

## 含芳氧吡啶酮结构片段的噻唑啉酮脲衍生物的设计、合成及抗肿瘤活性研究

祁宝辉\*, 杨颖, 官帼唯, 何欢, 岳续朋, 徐昕, 王雅溶

(遵义医学院珠海校区生物工程系, 广东 珠海 519041)

**摘要:** 本文以 cabozantinib 为先导物, 基于已有的 c-Met 激酶抑制剂的构效关系, 设计并合成了 13 个结构新颖的小分子抑制剂, 其结构经  $^1\text{H}$ NMR、 $^{13}\text{C}$ NMR 和 HR-MS 确证。采用 MTT 法对所合成的化合物进行了体外抗肿瘤活性测试, 采用实时动态活细胞成像法和流式细胞术对体外抗肿瘤作用机制进行了初步研究。结果表明, 所设计的大多数化合物对人非小细胞肺癌细胞 A549 和人结肠癌细胞 HT-29 有较好的抑制作用, 活性优于 cabozantinib; 化合物对 HT-29 细胞除具有明显的杀伤作用外, 还可抑制其增殖, 促进细胞凋亡。

**关键词:** 芳氧吡啶酮; 噻唑啉酮脲; 设计; 合成; 抗肿瘤活性

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 10-1696-09

## Design, synthesis and study of anti-tumor activity of thiazolinone urea derivatives bearing aryloxypyridinone fragments

QI Bao-hui\*, YANG Ying, GONG Guo-wei, HE Huan, YUE Xu-peng, XU Xin, WANG Ya-rong

(Department of Bioengineering, Zhuhai Campus of Zunyi Medical University, Zhuhai 519041, China)

**Abstract:** Taking cabozantinib as leading compound, 13 novel small molecular c-Met inhibitors were designed and synthesized based on the obtained structure-activity relationships (SARs) of c-Met inhibitors. The structures of compounds were confirmed by  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR and HR-MS. *In vitro* anti-tumor activity was evaluated by MTT method, and the mechanism was preliminarily disclosed by real-time dynamic living cell imaging and flow cytometry analysis. The results indicated that most of compounds showed good inhibition activity against human non-small-cell carcinoma cell A549 and human colorectal cancer cell HT-29 which was superior to cabozantinib. Compounds showed excellent cytotoxicity and anti-proliferative activity against HT-29, and promoted cell apoptosis.

**Key words:** aryloxypyridinone; thiazolinone ureas; design; synthesis; anti-tumor activity

间叶上皮细胞转变因子 (mesenchymal-epithelia transition factor, MET) 是受体酪氨酸激酶家族的一个重要成员<sup>[1]</sup>。它被证实是受体酪氨酸激酶家族中唯一能与肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor,

HGF) 结合的高亲和受体, 故也被称为肝细胞生长因子受体。异常的 HGF/c-Met 活性与肿瘤的发生、转移和耐药性等有着十分密切的关系, 它在多种肿瘤组织中呈现异常的高表达、突变及活性改变等特征, 如肺癌、结肠癌、前列腺癌、卵巢癌及头颈部癌等<sup>[2,3]</sup>。

c-Met 激酶位于导致肿瘤形成及转移的众多通路的交叉点, 主要包括丝裂原活化蛋白酶通路、磷酸肌醇 3 激酶-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白通路和转录激活因子等通路<sup>[4-7]</sup>。因此, 以 c-Met 激酶为靶点可相对

收稿日期: 2018-08-20; 修回日期: 2018-08-31.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21562053); 贵州省科学技术基金项目资助 (黔科合 J 字[2014]2181 号); 贵州省科技合作计划项目资助 (黔科合 LH 字[2015]7523 号).

\*通讯作者 Tel: 86-756-7623365, E-mail: bhqi@zmu.gd.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0760

容易地实现对多种肿瘤信号通路的同时干扰,一旦肿瘤细胞中异常活化的 HGF/c-Met 信号通路被阻断,肿瘤细胞就会出现增殖减缓、成瘤性下降或侵袭能力减弱等一系列变化。因而, c-Met 激酶已成为肿瘤靶向治疗的重要靶点之一<sup>[8]</sup>。

对 c-Met 激酶的结构及其作用机制的深入研究表明,小分子 c-Met 激酶抑制剂是对其催化结构域进行竞争性结合而产生抑制作用的。c-Met 激酶催化结构域为一高度保守的催化核心区域,含有 1 个起始端——DFG (天冬氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸, Asp-Phe-Gly) 序列和 1 个终止端——含 APE (丙氨酸-脯氨酸-谷氨酸, Ala-Pro-Glu) 序列的环状活化区域。该区域存在着多种构象,当 DFG 序列中的 Asp 和 Phe 朝向 ATP 结合位点时,为激酶活化构象,该构象被称为“DFG-in”;当 DFG 序列中的 Phe 朝向 ATP 结合位点时,为激酶的非活化构象,其被称为“DFG-out”<sup>[9]</sup>。

目前,小分子抑制剂按结合方式主要分为 Type I、Type II 及 Type III 三种<sup>[10-13]</sup>。Type I 抑制剂主要竞争性抑制激酶的铰链区域,属于 ATP 竞争性抑制剂,针对“DFG-in”构象;“DFG-out”非活化构象与“DFG-in”活化构象相比,多出一个邻近 ATP 结

合位点的疏水口袋,亦称为变构位点。它的氨基酸序列不如 ATP 结合口袋的氨基酸序列保守,起到调节激酶选择性的作用,以此为基础的抑制剂被定义为 Type II 抑制剂。此外,所有的 Type II 抑制剂都含有一个疏水部分,该部分在氢键形成后立即与变构位点产生范德华力。尽管 Type II 抑制剂是以占据变构位点为特征的,但它们还可伸入至腺嘌呤区域,并采取与 Type I 抑制剂类似的结合方式与激酶铰链部位的氨基酸残基形成氢键。与 Type I 抑制剂相比,Type II 抑制剂可改动空间较大,结构类型较丰富,主要分为噻吩并吡啶类、氨基吡啶类及噻唑类等几大类,如图 1 所示<sup>[14,15]</sup>。其中, cabozantinib 于 2012 年 12 月被美国 FDA 批准上市,临床上主要用于治疗甲状腺髓样癌,它是目前唯一上市的 Type II 抑制剂。

基于以上及课题组已有的小分子 c-Met 激酶抑制剂的构效关系<sup>[16-18]</sup>,本文将潜在药理活性较好的噻唑啉酮脲与吡啶酮结构片段引入至先导物 cabozantinib 中,再对其进行局部结构修饰,设计、合成了 13 个结构新颖的小分子 c-Met 激酶抑制剂(如图 2 所示),并对其进行了体外生物活性研究,初步总结了该类抑制剂的构效关系。

