

# 以 c-Met 为肿瘤治疗靶点的受体酪氨酸激酶抑制剂的研究进展

张媛, 程雨兰, 周金培\*, 张惠斌

(中国药科大学药物化学教研室, 南京 210009)

**摘要** 受体酪氨酸激酶 c-Met 在细胞的增殖、代谢以及肿瘤的产生、转移、血管生成中扮演着重要角色, c-Met 成为抗肿瘤治疗的重要靶点。HGF/c-Met 信号通路与 VEGFR 等其他通路的相互作用 (cross-talk) 影响了抗肿瘤药物的作用效果, 产生耐药性, 因此, 多激酶靶点联合用药成为新的抗肿瘤治疗手段。本文介绍了 c-Met 信号通路 with 多种膜受体间的相互作用以及由这种相互作用引起的对激酶抑制剂的耐药性, 并综述了单靶点和多靶点的小分子 c-Met 抑制剂的研究进展。

**关键词** 受体酪氨酸激酶; c-Met; 相互作用; 药物耐药性; c-Met 抑制剂; 抗肿瘤靶点; cabozantinib; crizotinib

**中图分类号** R914; R969.2 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2015)01-0016-12

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150102

## Advances in receptor tyrosine kinase inhibitors taking c-Met as anti-tumor target

ZHANG Yuan, CHENG Yulan, ZHOU Jinpei\*, ZHANG Huibin

Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** c-Met receptor tyrosine kinase plays an important role in signaling pathways including cell proliferation, metabolism as well as tumorigenic growth, migration and angiogenesis. c-Met has emerged as an attractive target for cancer therapy. Moreover, the interactive cross-talk between c-Met signaling and several other signaling pathways underlies a key effect for resistance of anti-cancer drugs. Thus, multi-target inhibitors become a new approach to cancer therapy. This paper introduces the c-Met signaling pathway and the resistance of kinase inhibitors caused by the cross-talk between c-Met and other membrane receptors and then will reviews the progress of single-target and multi-target c-Met inhibitors.

**Key words** receptor tyrosine kinase; c-Met; cross-talk; drug resistance; c-Met inhibitors; anti-tumor target; cabozantinib; crizotinib

受体酪氨酸激酶 c-Met 是抗肿瘤治疗的重要靶点。c-Met 不仅在多种恶性肿瘤中有异常表达, 调节着肿瘤细胞生长、侵袭、转移和凋亡过程, 而且与多种膜受体间存在相互作用 (cross-talk)。研究表明, c-Met 与膜受体间的相互作用影响信号分子的作用, 进一步影响肿瘤的侵袭、转移和新生血管的生成过程, 从而导致肿瘤耐药性的出现。大量研究证实 c-Met 信号通路与肿瘤耐药性相关, 这为多靶点激酶抑制剂的开发提供了理论基础<sup>[1]</sup>。到目前为止, 多靶点药物 crizotinib 和 cabozantinib 已经分别于 2011 年和 2012 年成功上市, 多个小分子 c-Met 抑制剂如 tivantinib、foretinib 和 LY-2801653 等处于临床研究阶段, 另外还有多个抑制剂处于生物活性测试阶段。本文介绍了由 c-Met 信号通路

与膜受体间相互作用引起肿瘤耐药性的相关情况, 并综述了单靶点和多靶点的小分子 c-Met 抑制剂的研究进展。

### 1 c-Met 的结构及作用机制

原癌基因 Met 编码的 c-Met 是一种具有高度结合性的受体酪氨酸激酶, 属于 RON 亚族, 是散射因子或肝细胞生长因子 (HGF) 唯一已知的受体。c-Met 蛋白是由 50 kD 的  $\alpha$  亚基和 145 kD 的  $\beta$  亚基通过二硫键相连的异二聚体, 分为胞外域和胞内域。胞外域包含有 3 个功能不同的结构域: 覆盖整个  $\alpha$  链和部分  $\beta$  链的 N-端配体结合域 (SEMA 区域)、有 4 个保守二硫键的胱氨酸富集区域、以及免疫球蛋白样结构域。胞内域同样由 3 个调控区

域组成:有 Tyr1003 磷酸化位点的近膜结构域、有 Tyr1234 和 Tyr1235 磷酸化位点的酪氨酸激酶催化结构域、以及有 Tyr1349 和 Tyr1356 结合酪氨酸的 C-端多功能结合区域<sup>[2]</sup>。

HGF 与 c-Met 胞外域结合后,诱导 c-Met 发生磷酸化,在 C-端多功能区域募集多种细胞间质因子,如 GAB1 (生长因子受体结合蛋白-1)、GAB2 (生长因子受体结合蛋白-2)等,进一步吸引 SHP2、PI3K 等分子结合在此,由此激活 RAS/MAPK、PI3K/AKT/JAK/STAT 通路等,从而调控着细胞的生长、迁移、增殖和存活。c-Met 通路异常会诱发肿瘤的发生和转移,在多种人类恶性肿瘤如膀胱癌、胃癌、肺癌、乳腺癌中发现异常高水平表达的 c-Met。此外,c-Met 还与肿瘤对多种激酶抑制剂的耐药性相关。

c-Met 和多种膜受体之间存在相互作用 (cross-talk)<sup>[1]</sup>,构成了复杂的网络体系。c-Met 和黏附受体 CD44 之间的相互作用,放大了信号肽的应答作用;与脑蛋白受体从蛋白的相互作用激活了非依赖配体 HGF 的 c-Met,增强了侵袭作用;与促凋亡受体 FAS 之间的相互作用加快了细胞凋亡;与多种受体酪氨酸激酶如 EGFR、VEGFR 等的作用使得彼此间激活受到调控,血管生成过程受到影响<sup>[3]</sup>。c-Met 与这些膜受体之间的相互作用促进了肿瘤的发生和转移,诱导产生耐药性。

转录因子 HIF-1 $\alpha$  是肿瘤细胞适应低氧环境压力的主要调节因子<sup>[4]</sup>。VEGFR 抑制剂在治疗初期造成肿瘤缺氧,在低氧环境中,HIF-1 $\alpha$  上调 c-Met 水平,c-Met 浓度的增加促进肿瘤细胞转移,使得

肿瘤区域性扩张或转移,造成肿瘤逃离氧气缺乏环境,建立更具侵袭性和生长能力的克隆体系<sup>[5]</sup>。

肿瘤对 EGFR 抑制剂产生耐药性的原因可能与配体 HGF 水平上调相关<sup>[6]</sup>。在 4% ~ 20% 对吉非替尼和厄洛替尼耐药的非小细胞肺癌患者中检测到了 c-Met 的扩增,HGF 通过 GAB1 调节 PI3K/AKT 和 ERK 通路直接对 EGFR 激酶抑制剂产生耐药性。在 BRAF 突变的黑色素瘤细胞系中,研究人员发现 HGF 的上调对 BRAF 抑制剂 ramurafenib 的作用产生抵抗<sup>[7]</sup>。因此,c-Met 和膜受体间的相互作用诱导出现激酶靶点治疗的耐药性。

2 c-Met 抑制剂

目前针对 c-Met 通路的抗肿瘤治疗药物有两种:一种是抗 HGF 或 c-Met 的单克隆抗体;一种是针对 c-Met 的小分子抑制剂。基于抑制剂的化学结构以及与 c-Met 的晶体结合模式,将 c-Met 小分子抑制剂分为两类:I 类 c-Met 抑制剂在激酶口袋中与 c-Met 的结合呈 U 型构象,包围 Met1121,结合在铰链区,I 类抑制剂对 c-Met 有高度的选择性;II 类 c-Met 抑制剂结构更为舒展,结合区域从 ATP 位点延伸至靠近 C-C 螺旋部位的 Ile1145。大部分 II 类抑制剂为非特异性的抑制剂,对多个激酶靶点有抑制作用,作用效果优于 I 类抑制剂<sup>[8]</sup>。

