

## 靶向MYC小分子抑制剂的研究进展

徐俊杰<sup>1,2</sup>, 尤启冬<sup>1,2\*</sup>, 郭小可<sup>1,2\*</sup>

- (1. 中国药科大学, 江苏省药物分子设计与成药性优化重点实验室, 江苏 南京 211198;
2. 中国药科大学药学院, 江苏 南京 211198)

**摘要:** MYC基因由3个旁系同源基因*C-MYC*、*N-MYC*和*L-MYC*组成,是人类癌症中最常见的失调驱动基因之一,在超过一半的癌症类型中被异常激活。由于MYC在癌症的形成、维持和发展中起着重要的作用,因此,靶向MYC蛋白是治疗癌症的一种有效的策略。但由于缺乏适合小分子配体进行结合的口袋,MYC蛋白被认为是“不可成药”的抗癌靶点。然而,近年来,相关蛋白质结构信息愈加丰富以及越来越多新型计算工具出现,衍生了许多间接靶向抑制MYC的策略,并在肿瘤模型中展现了不错的抗肿瘤效果。本文根据其作用机制,将目前的间接靶向MYC的小分子分为作用于MYC PPI (protein-protein interaction, 蛋白-蛋白相互作用)的抑制剂和调控MYC作用的靶点抑制剂,并针对不同机制的化合物分别进行了介绍和评述,以期MYC抑制剂的进一步研究提供参考。

**关键词:** MYC; 抑制剂; MYC相关因子X; 鸟嘌呤四链体; WD40重复蛋白5

中图分类号: R914 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)06-1689-13

## The development of small-molecule inhibitors targeting MYC

XU Jun-jie<sup>1,2</sup>, YOU Qi-dong<sup>1,2\*</sup>, GUO Xiao-ke<sup>1,2\*</sup>

- (1. Jiangsu Key Laboratory of Drug Design and Optimization, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China;
2. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

**Abstract:** The MYC gene, one of the most common dysregulated driver genes in human cancers, is composed of three paralogous genes *C-MYC*, *N-MYC* and *L-MYC*. It is abnormally activated in more than half of cancer types. Since MYC plays an important role in the formation, maintenance and progression of cancer, targeting MYC is an effective strategy for cancer treatment. As a potential anti-cancer target, MYC is considered "undruggable" because it lacks a suitable pocket for accommodating small molecule inhibitors. Recently, under the guidance of protein structure information and many computational tools, many indirect strategies to inhibit MYC have emerged and shown favorable anti-cancer effects in tumor models. In this paper, the recent small molecules that indirectly target MYC are divided into inhibitors acting on the protein-protein interaction (PPI) among MYC and other proteins, and targeting inhibitors regulating MYC action. Additionally, the introduction and assessment towards compounds with different mechanisms are summarized to provide reference for the further research of MYC inhibitors.

**Key words:** MYC; inhibitor; MYC associated factor X; guanine quadruplex; WD40 repeat protein 5

MYC (myelocytomatosis viral oncogene homolog,

骨髓细胞瘤病毒癌基因同源物)是研究最广泛的癌症基因之一,参与多种不同类型癌症的形成。MYC癌基因家族由*C-MYC*、*N-MYC*和*L-MYC*三个成员组成<sup>[1,2]</sup>,均属于碱性螺旋-环-螺旋亮氨酸拉链(b-HLH-LZ)DNA结合蛋白超家族<sup>[3,4]</sup>。

MYC是一种62 kDa的核磷蛋白,其通过与几种

收稿日期: 2021-12-15; 修回日期: 2022-01-07.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82173673, 81872799, 81930100);  
江苏省自然科学基金资助项目(BK20191321).

\*通讯作者 Tel: 86-25-86185328,

E-mail: youqd@163.com; kexin95@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-1794

蛋白质形成相互作用网络发挥转录因子的作用<sup>[4]</sup>,参与从细胞增殖到核糖体生物发生过程中的基因表达<sup>[4-6]</sup>。MYC 3个成员蛋白(C-MYC、N-MYC、L-MYC)都具有高度保守的结构域:一个包含反式激活结构域的N端区域、一个与核定位和核稳定性控制有关的中心区域以及一个与伴侣蛋白MAX (MYC associated factor X, MYC相关因子X)相互作用并与DNA结合的C端区域<sup>[7,8]</sup>(图1)。

MYC蛋白的结构特征是存在多个高度保守的序列,称为MYC盒子(MYC Box, MB)<sup>[7]</sup>。C-MYC和N-MYC有6个MB,从N端开始,依次为MB0、MBI、MBII、MBIIIa、MBIIIb、MBIV。L-MYC缺少MBIIIa盒子,只有5个MB。MB0、MBI、MBII位于MYC蛋白的反式激活结构域内,其余MB则位于蛋白质的中心区域<sup>[9]</sup>。

不同的MB域与不同的蛋白质结合,因此也发挥着不同的作用。MB0与TFIIF (transcription factor IIF, 转录因子IIF)相互作用以调节转录并加速肿瘤生长<sup>[9,10]</sup>; MBI通过磷酸化,参与MYC的泛素化和蛋白酶体降解<sup>[10,11]</sup>; MBII与TRRAP-HAT (transcription domain associated protein, 转录域相关蛋白; histone acetyltransferase, 组蛋白乙酰基转移酶)复合物相互作用,与肿瘤的发生有关<sup>[12]</sup>; MBIIIa在基因抑制和细胞凋亡调节中发挥作用<sup>[13]</sup>; MBIIIb与WDR5 (WD40 repeat protein 5, WD40重复蛋白5)结合,促进MYC靶基因的识别和肿瘤的发生<sup>[14]</sup>; MBIV可调节DNA结合、细胞凋亡、转化和G2期阻滞<sup>[15,16]</sup>。

MYC原癌基因位于受体信号转导通路的下游,这些信号对MYC基因进行正向或负向调控。MYC表达转录因子MYC, MYC与伴侣蛋白MAX形成异二聚体,靶向结合到DNA序列或E盒子(E Box, 带有5'-CACGTG-3'序列)上(图2A),进而调控与细胞生长和增殖有关的基因转录<sup>[1,17,18]</sup>。

虽然MYC-MAX异二聚体与靶基因调控区中E

Box序列的结合是MYC调控基因表达的主要机制<sup>[19]</sup>,但据报道,MYC也结合于非E Box DNA区域<sup>[20,21]</sup>,尽管这些位点缺乏E Box,但MYC可以与核糖体蛋白基因上的启动子结合<sup>[22]</sup>。此外,在某些情况下,MYC能够独立于MAX发挥作用。例如,在N-MYC扩增的神经母细胞瘤中,发现N-MYC与p53结合,从而靶向调节p53基因<sup>[23-26]</sup>。

MYC蛋白的表达通常在分子水平(转录、转录后、翻译、翻译后的蛋白质稳定性和蛋白质相互作用)受到严格控制<sup>[27]</sup>,并且半衰期只有20~30 min<sup>[28]</sup>。由于存在多个层级的调控,因此,MYC存在多种失调的可能,目前已在许多癌症中发现存在MYC的点突变、染色体易位、基因扩增、其他激活转录或稳定MYC的因素改变<sup>[29]</sup>。这种致癌激活作用导致体内MYC稳定在较高水平,促进了肿瘤发生和逃避肿瘤抑制检查点<sup>[30]</sup>,从而导致细胞不受控制的生长。在转基因小鼠模型中,MYC的失活导致其肿瘤的消退<sup>[31,32]</sup>,充分显示了MYC在肿瘤发生和维持中的重要作用。

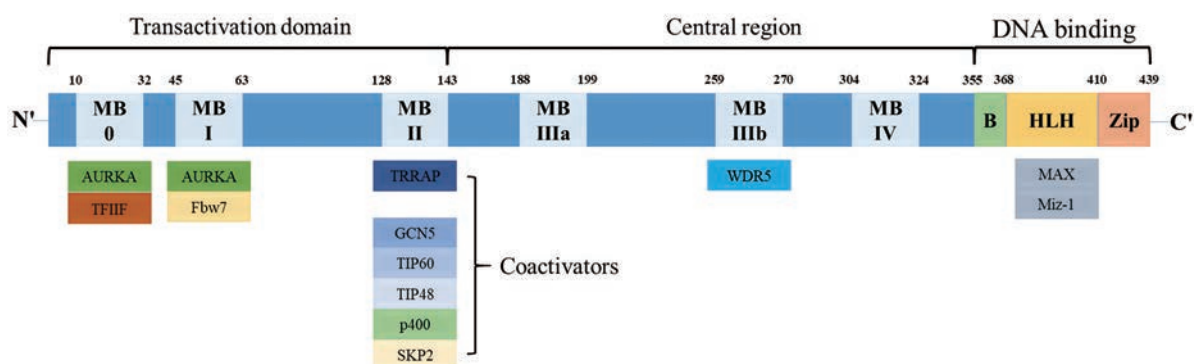
MYC蛋白是一个内在无序的蛋白,其缺少适合小分子化合物结合的疏水口袋或凹槽<sup>[33-35]</sup>,目前还未找到可以与MYC结合的小分子化合物。同时,由于MYC位于细胞核中,很难用单克隆抗体等大分子进行靶向。因此,间接靶向MYC成为一种有效的、可行的替代治疗策略。本文根据其作用机制,将目前的间接靶向MYC的小分子化合物分为作用于MYC PPI (protein-protein interaction, 蛋白-蛋白相互作用)的抑制剂和调控MYC作用的靶点抑制剂,并针对不同机制的化合物分别进行了介绍和评述,希望能够为靶向MYC的癌症治疗提供参考。