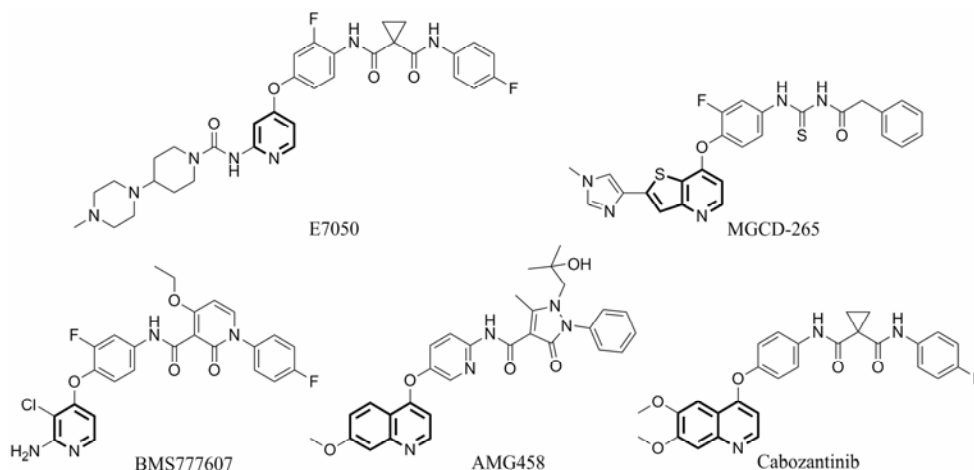


Figure 1 Structures of representative type II c-Met inhibitors

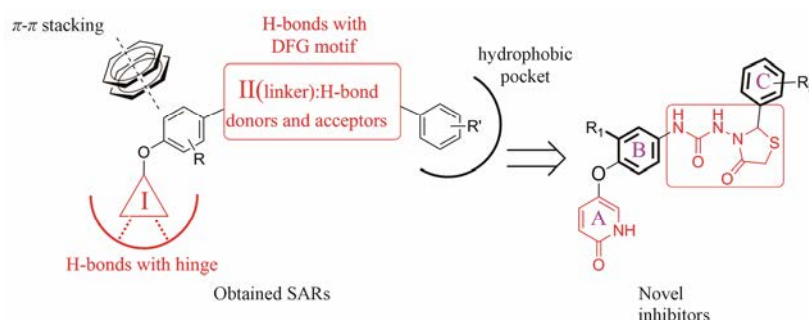


Figure 2 The design of novel type II c-Met inhibitors

## 结果与讨论

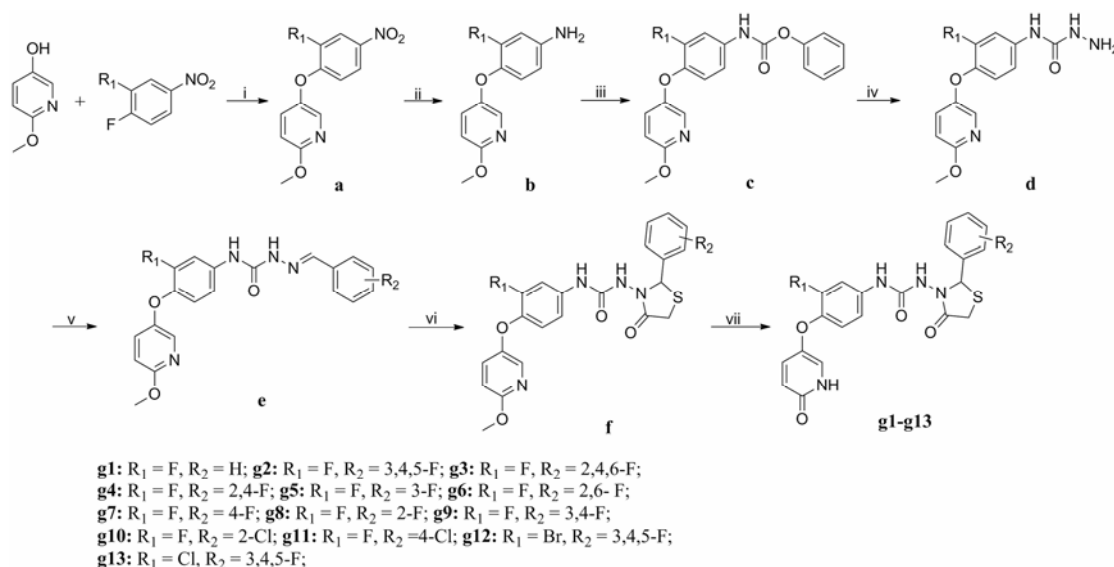
### 1 化学合成

目标化合物的合成方法如路线 1 所示, 以市售的 2-甲氧基-5-羟基吡啶和 3,4-二氟硝基苯为起始原料, 经亲核取代反应制得中间体 **a**, 它再经还原、酰化、肼解、缩合、环合与脱甲基等过程制得目标化合物 **g1**~**g11**; 采用类似的方法制得目标化合物 **g12** 和 **g13**<sup>[18,19]</sup>。部分中间体及目标化合物的结构经 <sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR 和 HR-MS 确证, 具体数据见后文实验部分。

### 2 生物活性评价

#### 2.1 体外抗肿瘤活性及初步构效关系 以 cabozantinib

为阳性对照物, 采用四甲基偶氮唑盐比色法 (MTT 法) 对合成的化合物进行初步的体外抗肿瘤活性测试, 结果表明该系列化合物对人非小细胞肺癌细胞 A549 和人结肠癌细胞 HT-29 两个细胞系表现出优于人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的抑制活性。其中, 化合物 **g2** 和 **g9** 的体外抗肿瘤活性明显优于 cabozantinib。初步构效关系表明: ① C 环 (如图 2 所示) 被氟原子取代时, 对抑制活性较为有利, 尤其是氟原子位于间、对位; ② B 环 (如图 2 所示) 的 3 位为氟原子 (**g2**) 取代时, 抗肿瘤活性优于氯原子 (**g13**) 和溴原子 (**g12**) 取代物 (表 1)。