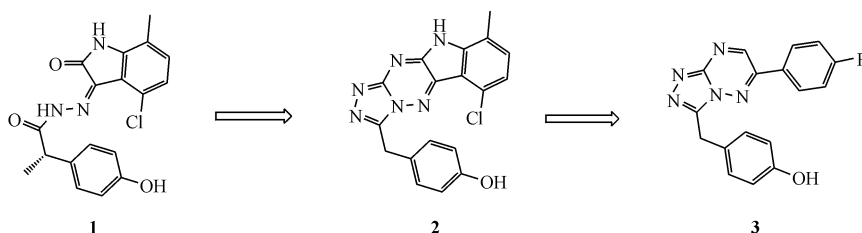
目前已有小分子抑制剂 crizotinib 和 cabozantinib 被美国 FDA 批准上市,多个小分子 c-Met 抑制剂如 tivantinib、foretinib 和 LY-2801653 等处于临床研究阶段(表 1),另外还有许多小分子抑制剂处于生物活性测试阶段。

表 1 已上市和部分进入临床阶段的小分子 c-Met 抑制剂

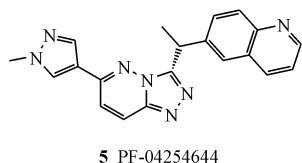
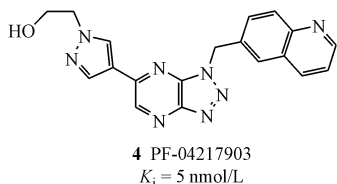
c-Met 抑制剂	作用靶点	研发阶段	研发公司	适应证
JNJ-38877605	c-Met	临床 I 期	Johnson&Johnson	已终止
SGX-523	c-Met	临床 I 期	SGX Pharmaceuticals	已终止
AMG-208	c-Met	临床 I 期	Amgen	晚期实体瘤
tivantinib	c-Met	临床 III 期	ArQule	胃癌、非小细胞肺癌
INCB28060	c-Met	临床 II 期	Novartis/Incyte	肾癌、实体瘤
EMD 1204831	c-Met	临床 I 期	EMD Serono	晚期实体瘤
crizotinib	c-Met, ALK	已上市	Pfizer	ALK 阳性的晚期或转移的非小细胞肺癌
MGCD-265	c-Met, RON, VEGFR2	临床 I / II 期	MethylGene	非小细胞肺癌
cabozantinib	c-Met, VEGFR-2	已上市	Exelixis	髓样甲状腺癌
foretinib	c-Met, VEGFR-2	临床 II 期	Exelixis	乳腺癌、胃癌
golitinib	c-Met, VEGFR-2	临床 I / II 期	Eisai	头颈癌、肝癌
BMS-777607/ASLAN-002	c-Met, RON, AXL	临床 I 期	Bristol-Myers squibb	晚期实体瘤
LY-2801653	c-Met, RON, FLT3	临床 II 期	Lilly	晚期实体瘤
MK-2461	c-Met, RON, FLT1	临床 I / II 期	Merck	晚期实体瘤
MK-8033	c-Met, RON	临床 I 期	Merck	晚期实体瘤

## 2.1 单靶点 c-Met 抑制剂

选择性的 c-Met 抑制剂大多对 c-Met 靶点有高度的特异性。Sugen 公司通过高通量筛选的方法得到一系列具有 2-羟基吡啶酮结构的高度选择性 c-Met 抑制剂, 对其结构优化得到了化合物 **1**<sup>[9]</sup>, 化合物 **1** 为 I 类 c-Met 抑制剂,  $IC_{50}$  为 7 nmol/L。化合物 **1** 与 c-Met 的共晶结构显示酚羟基与铰链区 Met1160 形成氢键, 而吡啶环并未与铰链区相互作用, 在此基础上, 对 2-羟基吡啶酮进行环合,

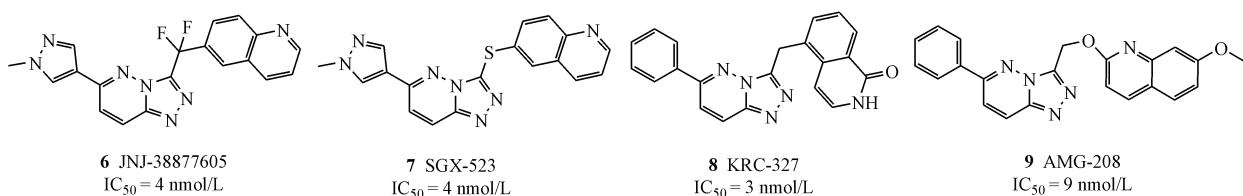


在化合物 **3** 基础上, 将三唑并三嗪骨架替换为活性略低但代谢稳定的三唑并吡嗪和三唑并哒嗪环, 将苯酚替换为更传统的喹啉环, 得到了化合物 **4** (c-Met  $K_i = 5$  nmol/L) 和化合物 **5** (c-Met  $K_i = 10.3$  nmol/L), 二者均为 I 类 c-Met 抑制剂。二者在体外细胞实验、c-Met 诱导肿瘤模型中均表现出了较强的抑制作用, 同时二者具有较好的药代动力学性质。在对 208 种激酶的筛选中, 化合物 **4** 对 c-Met 表现出了相比于其他激酶超出 1 000 倍的选择性<sup>[11]</sup>。但在 2012 年, 辉瑞由于非药物安全性方面的原因停止了对其研发。化合物 **5** 被发现是磷酸二酯酶家族的抑制剂, 由于在大鼠上出现心率持续加快、心脏输出增加、心肌衰退等现象, 终止了进一步研发<sup>[12]</sup>。



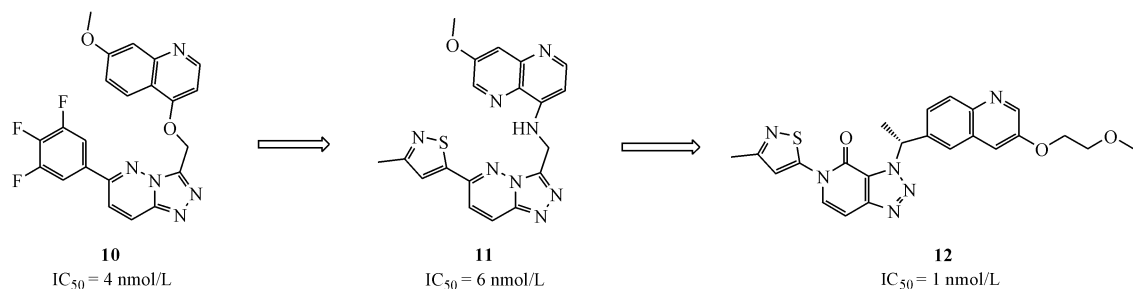
得到了四环化合物 **2**<sup>[10]</sup>, 化合物 **2** 是吡啶酮结构系列中有效的 I 类 c-Met 抑制剂, 但成药性不好, 研究人员将四环简化为二环的三唑并三嗪骨架, 得到化合物 **3**。化合物 **3** 同样为 I 类 c-Met 抑制剂, 构效关系表明, 缺电子的两个芳香环对于加强抑制剂和 Tyr1230 的作用是必须的。由于化合物 **3** 在人体肝细胞中的代谢不稳定, 因此研究人员在化合物 **3** 基础上又进行了优化。