## 1 作用于MYC PPI的抑制剂

### 1.1 MYC-MAX相互作用及其调控剂

#### 1.1.1 MYC-MAX相互作用

MAX是一种普遍存在的组成性表达蛋白,在控制

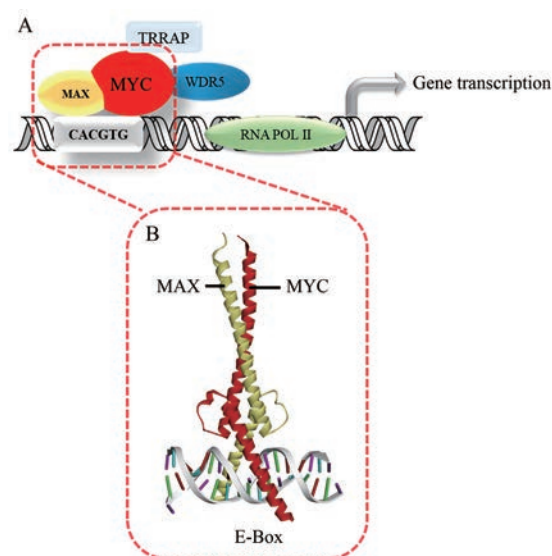


**Figure 1** Different regions of the C-MYC protein, including the MYC Box (MB 0, I, II, IIIa, IVb, IV), b-HLH-LZ domain and the binding site of the key interaction partners

MAX-MAX 二聚蛋白 1 (MXD1) 轴中发挥着核心作用。MAX 是一种磷蛋白, 存在两种亚型, 分子大小分别为 21 kDa 和 22 kDa, 两者之间有 9 个氨基酸的差异<sup>[36]</sup>。MAX 也是一种 b-HLH-LZ 蛋白, 但缺乏反式激活结构域<sup>[7]</sup>。MYC 与 MAX 通过含有亮氨酸拉链和 HLH 基序的 C 端进行延伸, 形成一个  $\alpha$ -螺旋元件后发生异二聚化<sup>[37]</sup>。MYC-MAX 通过两种机制调节基因转录: ① MYC-MAX 与启动子区域内的特定识别位点 (E-Box 元件) 结合, 继而激活基因转录 (图 2B); ② 通过锌指蛋白 Miz-1 将 MYC-MAX 异二聚体间接募集到 DNA 上, 从而抑制 MYC 调节基因<sup>[38]</sup>。由于这两种调节机制都需要 MYC 与 MAX 结合, 因此调控 MYC-MAX 相互作用是抑制 MYC 功能的有效方法。目前, 通过高通量虚拟筛选或体外筛选策略已经发现了许多调控这种蛋白-蛋白相互作用的小分子, 本文根据作用机制将其分为 3 类: ① MYC-MAX 异二聚体抑制剂; ② MAX-MAX 同二聚体稳定剂; ③ MYC-MAX-DNA 结合干扰剂。

### 1.1.2 MYC-MAX 异二聚体抑制剂

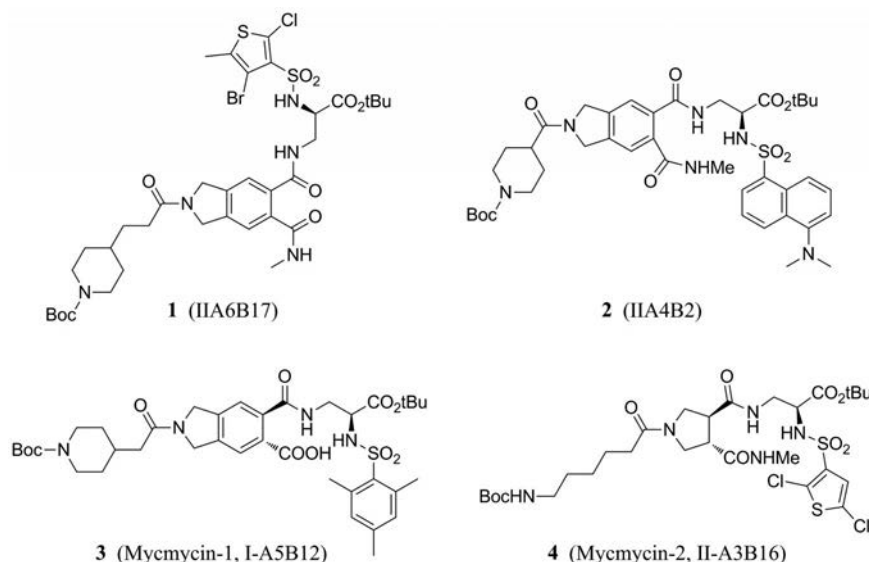
MYC-MAX 异二聚体抑制剂是一些能够直接破坏 MYC-MAX 异二聚化过程的小分子, 可以使 MYC 的固有无序 b-HLH-LZ 结构域变得不再无序, 促进其转化为更刚性、更明确的结构域, 从而阻止其识别 MAX 蛋白<sup>[39,40]</sup>。斯克利普斯研究所的 Berg 等<sup>[41]</sup>通过高通量筛选, 得到了一系列 MYC-MAX 异二聚体抑制剂: 化合物 **1** (IIA6B17) 和化合物 **2** (IIA4B20) (图 3), 这两个化合物均以剂量依赖的方式阻断了鸡胚成纤维细胞的 MYC 依赖性致癌转化。但是, 化合物 **1** 在转化实验中也抑制了相关的碱性拉链 (bZip) 家族蛋白 Jun, 因此, Berg



**Figure 2** A: MYC functions as a transcription factor; B: X-Ray structure of MYC-MAX and E-Box DNA recognition sequence (PDB: 1NKP)

等<sup>[41]</sup>尝试通过结构优化来获得选择性更好的衍生物。他们将化合物 **1** 和化合物 **2** 的异吡啶母核替换为吡咯烷母核, 并在此基础上进一步结构修饰, 得到了化合物 **3** (mycmycin-1, I-A5B12) 和化合物 **4** (mycmycin-2, II-A3B16) (图 3), 这两个化合物在  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时几乎完全抑制了 MYC 诱导的致癌转化, 而不抑制由酪氨酸激酶 Src 或癌基因 Jun 诱导的致癌转化, 因此对 MYC 具有一定的选择性。

之后, Yin 等<sup>[42]</sup>利用酵母双杂交实验来筛选可以阻止 MYC 和 MAX HLH-Zip 结构域结合的化合物, 得到了 7 个 MYC-MAX 二聚体的小分子抑制剂, 均可抑制成纤维细胞的生长和 MYC 依赖性转录 (图 4);



**Figure 3** MYC-MAX heterodimer inhibitors (part I)

此外, 化合物 **5**~**8** (10058-F4、10009-G9、10050-C10 和 10074-A4) 可以抑制小鼠体内肿瘤生长<sup>[42]</sup>。其中, 化合物 **5** (10058-F4) 对 HL-60 细胞的抗增殖活性为  $49 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 以化合物 **5** 作为先导, 对其五元罗丹宁环进行结构相似性搜索, 得到了化合物 **9** (#764) (图4), 其活性提高了 10 倍 ( $\text{IC}_{50} = 4.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )<sup>[43]</sup>。对化合物 **10** (10074-G5) 进行改造, 得到了化合物 **11** (JY-3-094)<sup>[44]</sup> (图4), 其在电泳迁移率实验 (EMSA) 中抑制 MYC 与 MAX 二聚化的能力提升了 5 倍, 但是由于其透膜性较差, 未对 HL-60 细胞显示出抗增殖活性。经进一步结构修饰, 制成了前药 **12** (3jc48-3) (图4), 透膜性得到了明显改善, 其对 HL-60 细胞的抗增殖活性为  $34 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[44]</sup>。

美国加州生物医学研究所的 Choi 等<sup>[45]</sup>, 通过蛋白质互补分析 (protein-complementation assay, PCA) 进行高通量筛选 (HTS), 得到了一个骨架新颖的小分子 MYC-MAX 抑制剂 **13** (sAJM589) (图4)。化合物 **13** 与 MYC 结合后阻止了 MYC 与 MAX 的关联, 其以剂量依赖性方式有效破坏 MYC-MAX 异二聚体的形成, PCA

实验中  $\text{IC}_{50}$  为  $1.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。实验表明, 化合物 **13** 可以促进蛋白酶体介导的 MYC 降解并显著缩短 MYC 蛋白在细胞内的半衰期。因此, 化合物 **13** 在肿瘤细胞中的抗增殖活性可能是由于其抑制 MYC-MAX 异二聚化, 也可能是由于降低 MYC 蛋白水平导致的<sup>[45]</sup>。而 Lars-Gunnar Larsson 小组通过双分子荧光互补分析 (bimolecular fluorescent complimentary, BiFC) 发现的化合物 **14** (MYCMI-6) (图4), 不会下调 MYC 蛋白表达的水平, 其仅作为 MYC-MAX 异二聚体的干扰物发挥作用<sup>[46]</sup>。在表面等离子体共振 (surface plasmon resonance, SPR) 实验中, 化合物 **14** 结合 MYC 的  $K_D$  值为  $1.6 \pm 0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 同时, 实验显示, 化合物 **14** 不与 MAX 结合, 因此, 其对 MYC 的 b-HLH-Zip 结构域具有一定的选择性<sup>[46]</sup>。

### 1.1.3 MAX-MAX 同二聚体稳定剂

通过稳定 MAX-MAX 同二聚体, 可以减少与 MYC 进行异二聚化的 MAX, 从而阻止目标基因的 MYC-MAX 反式激活<sup>[47]</sup>。Jiang 等<sup>[48]</sup>应用虚拟配体筛选 (virtual ligand screening, VLS) 来识别小分子相互作用的特异

