1743.
- [19] (a) Chung, Y. H.; Jang, S. C.; Kim, S. J.; Sung, N. D. *J. Appl. Biol. Chem.* **2007**, *50*, 52.
(b) Lin, Z. H.; Zhang, Y.; Zhang, Y. N.; Shen, H.; Hu, L. H.; Jiang, H. L.; Shen, X. *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *76*, 1251.
(c) Zhang, Y. N.; Zhang, W.; Hong, D.; Shi, L.; Shen, Q.; Li, J. Y.; Li, J.; Hu, L. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8697.
- [20] Szczepankiewicz, B. G.; Liu, G.; Hajduk, P. J.; Abad-Zapatero, C.; Pei, Z. H.; Xin, Z. L.; Lubben, T. H.; Trevillyan, J. M.; Stashko, M.

- A.; Ballaron, S. J.; Liang, H.; Huang, F.; Hutchins, C. W.; Stephen, W. F.; Jirousek, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4087.
- [21] Chen, J.; Gao, L. X.; Gong, J. X.; Jiang, C. S.; Yao, L. G.; Li, J. Y.; Li, J.; Xiao, W.; Guo, Y. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 2211.
- [22] <http://www.rcsb.org>.
- (Zhao, C.)