由于三唑并三嗪系列化合物对 c-Met 有效的抑制作用, 研究人员以其为骨架设计了一系列衍生物。将三唑并三嗪骨架替换为三唑并哒嗪, 同时改变连接臂亚甲基为二氟亚甲基和硫原子, 得到了化合物 **6** (c-Met  $IC_{50} = 4.0$  nmol/L) 和化合物 **7** (c-Met  $IC_{50} = 4.0$  nmol/L), 二者为 I 类 c-Met 抑制剂, 对 c-Met 有一定抑制作用, 但在临床 I 期试验中, 化合物 **6** 药效较差且患者体内肌酐水平增加<sup>[13]</sup>, **7** 出现肾毒性, 二者均终止了临床开发<sup>[14]</sup>。韩国研究机构研发的化合物 **8** (KRC-327) 是高度选择性的 ATP 竞争性小分子 c-Met 抑制剂, 为三唑并哒嗪衍生物, 在对 42 种激酶的作用中, **8** 明显抑制 c-Met 的磷酸化 ( $IC_{50} = 3$  nmol/L)。在异种移植 MKN45 胃肿瘤模型中, 蛋白免疫印迹法证实化合物 **8** 抑制 c-Met 下游信号 AKT, ERK, STAT3 的磷酸化及表达<sup>[15]</sup>。Albrecht 等<sup>[16]</sup> 利用拼合原理, 将 Amgen 公司研发的喹啉环 c-Met 抑制剂和 Sugan 公司专利化合物的类似物拼合, 得到 I 类 c-Met 抑制剂 **9** (AMG-208), 其对 c-Met 具有高度的选择性和抑制性,  $IC_{50}$  为 9 nmol/L。构效关系显示, 保留的三唑并哒嗪环同 Tyr1230 相作用, 喹啉环以及连接臂中增加的氧原子与蛋白形成了更多氢键, 使得 AMG-208 具有更强的抑制作用。目前 AMG-208 处于 I 期临床研究阶段。

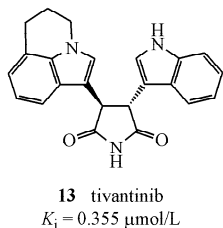


在 AMG-208 基础上, Amgen 公司进一步开发出了以三唑并吡啶环为骨架的一系列化合物。如化合物 **10**, **11**。在化合物 **10**, **11** 中连接臂中 O 或 N 原子会与喹啉环或二氮萘形成分子内氢键。因此, 在保留 U 型构型的基础上, 研究人员将连接臂替换为亚甲基或手性碳原子, 保留与 Met1160 作用

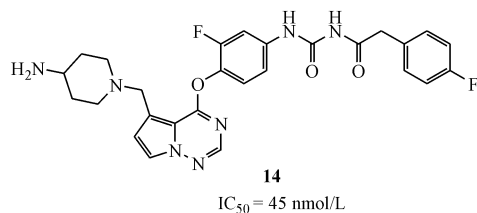
的喹啉环, 同时为了提高溶解性, 将三唑并吡啶环替换为三唑并吡啶酮环, 优化得到了化合物 **12**。在持续的 24 h 内, 抑制至少 89% 的 c-Met 磷酸化, 在相同条件下, 给予 3 倍剂量的化合物 **10** 和 **11**, 抑制率为 90%, 但持续时间仅为 6 h, 相比之下, 化合物 **12** 显示出了更好的药效学活性<sup>[17]</sup>。



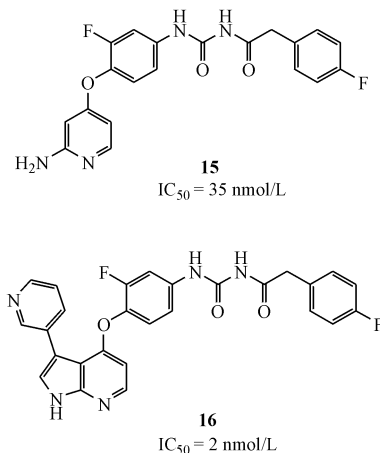
化合物 **13** (tivatinib, ARQ-197) 是高度选择性非 ATP 竞争的 c-Met 抑制剂, 对 MDA-MB-231 和 NCI-H411 细胞系中 HGF 诱导 c-Met 磷酸化抑制的 IC<sub>50</sub> 为 100 ~ 300 nmol/L。研究发现, 对异种移植人类肿瘤的大鼠经口给予化合物 **13** (200 mg/kg), 肿瘤生长出现停滞现象。化合物 **13** 除了抑制 c-Met, 还对微管蛋白聚合有抑制作用, 扰乱微管蛋白代谢, 延长 G<sub>2</sub>/M 期, 增加细胞凋亡<sup>[18]</sup>。



Bristol-Myers Squibb 公司将吡咯并三嗪骨架引入 c-Met 抑制剂, 保留 c-Met/VEGFR-2 双重抑制剂中酰基脲连接结构片段, 得到 II 类 c-Met 抑制剂 **14**, 其中酰基脲结构中末端 NH 与 Glu1127 形成氢键, 末端羰基与 Asp1223 形成氢键, 并与另一个 NH 形成分子内氢键。4-氟苯环深入到疏水口袋中, 与 Phe1134, Phe1200 的芳香残基相互作用。但是化合物的细胞通透性不高, 药代动力学性质较差<sup>[19]</sup>。

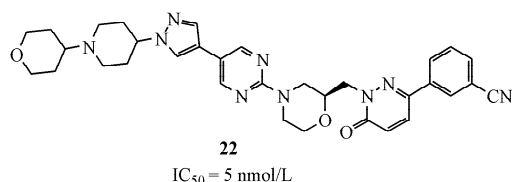


研究人员将吡咯并三嗪替换为氮杂吲哚和氨基吡啶, 得到 II 类 c-Met 抑制剂 **15** 和 **16**, 二者均对 GLT-16 异种移植模型表现出了较好的抗肿瘤活性<sup>[20]</sup>。

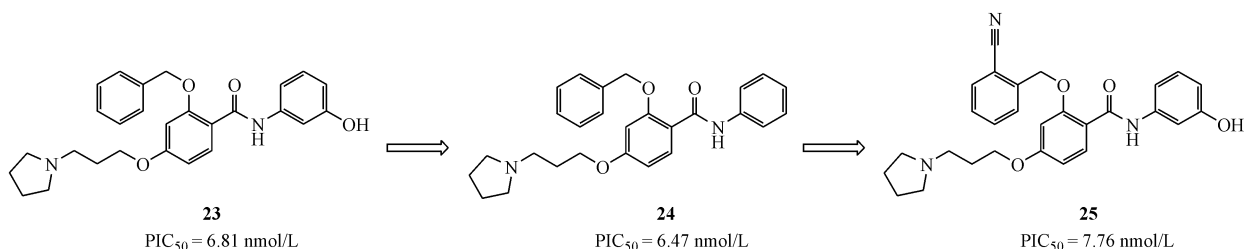


化合物 **22** 是吗啉代嘧啶取代的哒嗪酮类 c-Met 抑制剂。化合物 **22** 对 c-Met 激酶以及 Hs746T 和 H1993 细胞系有强烈的抑制作用,对 c-Met 激酶抑制的  $IC_{50}$  为 5 nmol/L,对两种细胞系的抑制  $IC_{50}$  分别为 13 和 23 nmol/L。哒嗪酮类抑制剂与 c-Met 有很强的相互作用,哒嗪酮与 Asp1222 形成氢键,嘧啶环深入至铰链区由 Ile1084 和 Met1160 形成的狭窄凹槽中,与铰链区 Met1160 的 NH 形成