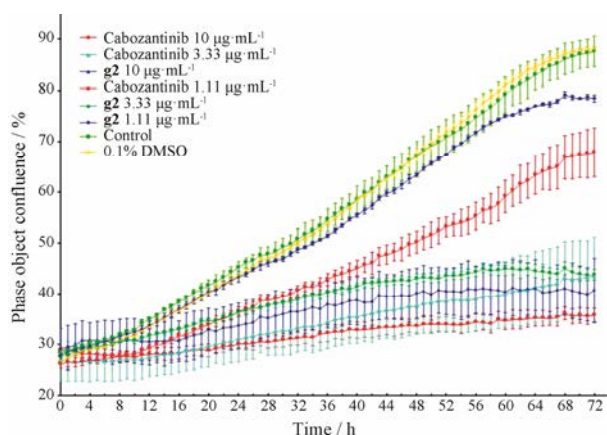
**Scheme 1** Synthetic routes of target compounds **g1**–**g13**. Reagents and conditions: i) Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 80 °C, 6 h; ii) Fe, 90% EtOH-H<sub>2</sub>O, reflux, 3 h; iii) Phenyl chloroformate, pyridine, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 4 h; iv) 80% hydrazine hydrate, xylene, 60 °C, 4 h; v) Aromatic aldehydes, HOAc, *i*-PrOH, reflux, 2 h; vi) Mercapto acetic acid, SiCl<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, reflux, 5 h; vii) TMSCl, NaI, MeCN, reflux, 2 h

**Table 1** Anti-tumor activity of target compounds against A549, HT-29 and MDA-MB-231 cells. a: The values were an average of three separate determinations and standard deviations were shown; b: ND: Not determined

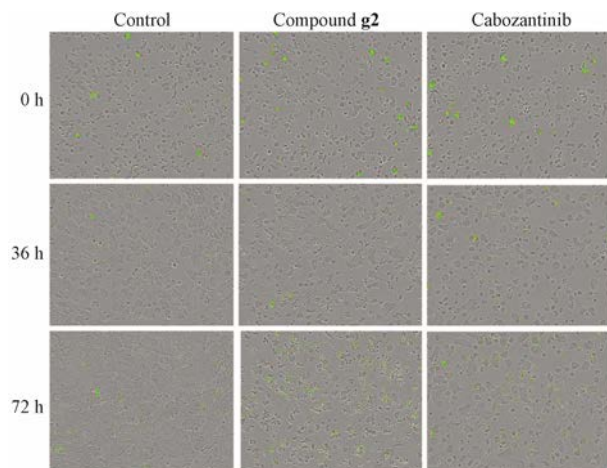
Compd.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	IC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1a</sup>		
			A549	HT-29	MDA-MB-231
<b>g1</b>	F	H	14.7 ± 1.3	8.62 ± 0.67	28.1 ± 2.5
<b>g2</b>	F	3,4,5-F	5.86 ± 0.47	3.17 ± 0.34	15.4 ± 1.3
<b>g3</b>	F	2,4,6-F	9.62 ± 0.91	7.57 ± 0.77	ND <sup>b</sup>
<b>g4</b>	F	2,4-F	10.7 ± 1.1	7.41 ± 0.65	ND
<b>g5</b>	F	3-F	11.5 ± 1.2	6.22 ± 0.53	21.4 ± 2.1
<b>g6</b>	F	2,6-F	10.2 ± 0.93	8.38 ± 0.77	ND
<b>g7</b>	F	4-F	12.1 ± 1.2	7.89 ± 0.81	ND
<b>g8</b>	F	2-F	12.6 ± 1.1	8.75 ± 0.75	ND
<b>g9</b>	F	3,4-F	7.61 ± 0.62	4.58 ± 0.39	15.3 ± 1.4
<b>g10</b>	F	2-Cl	16.4 ± 1.4	9.75 ± 0.86	ND
<b>g11</b>	F	4-Cl	15.5 ± 1.5	10.8 ± 0.97	ND
<b>g12</b>	Br	3,4,5-F	17.5 ± 1.6	13.4 ± 1.1	19.5 ± 1.4
<b>g13</b>	Cl	3,4,5-F	13.6 ± 1.4	11.2 ± 0.92	18.0 ± 0.22
Cabozantinib	–	–	10.2 ± 0.97	9.3 ± 0.86	16.9 ± 1.4

**2.2 抑制增殖和杀伤作用** 为初步了解该系列化合物的体外抗肿瘤作用机制, 采用实时动态活细胞成像法对活性较好的化合物 **g2** 进行了高内涵的抗肿瘤活性研究。结果表明, 化合物 **g2** 对 HT-29 细胞的增殖具有一定的抑制作用, 较 cabozantinib 稍弱, 如图 3 和图 4 所示。此外, 化合物 **g2** 对 HT-29 细胞表现出了明显的杀伤作用, 3 个实验浓度下的杀伤作用均优于 cabozantinib。在 10 和  $3.33 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  两个浓度下, 化合物 **g2** 的杀伤能力分别为阳性药的 1.4 倍和 2.4 倍 (以杀死的细胞数计), 如图 5 和图 6 所示。

**2.3 凋亡检测** 通过流式细胞仪的检测发现, 与空白组对比, 化合物 **g2** 能够促进 HT-29 细胞凋亡, 尤其是早期凋亡。如图 7 所示, 给药浓度为  $5.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$



**Figure 3** Real-time cell confluence study in HT-29 cell line. The cell population was monitored for 72 h using an IncuCyte ZOOM system in an incubator. HT-29 cells were incubated with 0.1% DMSO or exposed to compound **g2** or cabozantinib at different concentration. Error bars:  $\pm$  SD from  $n=3$  and all SD values are below 0.05



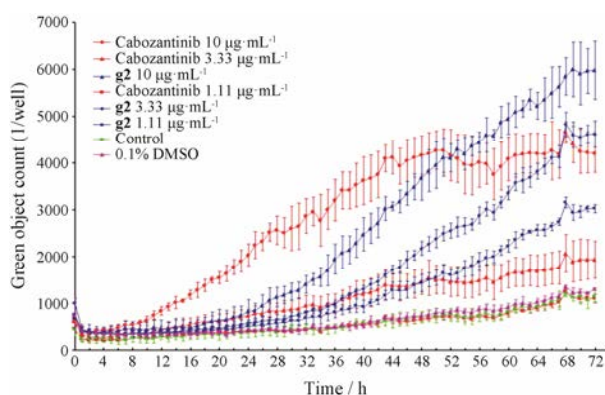
**Figure 4** Phase-contrast images (merged) of HT-29 cells after 0, 36 and 72 h of treatment with compound **g2** ( $3.33 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), cabozantinib ( $3.33 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) or not. Green fluorescent cells were counted as dead cells

时, 化合物 **g2** 作用 72 h 后, 早期凋亡比例为 21.9%, 弱于阳性 (76.7%)。当浓度达到  $10.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  时, 早期凋亡比例增加到 49.5%。早期凋亡的细胞数量随着剂量的增加而增加, 呈现浓度依赖性。