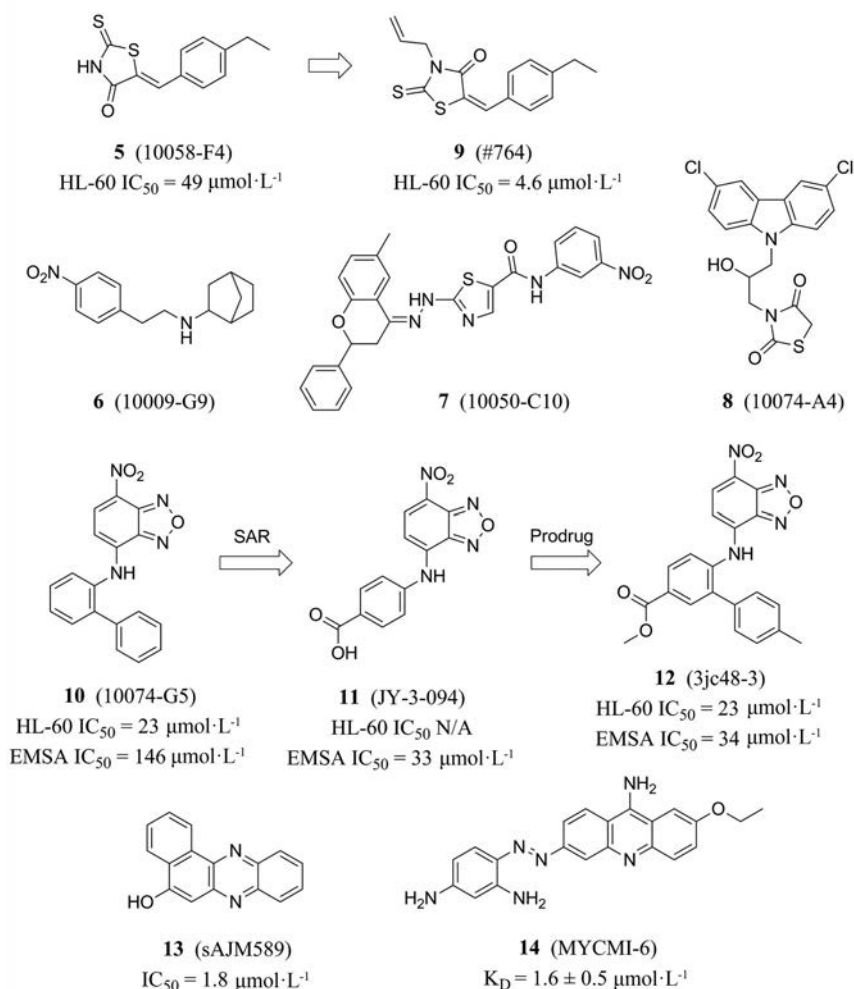


Figure 4 MYC-MAX heterodimer inhibitors (part II)

性结合口袋, 从而筛选出 MAX 同源二聚体的稳定剂。通过对 NCI 文库中 140 000 种化合物的筛选, 得到了化合物 **15** (NSC13728) (图 5)。在 FRET (fluorescence resonance energy transfer, 荧光共振能量转移) 实验中, 化合物 **15** 被证明可以稳定 MAX-MAX 同二聚体<sup>[48]</sup>。此外, 在分析超速离心实验 (analytical ultracentrifuge) 中, 化合物 **15** 使 MAX 的单体/二聚体平衡向二聚体方向移动, MAX-MAX 二聚体的解离常数降低了 1 000 倍。化合物 **15** 在  $2.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度时显著抑制依赖于 MYC 的鸡胚成纤维细胞的致癌转化, 且在  $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度时对 Src、Jun、P3K 诱导的转化也具有良好的选择性。Struntz 等<sup>[47]</sup>通过 SMM (small molecule microarray, 小分子微阵列) 技术筛选结合 MAX 的化合物, 得到了不对称多环内酰胺化合物 **16** (KI-MS2-001) (图 5)。经过初步的构效关系讨论, 对映体选择性对活性没有显著影响, 且用于连接到 SMM 表面的丙二醇侧链不是结合所必需的, 故去除丙二醇侧链得到了化合物 **17** (KI-MS2-008) (图 5), 其对 MAX-MAX 同二聚体的结合亲和力显著增加。同时, 化合物 **17** 通过蛋白酶体途径改变 MYC 介导的转录, 并下调 MYC 蛋白水平。实验表明, 在小鼠 T 细胞急性淋巴细胞白血病 (T-ALL) 移植瘤模型中, 化合物 **17** 在低剂量下 ( $0.06 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , iv) 可有效缩小肿瘤<sup>[47]</sup>。

#### 1.1.4 MYC-MAX-DNA 结合干扰剂

当 MYC 与 MAX 异源二聚化时, 其复合物会采用稳定的螺旋构型, 该构型可以在靶基因的增强子和启动子处结合特定的 DNA 识别序列 5'-CACGTG-3' (E-Box)<sup>[49]</sup>, 从而触发染色质重塑复合物的募集和转录机制的组装, 进而驱动转录程序的进行。MYC 和 MAX 通过其螺旋-环-螺旋 (HLH) 和亮氨酸拉链 (LZ) 区域寡聚化, 并主要通过带正电荷的碱性 (b) 区域和位于 HLH 区域的特定残基结合 DNA。

Carabet 等<sup>[50]</sup>使用 MOE (molecular operating environment, 分子操作环境) 的 Site Finder 模块, 依据 C-MYC-MAX 异二聚体与 DNA 序列结合的  $1.9 \text{ \AA}$  晶体结构 (PDB: 1NKP), 探究了 MYC-MAX-DNA 界面的潜在结合位点。根据配体结合倾向 (PLB) 的打分对位点进

行排序, 打分最高的位点位于 MAX 和 MYC 的 bHLH 区域形成的交叉处, 二聚体在该交叉处将自身插入 DNA 大沟。之后, 研究人员将已报道的 MYC 抑制剂 **5** 和 **6** 用作阳性对照, 在人前列腺癌细胞 (LNCaP 细胞) 中, 使用荧光素酶报告基因测定法, 通过监测 MYC 调节的信号进行筛选。在所有命中的化合物中, 有 10 个化合物在  $25 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度时使 MYC 驱动的荧光素酶水平降低 50% 以上。进行剂量反应分析后, 得到了两个化合物: 化合物 **18** (VPC-70067,  $\text{IC}_{50} = 22.7 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和化合物 **19** (VPC-70063,  $\text{IC}_{50} = 8.9 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )<sup>[50]</sup> (图 6)。化合物 **18** 在结构、活性和作用机制上与化合物 **5** 高度相似, 而化合物 **19** 在细胞实验和体外实验中表现最好。目前, 研究人员已将 **19** 作为先导化合物进行后续的进一步结构修饰与改造, 有望得到活性提升的化合物。

#### 1.2 MYC-WDR5 相互作用及其抑制剂

WDR5 是一种高度保守的 WD-40 重复蛋白, 由 334 个氨基酸组成, 其在造血过程中对 H3K4 的甲基化和 HOX 基因的表达起着至关重要的作用<sup>[51,52]</sup>。WDR5 包含有两个结合位点, 分别称为 WIN 位点 (WDR5-interacting site, WDR5 相互作用位点) 和 WBM 位点 (WDR5-binding motif, WDR5 结合基序)<sup>[51]</sup>。MYC 通过进化上保守的“MYC 盒”MBIIIb 基序中的 6 个氨基酸序列 (EEIDVV) 与 WDR5 的 WBM 位点结合, 结合表面是一个浅的疏水性裂缝 (图 7A), 这个结合裂缝也被证明可以结合其他蛋白质如: RBBP5 (retinoblastoma binding protein 5, 人源重组蛋白 5)、KANSL2 (KAT8 regulatory NSL complex subunit 2, KAT8 调控 NSL 复合亚基 2)<sup>[53]</sup>。该结合表面具有明显的结构化特征, 其在 MYC 蛋白中普遍保守, 非常适合探究用来抑制 MYC-WDR5 蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 的小分子。MYC 中的结构突变可以破坏其与 WDR5 的相互作用, 减弱了 MYC 与大部分染色体的结合, 并使其无法诱导多功能干细胞形成, 从而抑制肿瘤细胞的进一步扩增<sup>[14,53,54]</sup>。

Macdonald 等<sup>[55]</sup>在 2019 年报道了一类具有磺酰胺结构的 MYC-WDR5 抑制剂。研究人员利用荧光偏振

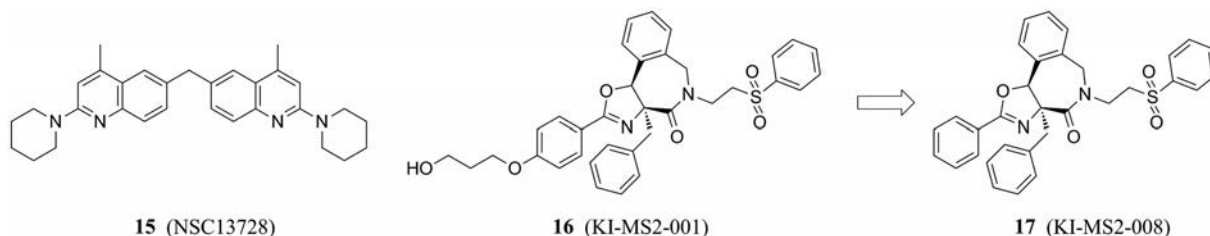
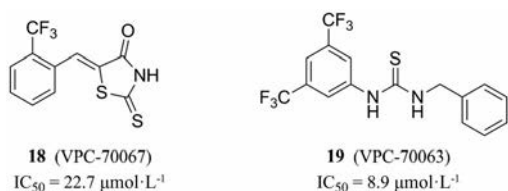