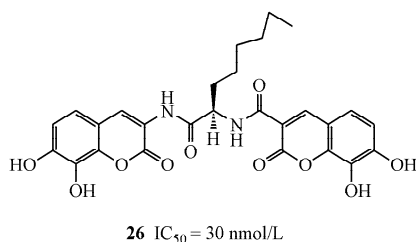
氢键,苯基取代的吡嗪酮与 Met1211 和 Tyr1230 形成“三明治”结构,与 Tyr1230 形成叠加作用。目前正在对吡嗪酮类化合物进行优化,期望改进药代动力学性质,有更好的口服生物利用度,体内异种移植模型抗肿瘤活性测试正在进行中<sup>[26]</sup>。



阿斯利康公司通过高通量筛选得到了 27 种化学结构类似的苯甲酰苯胺类化合物,其中酰胺的羰

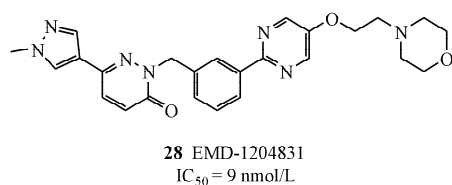
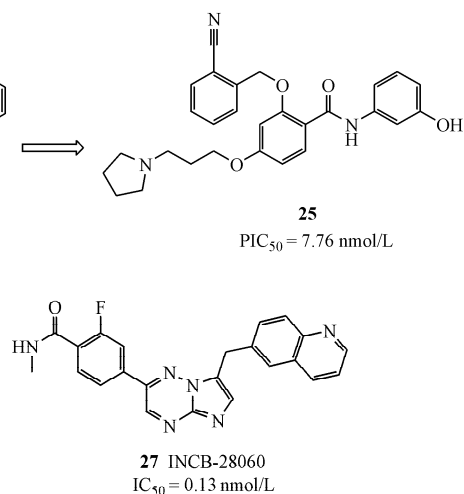


3,3'-双香豆素是 4,7,8-三羟基香豆素通过一个碳原子连接的二聚物,是香豆素衍生物中非 ATP 竞争性的 c-Met 抑制剂。研究人员在此基础上优化得到了一系列双香豆素类衍生物。但由于结构中有多个亲水性基团导致化合物细胞通透性差,使其对细胞中 c-Met 磷酸化抑制较差。化合物 26 引入较大的烷基取代基,增加了脂溶性,不仅对 c-Met 激酶有抑制作用,IC<sub>50</sub> 为 30 nmol/L,而且对 BaF3/TPR-Met 和 EBC-1 细胞中 c-Met 的磷酸化有抑制作用。化合物 26 是具有全新骨架非 ATP 竞争性的 c-Met 抑制剂,目前正在对其进行构效关系的研究<sup>[28]</sup>。



其他选择性的 c-Met 抑制剂如化合物 27 (INCB28060, c-Met IC<sub>50</sub> = 0.13 nmol/L) 处于 II 期临床研究阶段<sup>[29]</sup>, 化合物 28 (EMD 1204831, c-Met IC<sub>50</sub> = 9 nmol/L) 处于临床 I 期研究阶段<sup>[30]</sup>。

基与铰链区相结合。化合物 23 是其中活性最好的,但是其对细胞色素 P450 有抑制性,人微粒体清除率低,肝细胞清除率高,这可能是由于 3'位羟基代谢葡萄糖醛酸引起的,去掉 3'位羟基期望得到口服生物利用度更高的化合物。研究人员对大鼠经口给予化合物 24,发现肝清除率明显降低,对细胞色素 P450 仅有轻微抑制作用,但是对 c-Met 抑制活性有所降低。在保留 3'位羟基的基础上,在 2'位引入腈基,得到化合物 25,发现抑制活性明显增加。3'-OH 和 2'-CN 通过一个水分子结合,二者相伴结合至铰链区,与 Tyr1159 以及 Met1160 相作用,二者的共同存在对化合物有更好的抑制性<sup>[27]</sup>。



## 2.2 多靶点 c-Met 抑制剂

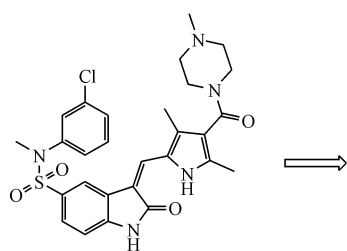
在 c-Met 抑制剂 crizotinib 作用的白血病细胞中发现异常的 HGF 分泌和 c-Met 的激活,由于补偿性的上调分泌 HGF,使得 c-Met 通路部分恢复,在短时间内产生了药物抵抗性。研究发现,在 KG-1 细胞系中,抑制 c-Met 后,FGFR1 的活性在 HGF 补偿性的上调中发挥作用<sup>[31]</sup>。联合使用 crizotinib 和 FGFR1 抑制剂 PF-173074 对于 KG-1 细胞中 c-Met 的磷酸化有持续的抑制作用,在体内几乎全部抑制了 AML(急性粒细胞白血病),效果明显优于单独使用 crizotinib 和 FGFR1 抑制剂。crizotinib

抑制 c-Met 活性, FGFR1 抑制剂抑制 HGF 补偿性上调, 二者联合使用在体外和体内异种移植模型中均证明起到了协同作用<sup>[32]</sup>。

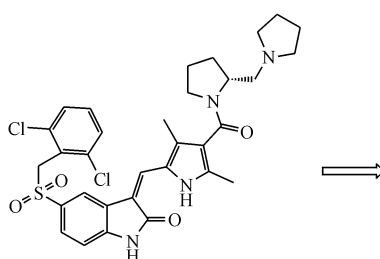
VEGFR-2 抑制剂能抑制血管生成, 减少肿瘤营养物质供应导致肿瘤体积变小, 使得缺氧程度增加, HIF-1 $\alpha$  上调 c-Met 水平, 导致发生 c-Met 依赖的肿瘤细胞的侵袭和转移。单独使用 VEGFR-2 抑制剂 sunitinib 可以减少肿瘤血管生成, 但发现肿瘤的侵袭和转移明显增加<sup>[33]</sup>, 而联合使用 sunitinib 和 c-Met 抑制剂 PF-04217903, 抑制了 VEGFR 和 c-Met 两条通路, 明显抑制了肿瘤的侵袭和转移<sup>[34]</sup>。这些研究表明同时抑制两种酪氨酸激酶受体可能产生更好的抗肿瘤效果。多靶点 c-Met 激酶抑制剂不仅抑制 c-Met, 同时对于 VEGFR, FGFR, ALK, EGFR, MAT1R 等靶点也有抑制作用。

4-取代吡啶酮类化合物 **29** 在验证 c-Met 生物学作用、建立对 HGF/c-Met 诱导细胞的增殖和侵袭等抑制作用的评估体系方面发挥了重要作用<sup>[3]</sup>。将化合物 **29** 中 *N*-甲基磺酰胺连接臂改为