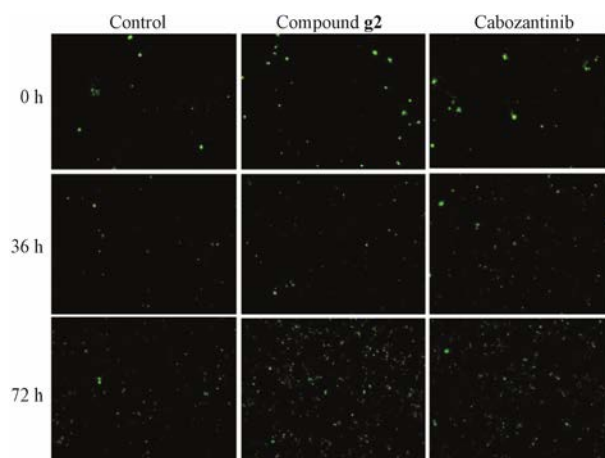
**2.4 靶点的初步筛选** 为初步了解该系列化合物的作用靶点, 本研究选取体外抗肿瘤活性较好的化合物 **g2**, 分别测试其对 c-Met、KDR、c-Kit、c-Src、ALK 和 HER-2 六种激酶的抑制活性。结果显示, 化合物 **g2** 对 c-Met、KDR 和 c-Kit 激酶表现出不同程度的抑制作用, 对其他几种激酶无明显抑制作用 (表 2)。

### 3 分子对接

应用 Molecular Operating Environment (MOE) 软件将活性较优的化合物 **g2** 与 c-Met 蛋白晶体进行



**Figure 5** Real-time cytotoxicity study in HT-29 cell line. The dead cell population was monitored for 72 h using an IncuCyte ZOOM system in an incubator. HT-29 cells were incubated with 0.1% DMSO or exposed to compound **g2** or cabozantinib at different concentration. Error bars:  $\pm$  SD from  $n=3$  and all SD values are below 0.05 except the results of  $1.11 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  cabozantinib



**Figure 6** Phase-contrast images (green light) of HT-29 cells after 0, 36 and 72 h of treatment with compound **g2** ( $3.33 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), cabozantinib ( $3.33 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) or not. Green fluorescent cells were counted as dead cells

**Table 2** Kinase profile of compound **g2**. \*The values are average of two independent determinations

Compd.	Kinases (IC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup> )*					
	c-Met	KDR	c-Kit	c-Src	ALK	HER-2
<b>g2</b>	0.29	2.6	4.2	>10	>10	>10

模拟对接。结果如图 8 所示, 化合物 **g2** 在结合口袋内与 c-Met 的作用力主要有: ① 吡啶酮环和噻唑啉酮脲结构片段与 Met1160、Asp1222 和 Glu1127 形成牢固的氢键; ② 吡啶酮环及三氟取代苯环 (C 环) 分别与 Asp1222 和 Ile1084 产生 H- $\pi$  作用; ③ 单氟取代的苯环 (B 环) 与 Phe1223 产生的  $\pi$ - $\pi$  相互作用。

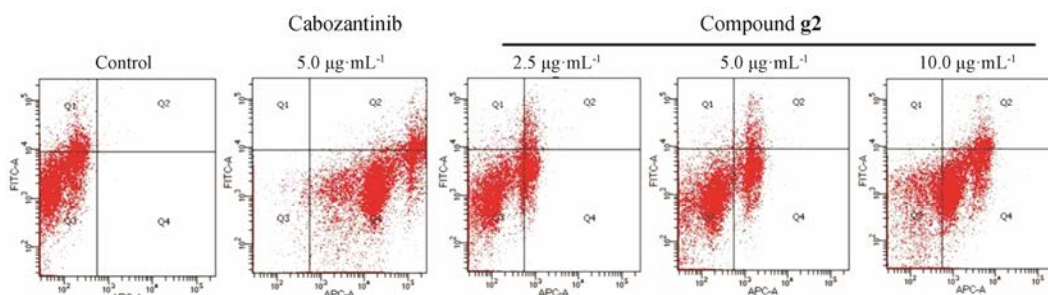
#### 4 小结

本文以 cabozantinib 为先导物, 设计、合成了 13 个含芳氧吡啶酮结构片段的噻唑啉酮脲衍生物作为新型 c-Met 激酶抑制剂。生物活性研究结果表明, 该类化合物的主要作用靶点为 c-Met 激酶, 对 KDR 和

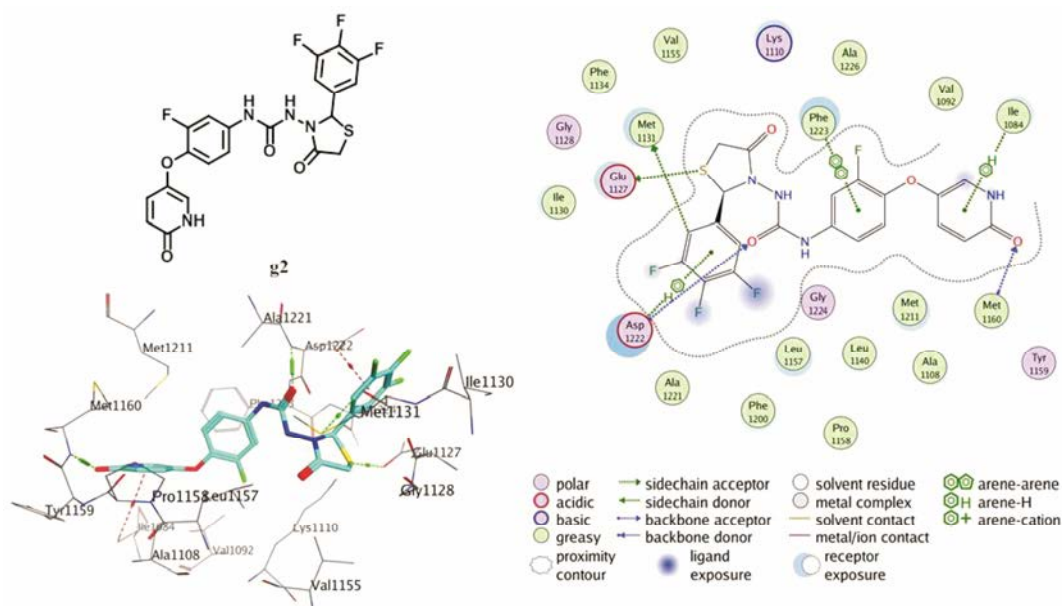
c-Kit 两种激酶表现出较弱的抑制活性; 对 A549 和 HT-29 两种肿瘤细胞表现出一定的体外抗肿瘤活性。其中, 化合物 **g2** 对两种肿瘤细胞的杀伤和抑制增殖的作用均明显优于 cabozantinib。通过本研究, 进一步拓宽了 Type II 类 c-Met 激酶抑制剂的结构类型, 对新型抗肿瘤药物的研究具有一定的指导意义。