Figure 5 MAX-MAX homodimer stabilizers



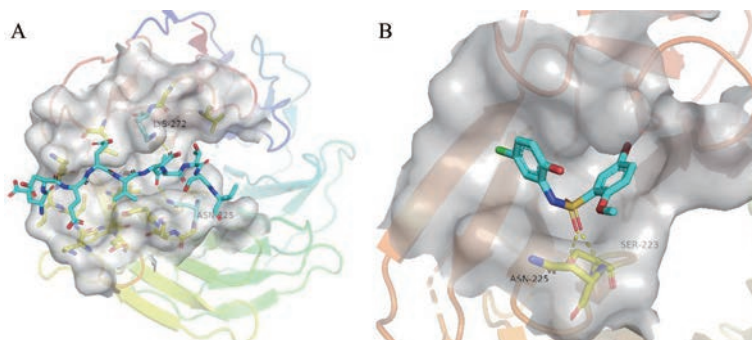
**Figure 6** MYC-MAX-DNA binding regulators

(FP) 实验, 对 VICB 集合库进行高通量筛选 (HTS), 得到了 110 个命中化合物。之后根据正交生物物理分析, 收集 WDR5 的 SOFAST  $^1\text{H}\text{-}^{15}\text{N}$  异核多量子相干光谱 (HMQC) 以验证化合物的直接结合, 结果显示多个命中化合物包含联芳基磺酰胺结构 (图 7B), 于是研究人员在此基础上进行了一系列的结构改造。该系列活性最好的化合物 **20**, 其  $IC_{50}$  值达到了  $29 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  [55] (图 8)。虽然这些化合物显示出很高的活性, 但是其理化性质较差, 不适合用于体内研究。Chacon Simon 等 [56] 在此基础上, 通过 NMR 的片段筛选鉴定了一些其他的

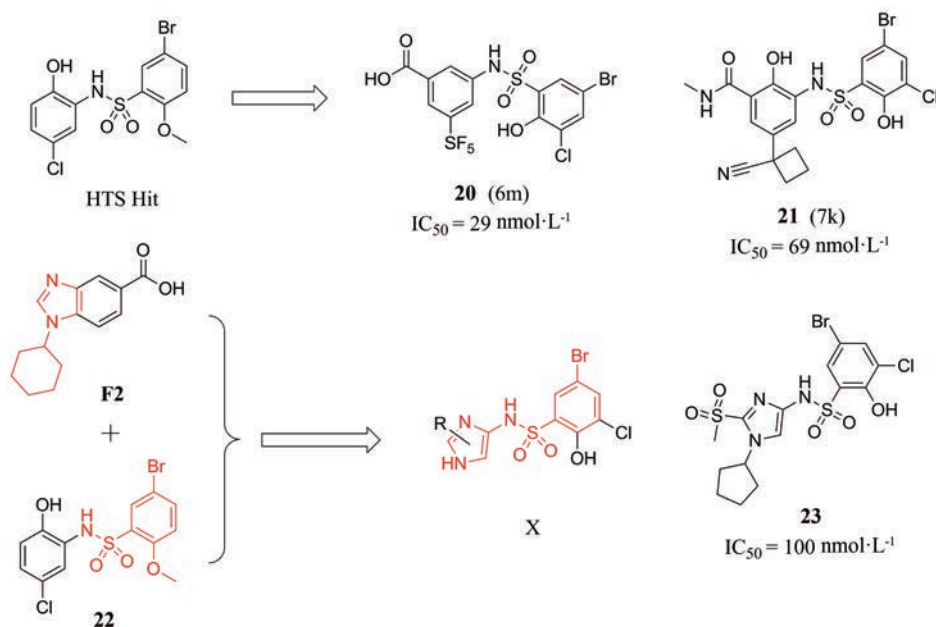
化合物碎片, 并将所得碎片 (F2) 与之前的磺酰胺 (化合物 **22**) 拼合, 得到了一系列理化性质改善的化合物 (见通式 X, 其中, 化合物 **23** 的  $IC_{50}$  值为  $100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  (图 8)。在转染 WDR5 的 HEK293 (human embryonic kidney 293 cell, 人胚胎肾细胞 293) 细胞中进行的 Co-IP (co-immunoprecipitation, 免疫共沉淀) 研究表明, 当细胞用化合物 **23** 处理时, WDR5-MYC 复合物的量减少了大约 4 倍。目前, 该化合物已被用于研究 MYC-WDR5 复合物的生物学效应。

### 1.3 MYC-TRRAP 相互作用抑制剂

TRRAP (transformation/transcription domain associated protein, 转化/转录域关联蛋白) 是一种高度保守的 434 kDa 蛋白, 属于 PIKK (phosphatidylinositol 3-kinase related kinase, 磷脂酰肌醇 3-激酶相关激酶) 家族, 该家族包括 mTOR (mammalian target of rapamycin, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白)、DNA-PKcs (DNA-dependent protein kinase catalytic subunit, DNA 依赖性蛋白



**Figure 7** A: MYC MBIIIb peptide binds to the cavity of WDR5 protein (PDB: 4Y7R), called "WBM" binding site; B: The binding model of Hit in the WBM cavity of WDR5 protein



**Figure 8** Small molecule inhibitors of MYC-WDR5 PPI

激酶催化亚基)、ATM/Tel1 (ataxia telangiectasia mutated gene, 共济失调毛细血管扩张突变基因; 人类 ATM 蛋白的出芽酵母同源物)、ATR/Mec1 (ataxia telangiectasia Rad3 related protein, 共济失调毛细血管扩张症 Rad3 相关蛋白) 和 SMG-1 (suppressor with morphogenetic effect on genitalia-1, 生殖器形成抑制基因 1)<sup>[57]</sup>。PIKK 是参与转录调控、DNA 修复、细胞生长、代谢控制和 mRNA 监视的激酶, 但其中 TRRAP 缺乏激酶结构域, 且在整个进化过程中没有酶活性。同时 TRRAP 也是一种关键的 MYC 辅因子, 是组蛋白乙酰化 (HAT) 复合物的成员, 可帮助转录因子 (如 MYC) 控制基因表达。MYC 和 TRRAP 之间的相互作用发生在 MYC 蛋白的一个精确区域, 称为 MBII, 该区域也是 MYC 反式激活域 (TAD) 的核心<sup>[57,58]</sup>。MYC TAD 本质上是无序的, 但是有证据表明, 当 MBII 与 TRRAP 发生相互作用时, MBII 会变成一个明确的结构, 因此可以通过该结构来开发抑制剂以阻止 MYC-TRRAP 的相互作用, 从而靶向治疗 MYC 驱动的癌症<sup>[58-61]</sup>。研究表明, MYC-TRRAP 相互作用的特点是结合自由能较低, 相比于 MYC-MAX 异源二聚体, 靶向 MYC-TRRAP 更有利于开发靶向 MYC 的小分子抑制<sup>[57]</sup>。同时, 介导 MYC 和 TRRAP 之间相互作用的 17 个氨基酸的 MBII 区域更短且更明确, 因此比 MYC-MAX 界面更容易被破坏。此外, 体内药效模型已经证实 MBII 是 MYC 驱动肿瘤发生所必需的, 这使得通过 MBII 区域干扰 MYC-TRRAP 相互作用是一个非常具有前景的治疗策略。

## 2 调控 MYC 作用的靶点及抑制剂

### 2.1 BET 及其抑制剂

#### 2.1.1 BET

溴结构域和末端外结构域 (bromodomain and extraterminal domain, BET) 家族蛋白共有 4 名成员, 分别为 BRD2、BRD3、BRD4、BRDT, 其中 BRD4 有 3 种不同的亚型<sup>[62]</sup>。由于 BRD 结构域对乙酰化组蛋白有很高的亲和力, 因此 BET 蛋白在染色质上主要分布在组蛋白乙酰化位点附近。除了能够通过 BRD 结构域结合乙酰化修饰的组蛋白外, BRD4 还能与其他一些蛋白如 P-TEFb (positive transcription elongation factor b, 正转录延伸因子 b) 形成蛋白复合物 (图 9), P-TEFb 蛋白能够与 CDK9 (cyclin dependent kinase 9, 周期蛋白

依赖性激酶 9) 发生相互作用并通过磷酸化来增加 RNA 聚合酶 II (Pol II) 的转录活性, 从而激活下游基因的表达<sup>[63]</sup> (图 9)。BET 是重要的转录激活蛋白, 一些重要的原癌基因如 MYC、BCL2 (B-cell lymphoma-2, B 淋巴细胞瘤-2)、CDK6 (cyclin dependent kinase 6, 周期蛋白依赖性激酶 6) 均受到 BET 蛋白的调控。

在多发骨髓瘤细胞中, BRD4 在 MYC 基因上游 IgH 增强子 (enhancer) 上高度富集; 在白血病细胞中, BRD4 在 MYC 基因下游 E1-E5 增强子区域高度富集<sup>[63]</sup>, BRD4 蛋白在这些增强子上富集后直接调控 MYC 蛋白的表达<sup>[64]</sup>。实验发现, BET 抑制剂 JQ1 (图 10) 处理白血病细胞可以降低 MYC、BCL2 等原癌基因的表达<sup>[65]</sup>, 因此, 可以通过干扰染色质与 RNA 聚合酶之间的信号转导来靶向 MYC 转录, 即通过抑制与转录起始和延伸有关的共激活蛋白的乙酰赖氨酸识别域 (溴域), 来实现癌症的治疗<sup>[66]</sup>。