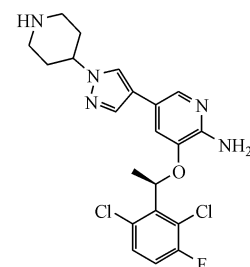
更具灵活性的亚甲基磺酰胺连接臂得到了活性和选择性明显增强的化合物 **30**, 化合物 **30** 不仅抑制 c-Met 的磷酸化, 同时抑制了 c-Met 下游信号的转导。虽然化合物 **30** 在体内和体外都表现出了良好的生物学活性, 但是其溶解性较差, 体内代谢清除率高, 药代动力学性质限制了化合物 **30** 的进一步临床研发<sup>[35]</sup>。在化合物 **30** 的结构基础上, 研究人员将吡啶-2-酮替换为 2-氨基吡啶作为铰链区连接, 减少相对分子质量并限制化合物构象, 期望 3-苄氧基团以直角的方式深入和化合物 **30** 中 2,6-二氯苯基基团占据的相同的疏水口袋。最终得到了 2-氨基-5-芳香基-3-苄氧基吡啶类化合物 crizotinib (PF-02341066)<sup>[36]</sup>, crizotinib 是 I 类 c-Met 抑制剂, 对 c-Met、ALK 等均有抑制作用, IC<sub>50</sub> 分别是 11, 24 nmol/L。2011 年 8 月 26 日, FDA 对 crizotinib 授予快速通道审批权利, 2013 年 11 月 20 日, 批准了 crizotinib 用于淋巴瘤激酶阳性的晚期和转移非小细胞肺癌的治疗。



29 SU-11274

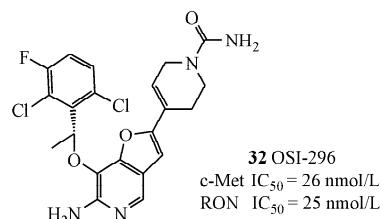


30 PHA-665752

31 crizotinib (PF-02341066)  
c-Met IC<sub>50</sub> = 11 nmol/L  
ALK IC<sub>50</sub> = 24 nmol/L

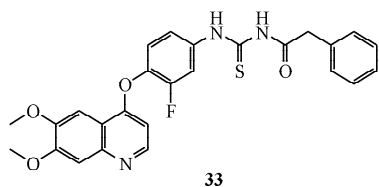
在 crizotinib 基础上, 研究人员保留 2-氨基吡啶骨架, 在其 4 位和 5 位引入芳香环如呋喃环, 保持化合物与铰链区的作用, 同时为不同取代基和蛋白的相互作用提供不同载体。对一系列呋喃环化合物优化得到了化合物 **32** (OSI-296)。化合物 **32** 在对 96 种激酶的生物选择性测试中, 对 c-Met 和 RON 显示出了高度的选择性, IC<sub>50</sub> 分别为 26, 25 nmol/L, 每天经口给予化合物 **32** (50 mg/kg), 对多种 c-Met 诱发肿瘤异种移植大鼠模型中肿瘤有明显的抑制作用, 有轻微的体重减轻现象, 即使口服剂量达到 200 mg/kg, 仍未发现明显不良反应<sup>[37]</sup>。

2003 年, Kirin 公司率先报道了 4-苯氧基喹

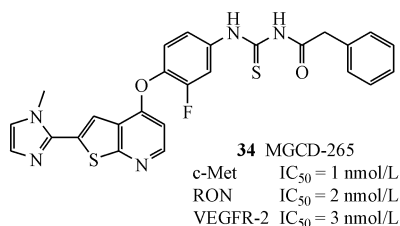
32 OSI-296  
c-Met IC<sub>50</sub> = 26 nmol/L  
RON IC<sub>50</sub> = 25 nmol/L

啉/喹啉骨架的 II 类 c-Met 抑制剂 **33**, 经口给予化合物 **33** (100 mg/kg) 对接种人脑瘤细胞 U87MG 裸鼠的肿瘤生长抑制率达 70%。与其他 II 类抑制剂相比, 酰基硫脲连接臂起到重要作用, 使得其中苯环更加深入疏水口袋, 增强了对 c-Met 的抑制作用。受化合物 **33** 启发, 多个公司研究团队将研究重点放在了改造不稳定的酰基硫脲连接臂和替代

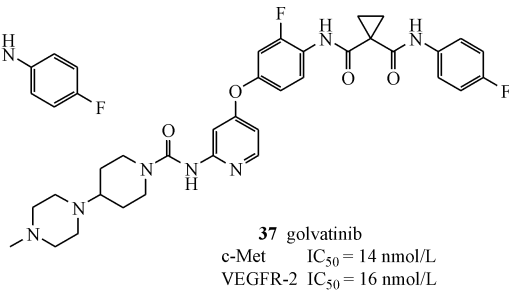
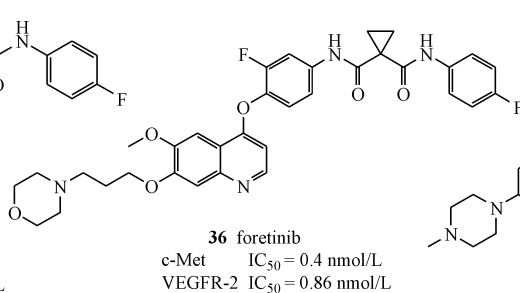
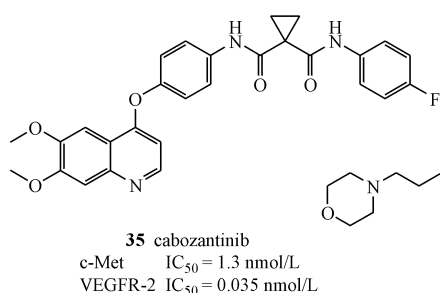
喹啉环骨架方面,由此衍生出了一系列的化合物<sup>[38]</sup>。



MethylGene 公司保留化合物 **30** 中酰基硫脲结构,用噻吩并吡啶环替换喹啉环,得到了对多种激酶有抑制作用的 ATP 竞争性 II 类 c-Met 抑制剂 **34** (MGCD-265),其有效抑制 c-Met、VEGFR-2、RON,  $IC_{50}$  分别为 1,3,2 nmol/L。目前化合物 **34** 处于临床 I / II 期研究阶段<sup>[39]</sup>。



化合物 **35** (cabozantinib)<sup>[40]</sup> 和化合物 **36** (foretinib)<sup>[41]</sup> 是 Exelixis 公司将酰基硫脲替换为环丙基二酰胺结构得到的多种激酶抑制剂,尤其抑制 c-Met 和 VEGFR-2。化合物 **35** 和化合物 **36** 均为 II 类 c-Met 抑制剂。化合物 **35** 对 c-Met、VEGFR-2、Ret、Kit、AXL 等多种激酶有抑制作用, $IC_{50}$  分别



构效关系显示,环丙基二酰胺侧链与 c-Met 结合效果最好,而保持连接侧链中两个芳香环的连接臂为 6 条化学键能够更好地维持芳香环间的空间距离,使得芳香环更好地深入疏水口袋<sup>[43-44]</sup>,因此,研究人员在保留 6 条化学键的基础上,使用如吡啶、咪唑和吡唑等多种单环替代酰基连接臂,由此得到了一系列衍生物。

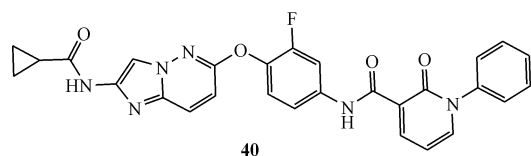
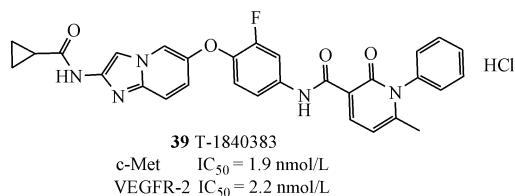
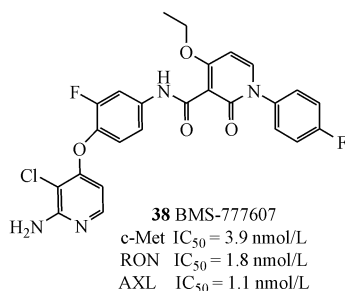
1.3,0.035,4,4.6,7 nmol/L。化合物 **35** 在体内肿瘤模型中抑制 c-Met 和 VEGFR-2 的磷酸化,在临床前模型中显示出有效的抗肿瘤转移和抗血管生成活性。和单独作用于 VEGFR 信号的抑制剂相比,在化合物 **35** 治疗的肿瘤转移模型中并未发现增加肺部肿瘤负担,化合物 **35** 是 c-Met 和 VEGFR 信号通路失调肿瘤患者中肿瘤血管生成和转移的有效抑制剂。2012 年 11 月 29 日, FDA 批准 cabozantinib (商品名 Cometriq) 上市,用于治疗髓样甲状腺癌。