#### 实验部分

3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐 (MTT, 美国 Sigma 公司); 胎牛血清 (浙江天杭生物科技股份有限公司); Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 培养基、胰蛋白酶消化液及青霉素/链霉素双抗溶液及 PBS 缓冲液 (美国 HyClone 公司); 激酶试剂盒 (日本 Carna Biosciences 公司); EDTA 和 ATP (美国 Sigma 公司); 柱色谱硅胶 200~300 目 (青岛海洋化工厂), 其他所有试剂均为市售分析纯或化学纯。



**Figure 7** Quantitative analysis of massive apoptosis caused by compound **g2**. The upper right represents late apoptosis as detected by annexin V/PI staining, the lower right represents early apoptosis as detected by only annexin V staining. The image represents the results from one of three independent experiments



**Figure 8** The structure of compound **g2** and its proposed binding mode with c-Met kinase (PBD ID: 3LQ8). The compound was shown by blue sticks, H-bonds were represented by green dotted lines, and arene-H interaction was shown by red dotted lines

Bruker AM-400 型核磁共振仪 (Bruker 公司); Agilent 6530 四极杆-飞行时间串联质谱仪 (美国 Agilent 公司); 多功能酶联免疫检测仪 (美国 Thermo Fisher 公司); 集热式恒温加热磁力搅拌器 (DF-101S) (巩义市予华科技有限公司); FACS Calibur 流式细胞仪 (美国 Beckman Coulter 公司); 实时动态活细胞成像系统 (美国 Essen 公司)。

## 1 化合物的合成

**1.1 5-(2-氟-4-硝基苯氧基)-2-甲氧基吡啶 (a) 的合成** 将 2-甲氧基-5-羟基吡啶 (10.0 g, 80.0 mmol) 和 3,4-二氟硝基苯 (15.3 g, 96.0 mmol) 加入至 60 mL 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 再加入碳酸铯 (39.0 g, 120.0 mmol), 加毕, 80 °C 搅拌 6 h。将反应液冷却至室温, 倒入 400 mL 冰水中, 搅拌, 抽滤, 得土黄色固体 15.3 g, 收率 72.6%。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 7.83 (m, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.28 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.16 (m, 1H), 6.60 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H)。HR-MS (ESI) *m/z*: 265.0589 [M+H]<sup>+</sup>。

**1.2 3-氟-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯胺 (b) 的合成** 将中间体 a (15.0 g, 56.8 mmol) 加入至 150 mL 的 90% 乙醇-水溶液中, 再加入还原铁粉 (9.5 g, 170.5 mmol) 和 0.5 mL 浓盐酸, 回流 3 h。趁热抽滤, 滤液浓缩至约 30 mL, 0 °C 冷却析晶, 抽滤, 得黄色固体 11.1 g, 收率 83.5%。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 7.47 (s, 1H), 7.26 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.17 (m, 1H), 6.75 (m, 1H), 6.68 (m, 1H), 6.60 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.59 (s, 2H), 3.85 (s, 3H); HR-MS (ESI) *m/z*: 235.0865 [M+H]<sup>+</sup>。

**1.3 3-氟-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯基氨基甲酸苯酯 (c) 的合成** 将干燥的中间体 b (10.0 g, 42.7 mmol) 加入至 100 mL 干燥的二氯甲烷中, 再加入吡啶 (10.1 g, 128.2 mmol), 搅拌 10 min; 0 °C 下, 滴入氯甲酸苯酯 (10.0 g, 64.1 mmol), 滴毕, 室温继续搅拌 4 h。向反应液中加入 50 mL 饱和碳酸氢钠水溶液, 分出有机相, 水洗一次, 减压蒸除二氯甲烷, 得黄色油状物 (直接用于下一步)。

**1.4 *N*-{3-氟-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯基}氨基脲 (d) 的合成** 将上述所得油状物 c 加入至 50 mL 二甲苯中, 再加入 50 mL 的 80% 水合肼, 60 °C 搅拌 4 h。冷却至室温, 抽滤, 滤饼用少量水洗, 干燥, 得乳白色固体 4.6 g。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 7.45 (s, 1H), 7.24 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.16 (m, 1H), 6.74 (m, 1H), 6.67 (m, 1H), 6.58 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H),

3.85 (s, 3H); HR-MS (ESI) *m/z*: 293.1026 [M+H]<sup>+</sup>。

**1.5 *N*<sup>1</sup>-{3-氟-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯基}-*N*<sup>4</sup>-苯亚甲基缩氨基脲 (e) 的合成** 将中间体 d (0.4 g, 1.37 mmol) 和苯甲醛 (0.17 g, 1.64 mmol) 加入至 4 mL 异丙醇中, 再加入 1 滴冰乙酸, 回流 2 h。冷却至室温, 抽滤, 得白色固体 0.43 g, 收率 84.2%。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 9.02 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.53~7.58 (m, 3H), 7.47 (s, 1H), 7.34~7.39 (m, 2H), 7.28 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.16 (m, 1H), 6.76 (m, 1H), 6.67 (m, 1H), 6.62 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H); HR-MS (ESI) *m/z*: 381.1347 [M+H]<sup>+</sup>。

**1.6 *N*<sup>1</sup>-{3-氟-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯基}-*N*<sup>3</sup>-(4-氧代-2-苯基噻唑啉-3-基)脲 (f) 的合成** 将中间体 e (0.43 g, 1.13 mmol) 加入至 5 mL 干燥的二氯甲烷中, 依次加入巯基乙酸 (0.52 g, 5.65 mmol) 和 0.5 mL 四氯化硅, 加毕, 回流 5 h。向反应液中加入 5 mL 冰水, 10% 氢氧化钠水溶液调 pH 至 9, 抽滤, 固体经柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 30 : 1) 分离纯化得白色固体 0.24 g, 收率 46.8%。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 8.85 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.54~7.58 (m, 3H), 7.46 (s, 1H), 7.33~7.39 (m, 2H), 7.27 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.17 (m, 1H), 6.74 (m, 1H), 6.65 (m, 1H), 6.60 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.89 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.81 (m, 2H); HR-MS (ESI) *m/z*: 455.1178 [M+H]<sup>+</sup>。