#### 2.1.2 BET 抑制剂

(+)-JQ1 是通过噻吩并二氮杂萘结构 (一种已知的 BRD4 结合母核) 进行计算建模而得到的<sup>[67,68]</sup>。(-)-JQ1 对 BRD4 完全无活性, 这可能是由于 (-)-JQ1 的酯取代基与结合口袋周围的氨基酸残基存在空间位阻 (图 11A)。两种对映异构体的对接研究证实, (+)-JQ1 的拟结合优于 (-)-JQ1, (-)-JQ1 在活性位点内与 Leu92 和 Leu94 产生空间位阻, 因此该构象在能量上不利。JQ1 对 BET 的抑制会下调 MYC 转录, 从而使全基因组下调 MYC 依赖性靶基因。在多发骨髓瘤 (一种依赖于 MYC 的血液系统恶性肿瘤) 的实验模型中, JQ1 产生与细胞周期停滞和细胞衰老相关的有效抗增殖作用。JQ1 在 3 种多发骨髓瘤的小鼠模型中均显示出较好的抑癌效果, 这为 BET 溴结构域抑制剂在以 MYC 病理激活为特征的恶性肿瘤中的治疗作用奠定了基础。目前, 已经报道了许多 BET 抑制剂, 本小节只选择性地介绍具有蛋白-复合物共晶结构且正处于临床的部分 BET 抑制剂。

由 Resverlogix 开发的 BET 抑制剂喹啉化合物 24 (RVX-208) (图 10) 用于治疗肾衰竭、慢性糖尿病和与动脉粥样硬化相关的心血管疾病<sup>[69]</sup>。化合物 24 ( $K_D = 135 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对溴结构域 2 (BD2) 表现出 10 倍的选择性, 这种选择性归因于溴结构域活性位点中 3

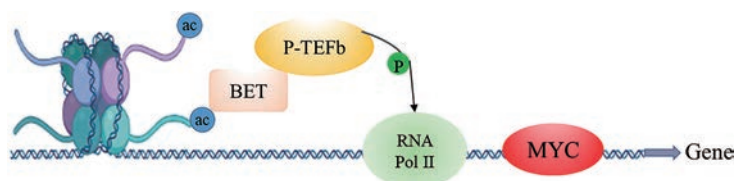


Figure 9 The mechanism of bromodomain and extraterminal domain (BET) regulating MYC

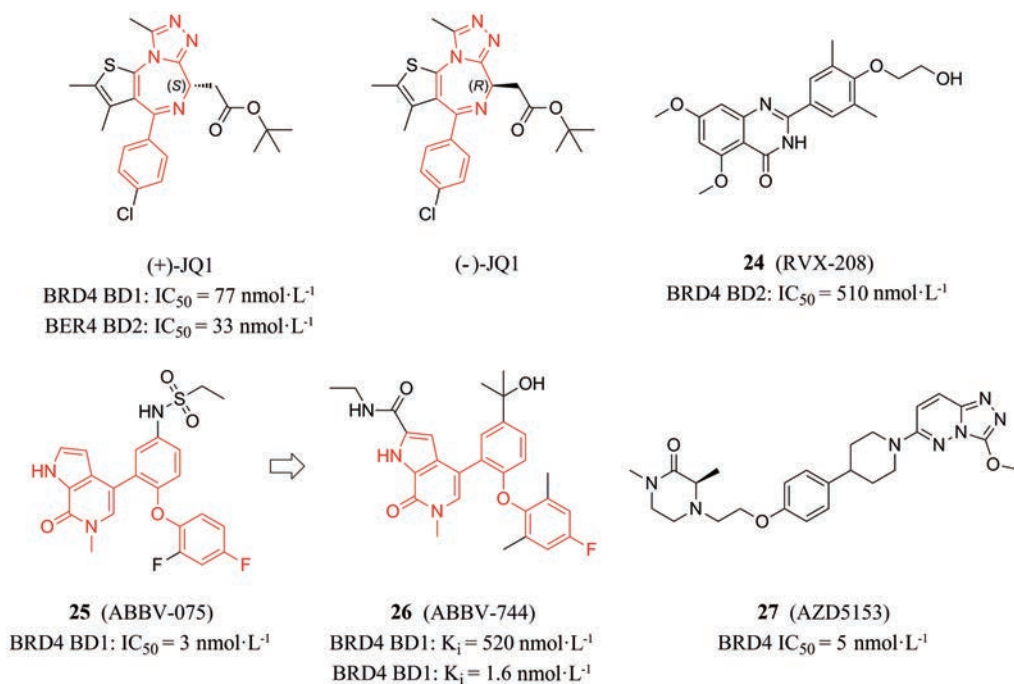


Figure 10 Some classic BET inhibitors in the clinical phase

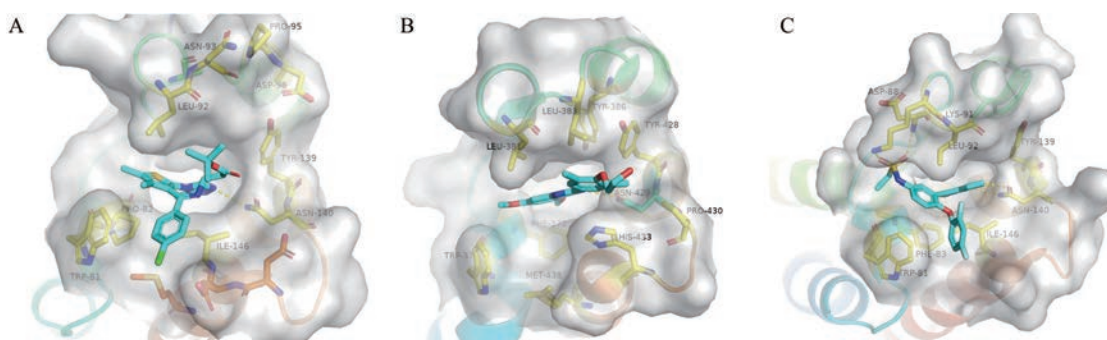


Figure 11 A: Co-crystal of (+)-JQ1 and BRD4 (PDB: 3MXF); B: Co-crystal of RVX-208 and BRD4 (PDB: 4MR6); C: Co-crystal of ABBV-075 and BRD4 (PDB: 5UVW)

个关键残基的变化: 将BD1与BD2进行比较时,发现Gln85变为赖氨酸、Asp144变为组氨酸以及Ile146变为缬氨酸。泛BET抑制剂(+)-JQ-1抑制了754个基因的表达,而化合物24仅抑制了46个基因的表达,显著降低了脱靶的风险<sup>[69]</sup>。目前,化合物24正处于III期临床试验阶段。

Abbvie开发了一种可口服的泛BET抑制剂化合物25 (ABBV-075)<sup>[70,71]</sup> (图10), ABBV系列化合物的吡咯并吡啶部分与苯基相连,在1位带有O或N取代基,在4位带有磺酰基取代基。研究人员对其构效关系的研究集中在吡咯并吡啶母核的取代基上,由此得到了化合物26 (ABBV-744) (图10),其具有很强的选择性,对BRD4 BD2的抑制活性超过了BD1的300倍<sup>[72]</sup>。化合物26对AML (acute myelogenous leukemia, 急性髓系白血病) 细胞系和雄激素受体阳性前列腺癌细胞系

具有很强的抑制作用,并且提高了口服生物利用度。目前,化合物25和化合物26均处于治疗急性髓细胞白血病的I期临床试验阶段。

AstraZeneca开发的化合物27 (AZD5153) (图10)也是一种可口服的BET抑制剂<sup>[66]</sup>,可与BRD4溴结构域1 (BD1)和2 (BD2)结合,并通过从染色质中置换BRD4来阻断MYC的表达,其 $IC_{50}$ 为 $5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。虽然靶向BRD4的小分子抑制剂研发取得了重大进展,许多BRD4抑制剂在临床上显示出很好的效果,但是,这些抑制剂对MYC蛋白的影响还需要进一步的研究。

## 2.2 鸟嘌呤四链体 (G4) 及其结合剂

### 2.2.1 G4

位于MYC的P1启动子上游的核酸酶超敏元件III<sub>1</sub> (NHE III<sub>1</sub>)参与了80%~90%的MYC转录, NHE III<sub>1</sub>元件包含一个富含鸟嘌呤 (G) 的区域,该区域可以折叠

成特定的DNA二级结构,称为G4(图12),其负向调节MYC转录<sup>[73]</sup>。作为非经典DNA结构,G4通常由三层或更多层G-四重体(也称为G-四分体)组成,该四重体是由Hoogsteen氢键连接4个G形成的一个环状平面,并由中间的一价阳离子(主要是K<sup>+</sup>)稳定,两层或以上的四重体通过 $\pi$ - $\pi$ 堆积形成四链体。许多基因的启动子中都含有G4结构,其中,研究最广泛的是MYC G4。MYC G4的生物学作用取决于与其相互作用的蛋白质,这些蛋白质可能促进G4的形成、稳定或分解,从而介导MYC的转录。通过特定配体稳定G4结构会影响其与蛋白质的相互作用,从而导致MYC转录减少<sup>[74,75]</sup>。因此,这些配体是潜在的抗癌分子,基于充分表征的MYC G4,研究人员可以设计小分子或肽来靶向这种结构,并通过下调MYC基因表达使其成为有前景的抗癌药物。

## 2.2.2 G4结合剂

### 2.2.2.1 稳定G4结构的小分子化合物

迄今为止,已经报道了许多天然化合物可以稳定G4结构,从而抑制MYC的表达,例如fonsecin B、生物碱、胡椒碱和黄酮类槲皮素等。然而,其对MYC G4的结合亲和力和特异性远低于已报道的合成小分子。因此,本节主要讨论稳定G4的合成化合物。