和化合物 **35** 相同,化合物 **36** 对 c-Met、VEGFR-2、RON、PDGFR $\alpha/\beta$  等多种激酶有抑制作用,  $IC_{50}$  分别 0.4,0.86,3,3.6/9.6 nmol/L。研究发现化合物 **36** 在正常和低浓度含氧量条件下对非贴壁生长的肿瘤细胞均有抑制作用,在肺肿瘤转移模型中显示出了剂量依赖的抑制性。化合物 **36** 和 c-Met 的共晶结构显示,化合物 **36** 与 c-Met 激酶紧密结合,占据 ATP 口袋和疏水空腔,环丙基二酰胺侧链上的两个酰胺氧原子分别和 Lys1110 和 Asp1222 形成氢键作用。目前,化合物 **36** 处于临床 II 期研究阶段。日本卫材药业研发的化合物 **37** (golvaltinib) 保留了环丙基二酰胺侧链,用 2-氨基吡啶结构替换喹啉环得到 II 类 c-Met 抑制剂,其对 c-Met 和 VEGFR-2 激酶磷酸化均有较好的抑制作用,对 c-Met 和 VEGFR-2 的  $IC_{50}$  分别为 14 和 16 nmol/L,目前化合物 **37** 处于临床 I / II 期研究阶段<sup>[42]</sup>。

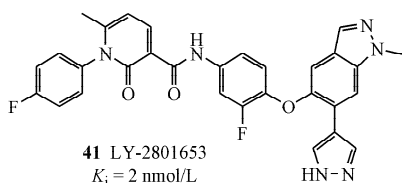
Bristol-Myers Squibb 公司研发的化合物 **38** (BMS-777607, ASLAN-002) 是以 2-氨基吡啶为母核,吡啶酮为侧链的多靶点抑制剂。吡啶酮环中羰基作为氢键受体加强与铰链区蛋白相互作用。化合物 **38** 对多种激酶均有抑制作用,对 c-Met、RON、AXL 的  $IC_{50}$  分别为 3.9,1.8,1.1 nmol/L,对 VEGFR2 的抑制作用稍差, $IC_{50}$  为 180 nmol/L。经口给



予化合物 **38** 后,在 GLT-16 肿瘤细胞异种移植模型中出现肿瘤生长停止现象。目前化合物 **38** 处于临床 I 期研究阶段<sup>[45]</sup>。化合物 **39** (T-1840383) 是由 Takeda 公司研发的作用于 c-Met/VEGFR-2 双靶点的 II 类 c-Met 抑制剂,具有咪唑并吡啶骨架和吡啶酮侧链,对 c-Met 和 VEGFR-2 均有较强的抑制作用,IC<sub>50</sub> 分别为 1.9 和 2.2 nmol/L。化合物 **39** 在多种异种移植肿瘤模型中显示出了抗肿瘤活性,并且降低了 c-Met 磷酸化水平和新生毛细血管密度<sup>[46]</sup>。目前,Takeda 公司正在研发一系列以咪唑并吡啶为骨架,吡啶酮为侧链的作用于 c-Met/VEGFR-2 的小分子抑制剂,如化合物 **40**。

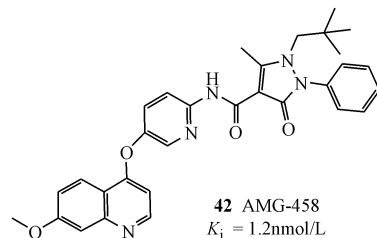


由 Lilly 公司研发的化合物 **41** (LY-2801653) 是同样具有吡啶酮侧链的 II 类 c-Met 抑制剂,对 c-Met、RON、FLT3、AXL 等激酶均具有抑制作用,对 c-Met 的 K<sub>i</sub> 为 2 nmol/L,目前化合物 **41** 处于临床 II 期研究阶段<sup>[47]</sup>。

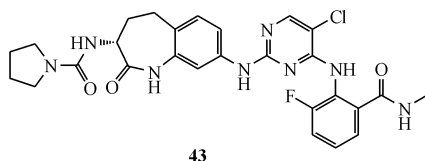


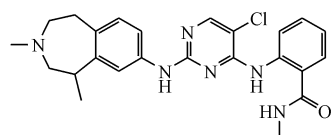
Amgen 公司在保留传统的喹啉环基础上,不断对侧链进行修饰,得到了含有吡啶酮侧链的化

合物 **42** (AMG-458)<sup>[48]</sup>,化合物 **42** 对 c-Met 的 K<sub>i</sub> 为 1.2 nmol/L,对其他酪氨酸激酶的抑制作用稍差。研究人员在经口给予化合物 **42** 的 NIH3T3/TPR-met 和 U-87MG 的大鼠肿瘤异种移植模型中,观察到 **42** 对肿瘤生长的明显抑制作用,且没有体重下降等不良反应。但是,在 NADPH 存在条件下,化合物 **42** 与大鼠和人的肝微粒体共价结合,形成硫醚加合物<sup>[49]</sup>。



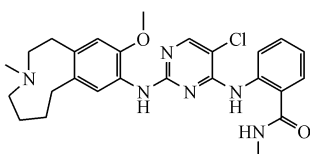
化合物 **43** 是 Cephalon 公司研发的有效 c-Met 抑制剂,中国科学院上海药物研究所的研究人员以受体酪氨酸激酶抑制剂中常见的 2,4-二氨基嘧啶为骨架,引入化合物 **43** 中 C1 位取代的苯并吡啶片段。在苯并吡啶片段中引入烷基不仅使其与 Cephalon 公司的化合物区分开来,而且使得 C1 位取代苯并吡啶片段可能呈一种扭曲构象与 c-Met 或者 ALK 激酶以不同方式更好的结合。化合物 **44** 对 c-Met 和 ALK 两种激酶均有较强的抑制作用,IC<sub>50</sub> 分别为 6.0 和 9.0 nmol/L。化合物 **44** 还对 RON, c-Src, FGFR1 激酶有一定的抑制作用。化合物 **44** 对映异构体中,左旋同分异构体的活性是右旋体的 2~4 倍,并且两种同分异构体对 c-Met 扩增的 EBC-1 细胞以及 ALK 依赖的淋巴瘤 Karpas-299 细胞均有抑制作用,IC<sub>50</sub> 约为 8.0 和 16 nmol/L。在 BF3-EML4-ALK 异种移植小鼠模型中,化合物 **44** 显示出了明显的抗肿瘤活性,剂量为 1 mg/kg 时,抑制率达 60.6%,高于 crizotinib 剂量为 50 mg/kg 的抑制率。研究人员将苯并吡啶扩为更大的九元环,得到化合物 **45**,同时对 c-Met 和 ALK 具有抑制作用,IC<sub>50</sub> 分别为 33 和 36 nmol/L<sup>[50]</sup>。





44

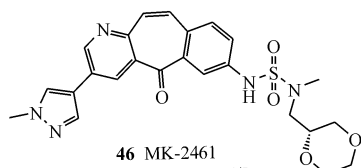
c-Met  $IC_{50}$  = 6 nmol/L  
ALK  $IC_{50}$  = 9 nmol/L