**1.7 *N*<sup>1</sup>-{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}-*N*<sup>3</sup>-(4-氧代-2-苯基噻唑啉-3-基)脲 (g1) 的合成** 将中间体 f (0.2 g, 0.44 mmol) 加入至 2 mL 干燥的乙腈中, 再加入三甲基氯硅烷 (0.48 g, 4.4 mmol) 和碘化钠 (0.20 g, 1.32 mmol), 回流 2 h。向反应液中加入 10% 水溶液至 pH 为 8, 乙酸乙酯萃取 (2×5 mL), 无水硫酸钠干燥, 蒸干, 柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 20 : 1) 分离纯化的白色固体 0.11 g, 收率 56.7%。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 11.37 (br, 1H), 9.05 (br, 1H), 8.77 (s, 1H), 7.52~7.58 (m, 3H), 7.37~7.47 (m, 5H), 7.11~7.14 (m, 1H), 7.02~7.07 (m, 1H), 6.45 (d, 1H), 5.86 (s, 1H), 3.80~3.94 (m, 2H); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  169.58, 161.10 (2C), 154.14, 153.93, 151.53, 140.66, 140.35, 139.33, 136.29, 135.04, 131.53, 127.26, 120.41, 119.15, 115.47, 112.43, 112.36, 104.59, 56.41, 29.53; HR-MS (ESI) *m/z*: 441.0996 [M+H]<sup>+</sup>。

**1.8 化合物 g2~g13 的合成** 采用类似于化合物 g1 的合成方法制备化合物 g2~g13。

***N*<sup>1</sup>-{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}-*N*<sup>3</sup>-(4-氧代-2-(3,4,5-三氟苯基)噻唑啉-3-基)脲 (g2)** 白色固体, 收率 47.3%。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,

400 MHz)  $\delta$ : 11.34 (br, 1H), 9.07 (br, 1H), 8.63 (s, 1H), 7.61~7.68 (m, 1H), 7.44~7.53 (m, 2H), 7.32~7.37 (m, 2H), 7.07~7.11 (m, 1H), 6.97~7.03 (m, 1H), 6.41 (d, 1H), 5.82 (s, 1H), 3.74~3.93 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  169.67, 161.13 (2C), 154.13, 153.98, 151.53, 140.68, 139.48, 139.35, 138.37, 135.03, 131.55, 127.20, 120.43, 119.25, 115.31, 112.54, 112.35, 104.72, 56.41, 29.60; HR-MS (ESI)  $m/z$ : 495.072 6 [M+H] $^+$ .

$N^1$ -{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}- $N^3$ -[4-氧代-2-(2,4,6-三氟苯基)噻唑啉-3-基]脲 (g3) 白色固体, 收率 41.4%。 $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 11.33 (br, 1H), 9.08 (br, 1H), 8.72 (s, 1H), 7.67~7.74 (m, 1H), 7.49~7.55 (m, 3H), 7.28~7.36 (m, 2H), 7.14~7.19 (m, 1H), 7.08~7.11 (m, 1H), 6.98~7.04 (m, 1H), 6.41 (d, 1H), 6.01 (s, 1H), 3.76~3.93 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  169.68, 161.12 (2C), 154.14, 153.99, 151.55, 140.68, 139.49, 139.36, 138.39, 135.05, 131.57, 127.21, 120.43, 119.26, 115.32, 112.54, 112.36, 104.71, 56.43, 29.60; HR-MS (ESI)  $m/z$ : 495.071 9 [M+H] $^+$ .

$N^1$ -{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}- $N^3$ -[4-氧代-2-(2,4-二氟苯基)噻唑啉-3-基]脲 (g4) 白色固体, 收率 52.9%。 $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 11.34 (br, 1H), 9.13 (br, 1H), 8.78 (s, 1H), 7.67~7.72 (m, 1H), 7.49~7.53 (m, 3H), 7.28~7.38 (m, 3H), 7.14~7.18 (m, 1H), 7.09~7.12 (m, 1H), 6.98~7.03 (m, 1H), 6.40 (d, 1H), 6.02 (s, 1H), 3.76~3.90 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  169.67, 161.11 (2C), 154.14, 153.97, 151.55, 140.68, 139.47, 139.36, 136.26, 135.01, 131.56, 127.22, 120.43, 119.26, 115.30, 112.54, 112.33, 104.71, 56.42, 29.59; HR-MS (ESI)  $m/z$ : 477.081 7 [M+H] $^+$ .

$N^1$ -{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}- $N^3$ -[4-氧代-2-(3-氟苯基)噻唑啉-3-基]脲 (g5) 白色固体, 收率 48.4%。 $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 11.34 (br, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 7.49~7.53 (m, 1H), 7.31~7.46 (m, 5H), 7.17~7.22 (m, 1H), 7.08~7.11 (m, 1H), 6.98~7.02 (m, 1H), 6.40 (d, 1H), 5.85 (s, 1H), 3.74~3.92 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  169.67, 161.11 (2C), 154.05, 153.96, 151.54, 140.68, 139.34, 139.33, 136.37, 136.28, 135.01, 131.15, 131.07, 127.23, 120.42, 119.26, 116.30, 116.09, 56.42, 29.59; HR-MS (ESI)  $m/z$ : 459.089 8 [M+H] $^+$ .

$N^1$ -{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}- $N^3$ -[4-氧代-2-(2,6-二氟苯基)噻唑啉-3-基]脲 (g6)

白色固体, 收率 50.1%。 $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 11.35 (br, 1H), 9.04 (br, 1H), 8.73 (s, 1H), 7.67~7.75 (m, 1H), 7.49~7.56 (m, 3H), 7.28~7.35 (m, 2H), 7.14~7.19 (m, 1H), 7.08~7.12 (m, 1H), 6.98~7.05 (m, 1H), 6.41 (d, 1H), 5.96 (s, 1H), 3.76~3.94 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  169.65, 161.10 (2C), 154.13, 153.95, 151.55, 140.69, 139.46, 139.37, 136.25, 135.03, 131.55, 127.23, 120.43, 119.28, 115.29, 112.53, 112.32, 104.72, 56.44, 29.58; HR-MS (ESI)  $m/z$ : 477.084 9 [M+H] $^+$ .

$N^1$ -{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}- $N^3$ -[4-氧代-2-(4-氟苯基)噻唑啉-3-基]脲 (g7) 白色固体, 收率 46.2%。 $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 11.33 (br, 1H), 8.99 (br, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.49~7.57 (m, 3H), 7.32~7.38 (m, 2H), 7.21~7.25 (m, 2H), 7.07~7.10 (m, 1H), 6.97~7.02 (m, 1H), 6.42 (d, 1H), 5.82 (s, 1H), 3.74~3.90 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  169.68, 161.11 (2C), 154.07, 153.96, 151.54, 140.68, 139.37, 139.34, 136.38, 136.28, 135.03, 131.15, 131.09, 127.25, 120.42, 119.26, 116.30, 116.08, 56.43, 29.59; HR-MS (ESI)  $m/z$ : 459.089 7 [M+H] $^+$ .