Brown等<sup>[76]</sup>发现了化合物**28**(GQC-05)(图13),一种9-(二甲基氨基乙氧基)取代的玫瑰树碱化合物。

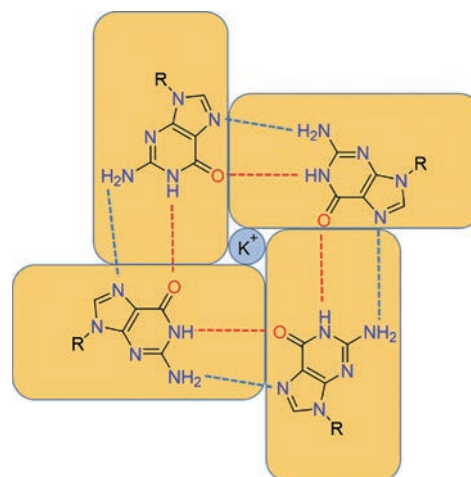


Figure 12 The structure of the G-quadruplex

通过CD(circular dichroism,圆二色谱法)、竞争平衡透析法(competition dialysis)和表面等离子体共振(SPR)方法分析,该化合物对MYC G4有很好的结合能力。另外,通过稳定MYC G4来抑制MYC基因的转录,化合物**28**对RAJI细胞(人Burkitt淋巴瘤细胞)具有很好的抑制活性( $IC_{50} = 2.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )<sup>[76]</sup>。2018年,Calabrese等<sup>[77]</sup>从苯并咪唑衍生物库中筛选出一种三氟甲基取代的化合物**29**(DC-34)(图13),化合物**29**对MYC G4具有很强的亲和力,可以有效下调多发性骨髓瘤细胞中MYC基因的表达。与其他稳定G4化合物不同,化合

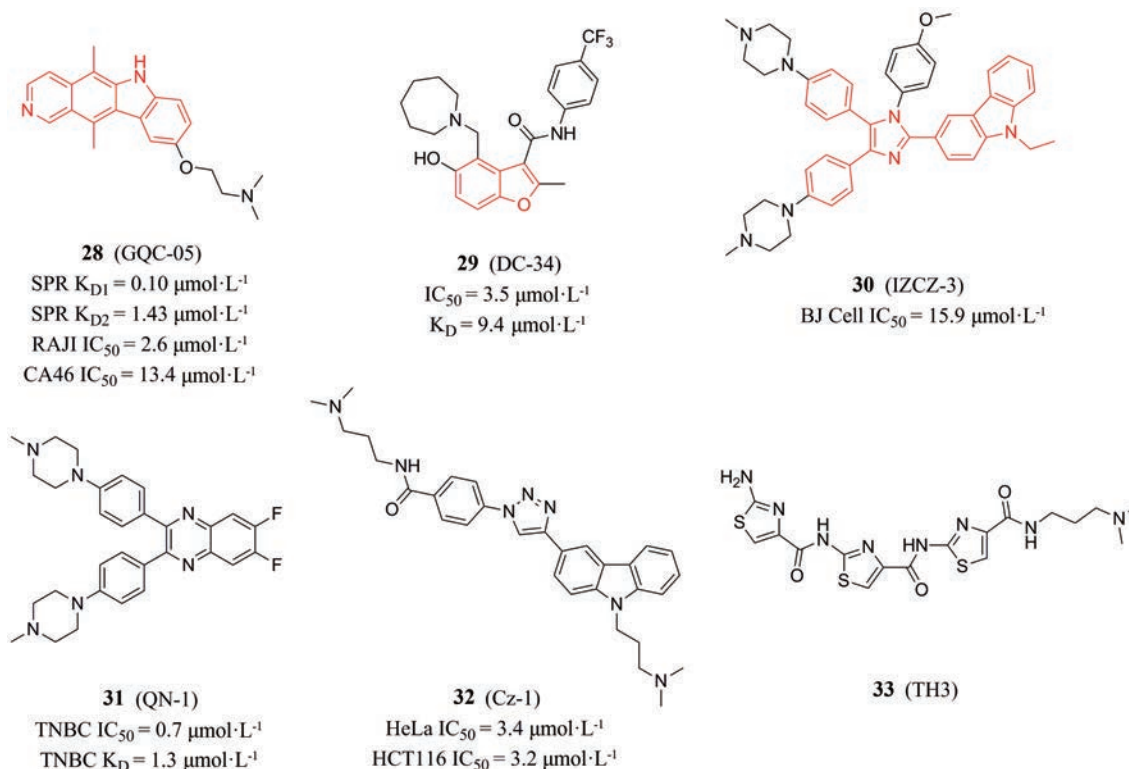


Figure 13 G-quadruplex binding compounds

物 **29** 不结合 dsDNA, 对其他致癌基因的 G4 结构显示出较弱的亲和力, 具有一定的选择性<sup>[78]</sup>。

2018年, 中山大学药学院的Hu等<sup>[79]</sup>通过对芳基取代的咪唑/咪唑偶联物进行结构修饰, 设计合成了四叶草样配体化合物 **30** (IZCZ-3) (图 13)。分子对接研究表明, 化合物 **30** 可以通过  $\pi$ - $\pi$  相互作用完美地堆叠在 G4 的 5' 末端 G-四链体平面上。此外, 化合物 **30** 的带正电荷的咪唑部分位于 MYC G4 的离子通道中, 进一步提高了对 G4 的亲和力。同样, 一系列基于体外细胞的研究也证明化合物 **30** 可以通过特异性靶向 G4 结构来有效下调 MYC 转录。在异种移植人宫颈鳞癌细胞的裸鼠中, 化合物 **30** 也表现出很强的肿瘤抑制活性<sup>[79]</sup>。

与化合物 **30** 相比, 喹啉衍生物 **31** (QN-1) (图 13) 对 MYC G4 显示出相对较高的选择性<sup>[80]</sup>。在基于细胞和小鼠模型的研究中, 化合物 **31** 对三阴性乳腺癌 (TNBC) 显示出较好的抗癌活性。同时, 化合物 **31** 对 MYC 的抑制显著大于 G4 介导的其他基因, 如 *BCL2*、*c-KIT*、*VEGF* 和 *HRAS* 等。此外, 与正常细胞相比, 过表达 MYC 的 TNBC 4T1 细胞对化合物 **31** 更敏感, 2.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的化合物 **31** 可以完全抑制 TNBC 4T1 细胞的生长, 而在同等浓度下, 其他经典的 TNBC 化疗药物 (例如多柔比星、紫杉醇和顺铂) 对 TNBC 4T1 细胞仅有 70% 的抑制率<sup>[80]</sup>。

Das 等<sup>[81]</sup>合成了一系列可以结合和稳定 MYC G4 的咪唑衍生物。在这些化合物中, 化合物 **32** (Cz-1) (图 13) 对 G4 与 dsDNA 表现出良好的选择性。细胞实验表明, 化合物 **32** 可以通过结合和稳定 MYC G4 下调 MYC 的表达, 从而促进 HeLa 细胞凋亡。

**2.2.2.2 靶向 G4 的肽类药物** 尽管目前已经报道了很多靶向 MYC G4 的小分子, 但是由于其脱靶效应以及狭窄的治疗窗口, 大部分小分子都没有应用于临床。基于肽 3D 结构的可塑性以及重现 G4 与蛋白质相互作用的潜力, 其可以提供一种有前景的靶向 G4 的抗癌策略。

Dutta 等<sup>[82]</sup>设计合成了一种月牙形的噻唑三肽: 化合物 **33** (TH3) (图 13)。与其他相比, 该化合物对 MYC G4 具有一定的选择性。核磁共振 (NMR) 分析表明, 化合物 **33** 的平面结构可以通过与 5' 和 3' 末端 G-四重体结合而与 MYC G4 相互作用, 这两个末端 G-四重体的帽子结构富含 AT 碱基, 在 MYC G4 中是独一无二的<sup>[82]</sup>, 因此化合物 **33** 对 MYC G4 具有较好的选择性。

2018年, Sengupta 等<sup>[83]</sup>通过修剪人类导管素 (LL37) 蛋白<sup>[84]</sup>的 G4 结合域 (FK13), 设计了一种肽 **34** (KR12C) (肽序列: N-KRIVKLIKWLRC)<sup>[83]</sup>。肽 **34** 可以在凹槽/环/骨架结合模型中与 MYC G4 相互作用, 并通过

糖-磷酸骨架上的静电相互作用选择性地稳定 MYC G4 的 5'-螺旋桨环。肽 **34** 可以通过 MCF-7 细胞 (人乳腺癌细胞) 中的 E2F1/VEGF-A/BCL2 (VEGF, vascular endothelial growth factor, 血管内皮生长因子 A) 轴促进凋亡信号的传导<sup>[83]</sup>, 从而特异性地靶向 MYC G4 并发挥抑癌活性。

### 3 总结与展望

MYC 作为重要的转录因子, 在一系列的细胞过程 (包括增殖、代谢、生物合成和细胞凋亡等) 中具有重要作用, 而 MYC 的异常表达与癌症的发生和发展密切相关。尽管 MYC 已被证实是一种致癌基因, 但由于 MYC 蛋白表面缺乏传统的结合口袋, 目前还未发现可直接结合 MYC 蛋白的抑制剂。