45

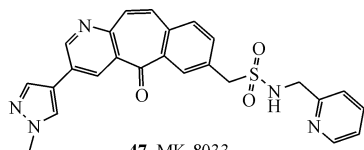
c-Met  $IC_{50}$  = 33 nmol/L  
ALK  $IC_{50}$  = 36 nmol/L

Merck 公司通过高通量筛选得到了独特的七元环骨架激酶抑制剂,通过对先导物的骨架进行修饰,改善成药性,得到多靶点激酶抑制剂化合物 **46** (MK-2461)<sup>[51]</sup>,化合物 **46** 属于 I 类 c-Met 抑制剂,对 c-Met、RON、FLT1 等激酶均有抑制作用, $IC_{50}$  分别为 2, 7, 10 nmol/L。在体内体外活性测试中,对 c-Met 和 FGFR2 诱导的肿瘤活性有明显的抑制作用。目前化合物 **46** 已经完成临床 I 期试验,主要用于晚期实体瘤的治疗。此外,Merck 公司研发的另一个七元环骨架多靶点激酶抑制剂化合物 **47** (MK-8033) 也完成了 I 期临床试验<sup>[52]</sup>。



46 MK-2461

c-Met  $IC_{50}$  = 2 nmol/L  
RON  $IC_{50}$  = 7 nmol/L  
FLT1  $IC_{50}$  = 10 nmol/L



47 MK-8033

### 3 结 语

c-Met 在细胞的增殖、代谢以及肿瘤的产生、转移、血管生成中扮演着重要角色,已成为抗肿瘤治疗的重要靶点。HFG/c-Met 信号通路与其他通路的相互作用影响了抗肿瘤药物的作用效果,产生药物耐药性,因此,多激酶靶点联合用药成为新的抗肿瘤治疗手段,crizotinib 和 cabozantinib 的成功

上市说明了多激酶靶点抑制剂的开发具有很好的潜力和应用价值。但是,将 c-Met 抑制剂转化为药物仍面临一些挑战,比如 c-Met 基因突变和扩增发生的概率不高,作用于 c-Met 的药物可能只在一部分患者中产生较好效果;从基因角度能否深层次识别对 c-Met 抑制剂产生应答的患者;如何选择最佳的联合治疗方法等。相信随着对 HGF/c-Met 通路更进一步的理解和探索,能够逐步解决 c-Met 抑制剂开发中所面临的问题。

### 参 考 文 献

- [1] Maroun CR, Rowlands T. The Met receptor tyrosine kinase: a key player in oncogenesis and drug resistance [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, **142**(3): 316 - 338.
- [2] Cui JJ. Targeting receptor tyrosine kinase MET in cancer: small molecule inhibitors and clinical progress [J]. *J Med Chem*, 2014, **57**(11): 4427 - 4453.
- [3] Giordano S, Columbano A. Met as a therapeutic target in HCC: facts and hopes [J]. *Hepatol*, 2014, **60**(2): 442 - 452.
- [4] Masami H, Masahiro S, Takashi, et al. Up-regulation of c-met protooncogene product expression through hypoxia-inducible factor-1alpha is involved in trophoblast invasion under low-oxygen tension [J]. *Endocrinology*, 2005, **146**(11): 4682 - 4689.
- [5] Vaupel P. The role of hypoxia-induced factors in tumor progression [J]. *Oncologist*, 2004, **9**(5): 10 - 17.
- [6] Jeffrey A, Kreshnik Z, Tetsuya M, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling [J]. *Science*, 2007, **316**(5827): 1039 - 1043.
- [7] Alexa BT, Kreshnik Z, Wu YL, et al. Preexistence and clonal selection of MET amplification in EGFR mutant NSCLC [J]. *Cancer Cell*, 2010, **17**(1): 77 - 88.
- [8] Ted LU, Torsten H, Sheila JM. Discovery of small molecule c-Met inhibitors: evolution and profiles of clinical candidates [J]. *Anti-Cancer Agents Med Chem*, 2010, **10**: 7 - 27.
- [9] Koenig M, Cui JR, Wei CC, et al. Indolinone hydrazides as c-met inhibitors: WO, 2005005378 [P]. 2003-02-07 [2014-10-29].
- [10] Vojkovsky T, Koenig M. Tetracyclic compounds as c-met inhibitors: WO, 2005004808 [P]. 2005-01-20 [2014-10-29].
- [11] Cui JJ, Michele M, Mitchell N, et al. Discovery of a novel class of exquisitely selective mesenchymal-epithelial transition factor (c-MET) protein kinase inhibitors and identification of the clinical candidate 2-(4-(1-(quinolin-6-ylmethyl)-1H-[1,2,3] triazolo [4, 5-b] pyrazin-6-yl)-1H-pyrazol-1-yl) ethanol (PF-04217903) for the treatment of cancer [J]. *J Med Chem*, 2012, **55**(18): 8091 - 8109.
- [12] Cui JJ, Hong S, Michelle TD, et al. Lessons from (S)-6-(1-(6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-[1,2,4] triazolo [4,3-b] pyridazin-3-yl) ethyl) quinoline (PF-04254644), an inhibitor of