$N^1$ -{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}- $N^3$ -[4-氧代-2-(2-氟苯基)噻唑啉-3-基]脲 (g8) 白色固体, 收率 43.4%。 $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 11.33 (br, 1H), 9.01 (br, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.60~7.64 (m, 1H), 7.49~7.53 (m, 1H), 7.40~7.46 (m, 1H), 7.33~7.38 (m, 2H), 7.23~7.28 (m, 2H), 7.06~7.10 (m, 1H), 6.98~7.03 (m, 1H), 6.42 (d, 1H), 6.04 (s, 1H), 3.77~3.90 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  169.67, 161.10 (2C), 154.04, 153.96, 151.53, 140.68, 139.33, 139.31, 136.37, 136.28, 135.01, 131.16, 131.09, 127.23, 120.42, 119.25, 116.31, 116.08, 56.43, 29.58; HR-MS (ESI)  $m/z$ : 459.089 3 [M+H] $^+$ .

$N^1$ -{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}- $N^3$ -[4-氧代-2-(3,4-二氟苯基)噻唑啉-3-基]脲 (g9) 白色固体, 收率 47.2%。 $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 11.33 (br, 1H), 9.06 (br, 1H), 8.66 (s, 1H), 7.62~7.68 (m, 1H), 7.43~7.53 (m, 2H), 7.33~7.38 (m, 3H), 7.07~7.10 (m, 1H), 6.98~7.02 (m, 1H), 6.42 (d, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.74~3.94 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  169.66, 161.12 (2C), 154.13, 153.94, 151.53, 140.69, 139.46, 139.38, 136.25, 135.05, 131.57, 127.23, 120.52, 119.28, 115.29, 112.52, 112.34, 104.72, 56.43, 29.59; HR-MS (ESI)  $m/z$ : 477.084 7 [M+H] $^+$ .

$N^1$ -{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}

基)-*N*<sup>3</sup>-[4-氧代-2-(2-氯苯基)噻唑啉-3-基]脲 (**g10**) 白色固体, 收率 42.9%。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 11.34 (br, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 7.64~7.66 (m, 1H), 7.49~7.53 (m, 2H), 7.33~7.46 (m, 4H), 7.08~7.11 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 6.42 (d, 1H), 6.14 (s, 1H), 3.77~3.90 (m, 2H); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  169.67, 161.12 (2C), 154.05, 153.95, 151.53, 140.68, 139.33, 139.31, 136.38, 136.27, 135.01, 132.23, 131.09, 127.23, 120.43, 119.25, 116.32, 116.07, 56.42, 29.58; HR-MS (ESI) *m/z*: 475.065 6 [M+H]<sup>+</sup>。

*N*<sup>1</sup>-{3-氟-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}-*N*<sup>3</sup>-[4-氧代-2-(4-氯苯基)噻唑啉-3-基]脲 (**g11**) 白色固体, 收率 45.5%。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 11.33 (br, 1H), 9.01 (br, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.45~7.54 (m, 5H), 7.32~7.38 (m, 2H), 7.04~7.09 (m, 2H), 6.97~7.02 (m, 1H), 6.40 (d, 1H), 5.82 (s, 1H), 3.75~3.90 (m, 2H); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  169.67, 161.11 (2C), 154.07, 153.95, 151.54, 140.68, 139.34, 139.31, 136.38, 136.27, 135.02, 132.23, 131.10, 127.25, 120.43, 119.25, 116.34, 116.07, 56.42, 29.59; HR-MS (ESI) *m/z*: 475.064 9 [M+H]<sup>+</sup>。

*N*<sup>1</sup>-{3-氯-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}-*N*<sup>3</sup>-[4-氧代-2-(3,4,5-三氟苯基)噻唑啉-3-基]脲 (**g12**) 淡黄色固体, 收率 44.8%。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 11.40 (br, 1H), 9.11 (br, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.54~7.57 (m, 2H), 7.32~7.35 (m, 2H), 7.25~7.28 (m, 1H), 6.94 (d, 1H), 6.41 (d, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.73~3.97 (m, 2H)。 <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  169.85, 161.13(2C), 154.09, 151.93, 149.15, 140.13, 136.44, 135.40, 131.19, 127.56, 123.50, 119.87, 119.44, 119.13, 113.15, 112.86, 112.69, 112.65, 61.34, 29.55; HR-MS (ESI) *m/z*: 511.043 9 [M+H]<sup>+</sup>。

*N*<sup>1</sup>-{3-溴-4-[(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)氧基]苯基}-*N*<sup>3</sup>-[4-氧代-2-(3,4,5-三氟苯基)噻唑啉-3-基]脲 (**g13**) 淡黄色固体, 收率 48.9%。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 9.23 (br, 1H), 8.83 (s, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.53~7.57 (m, 2H), 7.29~7.34 (m, 3H), 6.93 (d, 1H), 6.41~6.43 (m, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.72~3.96 (m, 2H)。 <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  169.83, 161.14 (2C), 154.13, 151.91, 149.18, 140.11, 136.41, 135.40, 131.16, 127.58, 123.51, 119.82, 119.41, 119.17, 113.12, 112.90, 112.71, 112.65, 61.33, 29.55; HR-MS (ESI) *m/z*: 554.997 1 [M+H]<sup>+</sup>。

## 2 体外抗肿瘤活性实验<sup>[20]</sup>

所用细胞株分别为人非小细胞肺癌 A549、人结

直肠癌细胞 HT-29 和人乳腺癌细胞 MDA-MB-231, 阳性对照药为 cabozantinib。采用 MTT 细胞毒测试法对目标化合物进行体外抗肿瘤活性测试。将处理好的肿瘤细胞加入至 96 孔板中, 每孔 100  $\mu$ L, 细胞数量为每孔  $1 \times 10^4$  个, 置于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 温箱培养 24 h 使细胞贴壁。将配制好的药液分别加入 96 孔板中, 每孔加 170  $\mu$ L, 每浓度加 3 个孔, 置于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 72 h。将 0.5% MTT 按照每孔 100  $\mu$ L 加入 96 孔板, 置于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 4 h。吸出 96 孔板中液体, 每孔加入 100  $\mu$ L DMSO, 置于磁力震荡器上震荡 3 min, 使结晶物充分溶解, 在酶标仪上用双波长法 (490 nm 和 630 nm) 测量各孔的吸光度值。根据吸光度用 Bliss 法计算出每个药物的半数抑制浓度 IC<sub>50</sub>。