MYC 及其伴侣蛋白 MAX 都具有无序的 b-HLH-LZ 结构域, 这两个无序的亮氨酸拉链基序经过耦合、折叠、结合, 生成了有序  $\alpha$  螺旋结构的 MYC/MAX 异二聚体。MYC/MAX 异二聚体晶体结构的成功解析, 为高通量筛选间接靶向 MYC 的小分子化合物提供了蛋白结构基础。目前, 通过高通量筛选已经发现了很多调控 MYC-MAX 相互作用的小分子, 如 3jc48-3、sAJM589、MYCMI-6 等。遗憾的是, 目前还没有调控 MYC-MAX 相互作用的小分子进入临床阶段。在此之前, MYC-MAX 调控剂对 MYC 蛋白相互作用网络和 E-Box 的影响还需进一步研究, 从而选择性地调控 MYC 蛋白。

表观遗传调控蛋白中的 WDR5 蛋白和 TRRAP 蛋白分别能与 MYC 结构中的 MBIIIb 基序和 MBII 基序结合, 参与 MYC 的转录过程。已有研究报道, 抑制 MYC-WDR5 PPI 和 MYC-TRRAP PPI, 可以有效地减弱 MYC 与染色质的结合, 从而抑制肿瘤的扩增。但是, 抑制 MYC-WDR5 相互作用后, 对独立于 MYC 的 WDR5 的功能造成的影响还不明确, 有待进一步的研究探讨。针对 MYC-TRRAP 相互作用的抑制剂还处于开发的早期药物发现阶段, 鉴于 MYC-TRRAP PPI 主要由疏水相互作用驱动, 因此可以优先考虑有针对性地筛选化合物库集。

另外, 有研究表明, 还可以通过抑制调控 MYC 的靶点来间接靶向 MYC, 如抑制 BET 家族蛋白 (BRDs) 或者稳定 MYC G4 结构。近几年这两种靶向策略都得到了较大的发展, 已经有小分子药物进入临床。例如, BET 抑制剂 ABBV-744 选择性地抑制 BRD4 BD2 蛋白, 目前该小分子正处于治疗急性髓系白血病的 I 期临床试验阶段。但是, BET 抑制剂存在选择性差和后续的药物不良反应等问题; 使用鸟嘌呤四链体稳定剂进行的早期临床试验结果表明, 基于 DNA 和 RNA 的

结构特征设计出的小分子稳定剂, 很难与单个鸟嘌呤四链体特异性相互作用, 这些都是后续的研发工作中的关键点。

本文概述了靶向MYC小分子抑制剂的研究进展, 为想要了解相关发展动态、开展相关研究的药物化学工作者们提供了部分参考, 期待有更多的研究工作和成果被报道, 也希望后续能够有更多的小分子进入临床研究或者成功上市, 惠及更多患者。

**作者贡献:** 徐俊杰是本文的第一作者, 负责文献调研、整理以及文章的撰写; 尤启冬为本文的共同通讯作者, 负责稿件修改完善等工作; 郭小可为本文的通讯作者, 负责内容框架组织、稿件修改等工作。

**利益冲突:** 本文的研究内容无任何利益冲突。

## References

- [1] Dang CV. MYC on the path to cancer [J]. *Cell*, 2012, 149: 22-35.
- [2] Schaub FX, Dhankani V, Berger AC, et al. Pan-cancer alterations of the MYC oncogene and its proximal network across the cancer genome atlas [J]. *Cell Syst*, 2018, 6: 282-300.e2.
- [3] Beaulieu ME, Castillo F, Soucek L. Structural and biophysical insights into the function of the intrinsically disordered MYC oncoprotein [J]. *Cells*, 2020, 9: 1038.
- [4] Carroll PA, Freie BW, Mathsyaraja H, et al. The MYC transcription factor network: balancing metabolism, proliferation and oncogenesis [J]. *Front Med*, 2018, 12: 412-425.
- [5] Baluapuri A, Wolf E, Eilers M. Target gene-independent functions of MYC oncoproteins [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 255-267.
- [6] Schaafsma E, Zhao Y, Zhang L, et al. MYC activity inference captures diverse mechanisms of aberrant MYC pathway activation in human cancers [J]. *Mol Cancer Res*, 2021, 19: 414-428.
- [7] Conacci-Sorrell M, McFerrin L, Eisenman RN. An overview of MYC and its interactome [J]. *Cold Spring Harbor Perspect Med*, 2014, 4: a014357.
- [8] Hartl M, Bister K. MYC analysis in cancer and evolution [J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2318: 87-117.
- [9] Kalkat M, Resetca D, Lourenco C, et al. MYC protein interactome profiling reveals functionally distinct regions that cooperate to drive tumorigenesis [J]. *Mol Cell*, 2018, 72: 836-848.e7.
- [10] Zhang Q, West-Osterfield K, Spears E, et al. MBO and MBI are independent and distinct transactivation domains in MYC that are essential for transformation [J]. *Genes*, 2017, 8: 134.
- [11] Yada M, Hatakeyama S, Kamura T, et al. Phosphorylation-dependent degradation of c-MYC is mediated by the F-box protein Fbw7 [J]. *EMBO J*, 2004, 23: 2116-2125.
- [12] McMahon SB, Van Buskirk HA, Dugan KA, et al. The novel ATM-related protein TRRAP is an essential cofactor for the c-MYC and E2F oncoproteins [J]. *Cell*, 1998, 94: 363-374.
- [13] Herbst A, Hemann MT, Tworkowski KA, et al. A conserved element in MYC that negatively regulates its proapoptotic activity [J]. *EMBO Rep*, 2005, 6: 177-183.
- [14] Thomas LR, Adams CM, Wang J, et al. Interaction of the oncoprotein transcription factor MYC with its chromatin cofactor WDR5 is essential for tumor maintenance [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116: 25260-25268.
- [15] Cowling VH, Chandriani S, Whitfield ML, et al. A conserved MYC protein domain, MBIV, regulates DNA binding, apoptosis, transformation, an G(2) arrest [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 4226-4239.
- [16] Littler S, Sloss O, Geary B, et al. Oncogenic MYC amplifies mitotic perturbations [J]. *Open Biol*, 2019, 9: 190136.
- [17] Venkateswaran N, Conacci-Sorrell M. MYC leads the way [J]. *Small GTPases*, 2020, 11: 86-94.
- [18] Sammak S, Hamdani N, Gorrec F, et al. Crystal structures and nuclear magnetic resonance studies of the Apo form of the c-MYC:MAX bHLHZip complex reveal a helical basic region in the absence of DNA [J]. *Biochemistry*, 2019, 58: 3144-3154.
- [19] Nie Z, Guo C, Das SK, et al. Dissecting transcriptional amplification by MYC [J]. *Elife*, 2020, 9: e52483.
- [20] Allevato M, Bolotin E, Grossman M, et al. Sequence-specific DNA binding by MYC/MAX to low-affinity non-E-box motifs [J]. *PLoS One*, 2017, 12: e0180147.
- [21] Blackwell TK, Huang J, Ma A, et al. Binding of MYC proteins to canonical and noncanonical DNA sequences [J]. *Mol Cell Biol*, 1993, 13: 5216-5224.
- [22] Lorenzin F, Benary U, Baluapuri A, et al. Different promoter affinities account for specificity in MYC-dependent gene regulation [J]. *Elife*, 2016, 5: e15161.
- [23] Wang XJ, Medeiros LJ, Bueso-Ramos CE, et al. P53 expression correlates with poorer survival and augments the negative prognostic effect of MYC rearrangement, expression or concurrent MYC/BCL2 expression in diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Mod Pathol*, 2017, 30: 194-203.
- [24] Richardson AI, Zhang D, Woodroof J, et al. P53 expression in large B-cell lymphomas with MYC extra copies and CD99 expression in large B-cell lymphomas in relation to MYC status [J]. *Hum Pathol*, 2019, 86: 21-31.
- [25] Gao L, Saeed A, Golem S, et al. High-level MYC expression associates with poor survival in patients with acute myeloid leukemia and collaborates with overexpressed p53 in leukemic transformation in patients with myelodysplastic syndrome [J]. *Int J Lab Hematol*, 2021, 43: 99-109.
- [26] Agarwal S, Milazzo G, Rajapakshe K, et al. MYCN acts as a direct co-regulator of p53 in MYCN amplified neuroblastoma [J]. *Oncotarget*, 2018, 9: 20323-20338.
- [27] Lourenco C, Resetca D, Redel C, et al. MYC protein interactors in gene transcription and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21: 579-591.