- receptor tyrosine kinase c-Met with high protein kinase selectivity but broad phosphodiesterase family inhibition leading to myocardial degeneration in rats[J]. *J Med Chem*, 2013, **56**(17):6651–6665.
- [13] Peters S, Adjei AA. MET: a promising anticancer therapeutic target[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2012, **9**(6):314–326.
- [14] Sharon D, Jason B, Thomas P, *et al.* Species-specific metabolism of SGX523 by aldehyde oxidase and the toxicological implications[J]. *Drug Metab Dispos*, 2010, **38**(8):1277–1285.
- [15] Byung HP, Kyung HJ, Yun SM, *et al.* KRC-327, a selective novel inhibitor of c-Met receptor tyrosine kinase with anticancer activity[J]. *Cancer Lett*, 2013, **331**(2):158–166.
- [16] Albrecht BK, Harmange JC, Bauer D, *et al.* Discovery and optimization of triazolopyridazines as potent and selective inhibitors of the c-Met kinase[J]. *J Med Chem*, 2008, **51**(10):2879–2882.
- [17] Christiane MB, Alessandro AB, Brian KA, *et al.* Discovery and optimization of a potent and selective triazolopyridinone series of c-Met inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, **22**(12):4089–4093.
- [18] Neru M, Jeay S, Li YZ, *et al.* ARQ 197, a novel and selective inhibitor of the human c-Met receptor tyrosine kinase with antitumor activity[J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, **9**(6):1544–1553.
- [19] Gretchen MS, Chen XT, David KW, *et al.* Identification of pyrrolo [2,1-f] [1,2,4] triazine-based inhibitors of Met kinase[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, **18**(6):1945–1951.
- [20] Cai ZW, Wei DN, Gretchen M, *et al.* Discovery of orally active pyrrolopyridine- and aminopyridine-based Met kinase inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, **18**(11):3224–3229.
- [21] Lu W, Ai J, Shen YY, *et al.* SOMCL-863, a novel, selective and orally bioavailable small-molecule c-Met inhibitor, exhibits antitumor activity both *in vitro* and *in vivo*[J]. *Cancer Lett*, 2014, **351**(1):143–150.
- [22] Craig AZ, Jay PT, Lisa DA, *et al.* 2,4-Diaminopyrimidine inhibitors of c-Met kinase bearing benzoxazepine anilines[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, **21**(2):660–663.
- [23] Alessandro F, Francesco C, Andrea K, *et al.* Identification of new amino acid amides containing the imidazo [2,1-b] benzothiazol-2-ylphenyl moiety as inhibitors of tumorigenesis by oncogenic Met signaling[J]. *Eur J Med Chem*, 2012, **47**(1):239–254.
- [24] Hong SW, Jung KH, Byung HP, *et al.* KRC-408, a novel c-Met inhibitor, suppresses cell proliferation and angiogenesis of gastric cancer[J]. *Cancer Lett*, 2013, **332**(1):74–82.
- [25] He CX, Ai J, Xing WQ, *et al.* Yhhu3813 is a novel selective inhibitor of c-Met kinase that inhibits c-Met-dependent neoplastic phenotypes of human cancer cells[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, **35**(1):89–97.
- [26] Kang ST, Kim EY, Raghavendra A, *et al.* Discovery of substituted 6-phenyl-3H-pyridazin-3-one derivatives as novel c-Met kinase inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, **24**:5093–5097.
- [27] Joanne VA, Catherine B, Kevin B, *et al.* The discovery of benzanilides as c-Met receptor tyrosine kinase inhibitors by a directed screening approach[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, **21**(18):5224–5229.
- [28] Xu JM, Ai J, Liu S, *et al.* Design and synthesis of 3,3'-biscoumarin-based c-Met inhibitors[J]. *Org Biomol Chem*, 2014, **12**(22):3721–3734.
- [29] Liu XD, Wang Q, Yang GJ, *et al.* A novel kinase inhibitor, IN-CB28060, blocks c-MET-dependent signaling, neoplastic activities, and cross-talk with EGFR and HER-3[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, **17**(22):7127–7138.
- [30] Friedhelm B, Bettina F, Manja FH, *et al.* EMD 1214063 and EMD 1204831 constitute a new class of potent and highly selective c-Met inhibitors[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, **19**(11):2941–2951.
- [31] Mohammadi M, Froum S, Hamby JM, *et al.* Crystal structure of an angiogenesis inhibitor bound to the FGF receptor tyrosine kinase domain[J]. *MBO J*, 1998, **17**(20):5896–5904.
- [32] Alex K, Casie R, Kim LR, *et al.* Autocrine activation of the MET receptor tyrosine kinase in acute myeloid leukemia[J]. *Nat Med*, 2012, **18**(7):1118–1122.
- [33] Marta PR, Elizabeth A, James H, *et al.* Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2009, **15**(3):220–231.
- [34] Barbara S, Toshina IO, Wei Y, *et al.* Suppression of tumor invasion and metastasis by concurrent inhibition of c-Met and VEGF signaling in pancreatic neuroendocrine tumors[J]. *Cancer Discov*, 2012, **2**(3):270–287.
- [35] Hal EC, Anindya D, Carlos SA, *et al.* PHA665752, a small-molecule inhibitor of c-Met, inhibits hepatocyte growth factor-stimulated migration and proliferation of c-Met positive neuroblastoma cells[J]. *Bio Med Central Cancer*, 2009, **9**:411–413.
- [36] James GC, Helen YZ, Maria EA, *et al.* Cytochrome reductive antitumor activity of PF-2341066, a novel inhibitor of anaplastic lymphoma kinase and c-Met, in experimental models of anaplastic large-cell lymphoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, **6**(12):3314–3322.
- [37] Steinig AG. Novel 6-aminofuro [3,2-c] pyridines as potent, orally efficacious inhibitors of cMET and RON kinases[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, **23**(15):4381–4387.
- [38] Fujiwara. Quinoline derivative and quinazoline derivative inhibiting self-phosphorylation of hepatocytus proliferator receptor and medicinal composition containing the same; US, 8324245B2 [P]. 2012-12-04 [2014-10-29].
- [39] Stephen C, Franck R, Granger MC, *et al.* Discovery of a novel and potent series of thieno [3,2-b] pyridine-based inhibitors of c-Met and VEGFR2 tyrosine kinases[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, **18**(9):2793–2798.
- [40] Yakes FM, Jason C, Jenny T, *et al.* Cabozantinib (XL184), a novel MET and VEGFR2 inhibitor, simultaneously suppresses metastasis, angiogenesis, and tumor growth[J]. *Mol Cancer Ther*, 2011, **10**(12):2298–2308.
- [41] Qian F, Stefan E, Kyoko Y, *et al.* Inhibition of tumor cell growth,

- invasion, and metastasis by EXEL-2880 (XL880, GSK1363089), a novel inhibitor of HGF and VEGF receptor tyrosine kinases[J]. *Cancer Res*, 2009, **69**(20):8009–8016.
- [42] Takayuki N, Osamu T, Atsumi Y, et al. E7050: a dual c-Met and VEGFR-2 tyrosine kinase inhibitor promotes tumor regression and prolongs survival in mouse xenograft models[J]. *Cancer Sci*, 2010, **101**(1):210–215.
- [43] Li S, Zhao YF, Wang KW, et al. Discovery of novel 4-(2-fluorophenoxy) quinoline derivatives bearing 4-oxo-1,4-dihydrocinoline-3-carboxamide moiety as c-Met kinase inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, **21**(11):2843–2855.
- [44] Qi BH, Mi B, Zhai X, et al. Discovery and optimization of novel 4-phenoxy-6,7-disubstituted quinolines possessing semicarbazones as c-Met kinase inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, **21**(17):5246–5260.
- [45] Gretchen MS, An YM, Cai ZW, et al. Discovery of *N*-(4-(2-amino-3-chloropyridin-4-yl)-3-fluorophenyl)-4-ethoxy-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (BMS-777607), a selective and orally efficacious inhibitor of the Met kinase superfamily[J]. *J Med Chem*, 2009, **52**:1251–1254.
- [46] Yoshiko A, Kazuhide N, Akio M, et al. A novel inhibitor of c-Met and VEGF receptor tyrosine kinases with a broad spectrum of *in vivo* antitumor activities[J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, **12**(6):913–924.
- [47] Yan SB, Victoria LP, Rose A, et al. LY2801653 is an orally bio-available multi-kinase inhibitor with potent activity against MET, MST1R, and other oncoproteins, and displays anti-tumor activities in mouse xenograft models[J]. *Invest New Drugs*, 2013, **31**(4):833–844.
- [48] Liu LB, Mark HN, Lee M, et al. Structure-based design of novel class II c-Met inhibitors; 2. SAR and kinase selectivity profiles of the pyrazolone series[J]. *J Med Chem*, 2012, **55**(5):1868–1897.
- [49] She NF, Zhuo LS, Jiang W, et al. Design, synthesis and evaluation of highly selective pyridone-based class II MET inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, **24**(15):3351–3355.
- [50] Liu ZQ, Ai J, Peng X, et al. Novel 2,4-diarylamino pyrimidine analogues (DAAPalogues) showing potent c-Met/ALK multikinase inhibitory activities[J]. *Med Chem Lett*, 2014, **5**(4):304–308.
- [51] Jason DK, James PJ, David JG, et al. Discovery of a 5*H*-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-*b*]pyridin-5-one (MK-2461) inhibitor of c-Met kinase for the treatment of cancer[J]. *J Med Chem*, 2011, **54**(12):4092–4108.
- [52] Alan BN, Matthew HK, Michael DA, et al. Discovery of 1-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-5-oxo-5*H*-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-*b*]pyridin-7-yl]-*N*-(pyridin-2-ylmethyl)methanesulfonamide (MK-8033): a specific c-Met/RON dual kinase inhibitor with preferential affinity for the activated state of c-Met[J]. *J Med Chem*, 2013, **56**(6):2294–2310.