## 3 激酶活性测试

采用迁移率检测实验评价化合物 **g2** 对 c-Met、KDR、c-Kit、c-Src、ALK 和 HER-2 等 6 种激酶的抑制活性。将激酶加入至 96 孔板中, 每孔 50  $\mu$ L。用 100% DMSO 将化合物配成 500  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup> 的溶液, 另取一 96 孔板, 每孔加入 10  $\mu$ L 上述溶液和 90  $\mu$ L 的激酶缓冲液 (50 mmol·L<sup>-1</sup> HEPES、10 mmol·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>、0.001 5% Brij-35 和 2 mmol·L<sup>-1</sup> DTT)。每孔取 5  $\mu$ L 加入至 384 孔板中, 再加入 FAM-标记肽、ATP 和激酶溶液等, 室温培养 10 min, 每孔加入 10  $\mu$ L 上述肽溶液, 28  $^{\circ}$ C 培养一段时间后加入 25  $\mu$ L 终止缓冲液 (100 mmol·L<sup>-1</sup> HEPES、0.015% Brij-35 和 50 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA) 终止反应。测量转化值, 再将其转换成抑制率, 拟合抑制率曲线, 得出 IC<sub>50</sub> 值。

## 4 实时动态活细胞成像实验<sup>[18]</sup>

将处理好的 HT-29 细胞加入至 96 孔板中, 每孔加入 100  $\mu$ L 含 10% FBS 的 DMEM, 细胞数为每孔  $5 \times 10^3$  个, 置于 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中, 隔天换液, 传 2 代后铺板, 细胞数量为每孔  $5 \times 10^3$  个, 细胞贴壁后加入化合物 **g2** 和阳性药 (共 3 个浓度, 起始浓度为 10.0  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>, 3 倍稀释, 每个浓度设置 3 个平行实验, 同时设置空白孔), 按照实时动态活细胞成像仪的标准操作方法进行实验。采用绿光观察药物对细胞的杀伤作用, 白光观察细胞的增殖情况, 实验时间为 72 h, 拍照频率为每小时 1 张, 每次每孔自动拍照 3 张, 10 倍镜。

## 5 Annexin V-FITC/PI 双染色法检测细胞凋亡<sup>[21]</sup>

将每孔接种  $1 \times 10^5$  个 HT-29 细胞于 48 孔板中 (设阴性对照组、阳性对照组和 5 个浓度的实验组, 均设置 3 个平行实验), 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中, 细胞贴

壁后, 相应孔中加入阳性药及不同浓度的化合物 **g2**。作用 72 h 后的细胞, 以 4 °C PBS 洗涤 2 次, 加入 5 μL Annexin V-FITC 后避光孵育 30 min, 上机前加入 10 μL PI 孵育 15 min, FACS 进行检测并分析数据。

## References

- [1] Stellrecht CM, Gandhi V. MET receptor tyrosine kinase as a therapeutic anticancer target [J]. *Cancer Lett*, 2009, 280: 1–14.
- [2] Ma PC, Maulik G, Christensen J, et al. c-MET: structure, functions and potential for therapeutic inhibition [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2003, 22: 309–325.
- [3] Benvenuti S, Comoglio PM. The met receptor tyrosine kinase in invasion and metastasis [J]. *J Cell Physiol*, 2007, 213: 316–325.
- [4] Recio JA, Merlino G. Hepatocyte growth factor/scatter factor activates proliferation in melanoma cells through p38 MAPK, ATF-2 and cyclin D1 [J]. *Oncogene*, 2002, 21: 1000–1008.
- [5] Ponzetto C, Bardelli A, Zhen Z, et al. A multifunctional docking site mediates signaling and transformation by the hepatocyte growth factor/scatter factor receptor family [J]. *Cell*, 1994, 77: 261–271.
- [6] Boccaccio C, Ando M, Tamagnone L, et al. Introduction of epithelial tubules by growth factor HGF depends on the STAT pathway [J]. *Nature*, 1998, 391: 285–288.
- [7] Zhang YW, Wang LM, Jove R, et al. Requirement of STAT3 signaling for HGF/SF-Met mediated tumorigenesis [J]. *Oncogene*, 2002, 21: 217–226.
- [8] Bahrami A, Shahidsales S, Khazaei M, et al. C-Met as a potential target for the treatment of gastrointestinal cancer: current status and future perspectives [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232: 1–17.
- [9] Liu Y, Gray NS. Rational design of inhibitors that binds to inactive kinase conformations [J]. *Nat Chem Biol*, 2006, 2: 358–364.
- [10] Backes AC, Zech B, Felber B, et al. Small-molecule inhibitors binding to protein kinase. Part I: exceptions from the traditional pharmacophore approach of type I inhibitor [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2008, 3: 1409–1425.
- [11] Backes AC, Zech B, Felber B, et al. Small-molecule inhibitors binding to protein kinase. Part II: the novel pharmacophore approach of type II and type III inhibition [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2008, 3: 1427–1449.
- [12] Pargellis C, Tong L, Churchill L, et al. Inhibition of p38MAPK kinase by utilizing a novel allosteric binding site [J]. *Nat Struct Biol*, 2002, 9: 268–272.
- [13] Mol CD, Fabbro D, Hosfield DJ. Structural insights into the conformational selectivity of STI-571 and related kinase inhibitors [J]. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2004, 7: 639–648.
- [14] Porter J. Small molecule c-Met kinase inhibitors: a review of recent patents [J]. *Expert Opin Ther Patents*, 2010, 20: 159–177.
- [15] Lv PC, Wang ZC, Zhu HL. Recent advances in the design and synthesis of c-Met inhibitors as anticancer agents (2014-present) [J]. *Curr Med Chem*, 2017, 24: 57–64.
- [16] D'angelo ND, Bellon SF, Booker SK, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of potent c-Met inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 5766–5779.
- [17] Bellon SF, Kaolan-lefko P, Yang Y, et al. c-Met inhibitors with novel binding mode show activity against several hereditary papillary renal cell carcinoma-related mutations [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 2675–2683.
- [18] Qi BH, Yang Y, He H, et al. Identification of novel *N*<sup>1</sup>-(2-aryl-1,3-thiazolidin-4-one)-*N*<sup>3</sup>-aryl ureas showing potent multi-tyrosine kinase inhibitory activities [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 146: 368–380.
- [19] Stephane R, Oscar S, Stephen C, et al. Kinase inhibitors and uses thereof: WO, 2008046216A1 [P]. 2008-04-24.
- [20] Song BB, Zhang ZK, Zhu QF, et al. Design, synthesis and evaluation of a novel MEK protein inhibitors [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 416–424.
- [21] Wang LX, Xu S, Liu XB, et al. Discovery of thio-pyrimidine-triazole conjugates as c-Met targeting and apoptosis inducing agents [J]. *Bioorg Chem*, 2018, 77: 370–380.