- [28] Yeh E, Cunningham M, Arnold H, et al. A signalling pathway controlling c-MYC degradation that impacts oncogenic transformation of human cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2004, 6: 308-318.
- [29] Kalkat M, De Melo J, Hickman KA, et al. MYC deregulation in primary human cancers [J]. *Genes*, 2017, 8: 151.
- [30] Dhanasekaran R, Deutzmann A, Mahauad-Fernandez WD, et al. The MYC oncogene - the grand orchestrator of cancer growth and immune evasion [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 19: 23-36.
- [31] Gabay M, Li Y, Felsher DW. MYC activation is a hallmark of cancer initiation and maintenance [J]. *Cold Spring Harbor Perspect Med*, 2014, 4: a014241.
- [32] Jain M, Arvanitis C, Chu K, et al. Sustained loss of a neoplastic phenotype by brief inactivation of MYC [J]. *Science*, 2002, 297: 102-104.
- [33] Bayliss R, Burgess SG, Leen E, et al. A moving target: structure and disorder in pursuit of MYC inhibitors [J]. *Biochem Soc Trans*, 2017, 45: 709-717.
- [34] Wang C, Fang H, Zhang J, et al. Targeting "undruggable" c-MYC protein by synthetic lethality [J]. *Front Med*, 2021, 15: 541-550.
- [35] Truica MI, Burns MC, Han H, et al. Turning up the heat on MYC: progress in small-molecule inhibitors [J]. *Cancer Res*, 2021, 81: 248-253.
- [36] Blackwood EM, Luscher B, Eisenman RN. MYC and MAX associate *in vivo* [J]. *Genes Dev*, 1992, 6: 71-80.
- [37] Mathysaraja H, Freie B, Cheng PF, et al. MAX deletion destabilizes MYC protein and abrogates E mu-MYC lymphomagenesis [J]. *Genes Dev*, 2019, 33: 1252-1264.
- [38] Dang CV, O'Donnell K, Zeller KI, et al. The c-MYC target gene network [J]. *Semin Cancer Biol*, 2006, 16: 253-264.
- [39] Follis AV, Hammoudeh DI, Wang H, et al. Structural rationale for the coupled binding and unfolding of the c-MYC oncoprotein by small molecules [J]. *Chem Biol*, 2008, 15: 1149-1155.
- [40] Dai L, Yu J. Inchworm stepping of MYC-MAX heterodimer protein diffusion along DNA [J]. *Biophys J*, 2021, 120: 97-103.
- [41] Berg T, Cohen SB, Desharnais J, et al. Small-molecule antagonists of MYC/MAX dimerization inhibit MYC-induced transformation of chicken embryo fibroblasts [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99: 3830-3835.
- [42] Yin X, Giap C, Lazo JS, et al. Low molecular weight inhibitors of MYC-MAX interaction and function [J]. *Oncogene*, 2003, 22: 6151-6159.
- [43] Wang H, Hammoudeh DI, Follis AV, et al. Improved low molecular weight MYC-MAX inhibitors [J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6: 2399-2408.
- [44] Yap JL, Wang H, Hu A, et al. Pharmacophore identification of c-MYC inhibitor 10074-G5 [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 370-374.
- [45] Choi SH, Mahankali M, Lee SJ, et al. Targeted disruption of MYC-MAX oncoprotein complex by a small molecule [J]. *ACS Chem Biol*, 2017, 12: 2715-2719.
- [46] Castell A, Yan Q, Fawcner K, et al. A selective high affinity MYC-binding compound inhibits MYC: MAX interaction and MYC-dependent tumor cell proliferation [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 10064.
- [47] Struntz NB, Chen A, Deutzmann A, et al. Stabilization of the MAX homodimer with a small molecule attenuates MYC-driven transcription [J]. *Cell Chem Biol*, 2019, 26: 711-723e714.
- [48] Jiang H, Bower KE, Beuscher AE 4th, et al. Stabilizers of the MAX homodimer identified in virtual ligand screening inhibit MYC function [J]. *Mol Pharmacol*, 2009, 76: 491-502.
- [49] Macek P, Cliff MJ, Embrey KJ, et al. MYC phosphorylation in its basic helix-loop-helix region destabilizes transient-helical structures, disrupting MAX and DNA binding [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293: 9301-9310.
- [50] Carabet LA, Rennie PS, Cherkasov A. Therapeutic inhibition of MYC in cancer. Structural bases and computer-aided drug discovery approaches [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20: 120.
- [51] Chen X, Xu J, Wang X, et al. Targeting WD repeat-containing protein 5 (WDR5): a medicinal chemistry perspective [J]. *J Med Chem*, 2021, 64: 10537-10556.
- [52] Wang ZH, Li DD, Chen WL, et al. Targeting protein-protein interaction between MLL1 and reciprocal proteins for leukemia therapy [J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26: 356-365.
- [53] Thomas LR, Wang Q, Grieb BC, et al. Interaction with WDR5 promotes target gene recognition and tumorigenesis by MYC [J]. *Mol Cell*, 2015, 58: 440-452.
- [54] Thomas LR, Adams CM, Fesik SW, et al. Targeting MYC through WDR5 [J]. *Mol Cell Oncol*, 2020, 7: 1709388.
- [55] Macdonald JD, Chacon Simon S, Han C, et al. Discovery and optimization of salicylic acid-derived sulfonamide inhibitors of the WD repeat-containing protein 5-MYC protein-protein interaction [J]. *J Med Chem*, 2019, 62: 11232-11259.
- [56] Chacón Simon S, Wang F, Thomas LR, et al. Discovery of WD repeat-containing protein 5 (WDR5)-MYC inhibitors using fragment-based methods and structure-based design [J]. *J Med Chem*, 2020, 63: 4315-4333.
- [57] Feris EJ, Hinds JW, Cole MD. Formation of a structurally-stable conformation by the intrinsically disordered MYC: TRRAP complex [J]. *PLoS One*, 2019, 14: e0225784.
- [58] Modlhammer A, Pfurtscheller S, Feichtner A, et al. The diaryl-heptanoid curcumin induces MYC inhibition and cross-links this oncoprotein to the coactivator TRRAP [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 660481.
- [59] Feris EJ, Hinds JW, Cole MD. Luminescence complementation technology for the identification of MYC:TRRAP inhibitors [J]. *Oncotarget*, 2021, 12: 2147-2157.
- [60] Nepon-Sixt BS, Bryant VL, Alexandrow MG. MYC-driven chromatin accessibility regulates Cdc45 assembly into CMG helicases [J]. *Commun Biol*, 2019, 2: 110.

- [61] Xiong J, Xing S, Dong Z, et al. STK31 regulates the proliferation and cell cycle of lung cancer cells *via* the Wnt/betacatenin pathway and feedback regulation by c-MYC [J]. *Oncol Rep*, 2020, 43: 395-404.
- [62] Mertz JA, Conery AR, Bryant BM, et al. Targeting MYC dependence in cancer by inhibiting BET bromodomains [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108: 16669-16674.
- [63] Shi J, Vakoc CR. The mechanisms behind the therapeutic activity of BET bromodomain inhibition [J]. *Mol Cell*, 2014, 54: 728-736.
- [64] Devaiah BN, Mu J, Akman B, et al. MYC protein stability is negatively regulated by BRD4 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117: 13457-13467.
- [65] Li W, Gupta SK, Han W, et al. Targeting MYC activity in double-hit lymphoma with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements with epigenetic bromodomain inhibitors [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12: 73.
- [66] Lu T, Lu W, Luo C. A patent review of BRD4 inhibitors (2013-2019) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2020, 30: 57-81.
- [67] Filippakopoulos P, Qi J, Picaud S, et al. Selective inhibition of BET bromodomains [J]. *Nature*, 2010, 468: 1067-1073.
- [68] Zhang J, Chen P, Zhu P, et al. Development of small-molecule BRD4 degraders based on pyrrolopyridone derivative [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 99: 103817.
- [69] Picaud S, Wells C, Felletar I, et al. RVX-208, an inhibitor of BET transcriptional regulators with selectivity for the second bromodomain [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: 19754-19759.
- [70] Bisso A, Sabo A, Amati B. MYC in germinal center-derived lymphomas: mechanisms and therapeutic opportunities [J]. *Immunol Rev*, 2019, 288: 178-197.
- [71] Piha-Paul SA, Sachdev JC, Barve M, et al. First-in-human study of mivebresib (ABBV-075), an oral pan-inhibitor of bromodomain and extra terminal proteins, in patients with relapsed/refractory solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25: 6309-6319.
- [72] Sheppard GS, Wang L, Fidanze SD, et al. Discovery of ABBV-744, a first-in-class highly BDII-selective BET bromodomain inhibitor [J]. *Cancer Res*, 2018, 78: 931.
- [73] Wang W, Hu S, Gu Y, et al. Human MYC G-quadruplex: from discovery to a cancer therapeutic target [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1874: 188410.
- [74] Psaras AM, Chang KT, Hao T, et al. Targeted downregulation of MYC through G-quadruplex stabilization by DN Ai [J]. *Molecules*, 2021, 26: 5542.
- [75] Wang YQ, Gao Y, Wei R, et al. Effect of parthenolide on proliferation and migration of MCF-7 breast cancer cells by targeting the c-MYC G-quadruplex [J]. *Acta Pharm Sin (药 学 学 报)*, 2020, 55: 1622-1626.
- [76] Brown RV, Danford FL, Gokhale V, et al. Demonstration that drug-targeted down-regulation of MYC in non-Hodgkins lymphoma is directly mediated through the promoter G-quadruplex [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 41018-41027.
- [77] Calabrese DR, Chen X, Leon EC, et al. Chemical and structural studies provide a mechanistic basis for recognition of the MYC G-quadruplex [J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 4229.
- [78] Felsenstein KM, Saunders LB, Simmons JK, et al. Small molecule microarrays enable the identification of a selective, quadruplex-binding inhibitor of MYC expression [J]. *ACS Chem Biol*, 2016, 11: 139-148.
- [79] Hu MH, Wang YQ, Yu ZY, et al. Discovery of a new four-leaf clover-like ligand as a potent c-MYC transcription inhibitor specifically targeting the promoter G-quadruplex [J]. *J Med Chem*, 2018, 61: 2447-2459.
- [80] Hu MH, Wu TY, Huang Q, et al. New substituted quinoxalines inhibit triple-negative breast cancer by specifically downregulating the c-MYC transcription [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 10529-10542.
- [81] Das T, Panda D, Saha P, et al. Small molecule driven stabilization of promoter G-quadruplexes and transcriptional regulation of c-MYC [J]. *Bioconjug Chem*, 2018, 29: 2636-2645.
- [82] Dutta D, Debnath M, Muller D, et al. Cell penetrating thiazole peptides inhibit c-MYC expression *via* site-specific targeting of c-MYC G-quadruplex [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 5355-5365.
- [83] Sengupta P, Banerjee N, Roychowdhury T, et al. Site-specific amino acid substitution in dodecameric peptides determines the stability and unfolding of c-MYC quadruplex promoting apoptosis in cancer cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 9932-9950.
- [84] Sun L, Wang W, Xiao W, et al. The roles of cathelicidin LL-37 in inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22: 1986-1991.