

原肌球蛋白受体激酶(TRK)抑制剂的研究进展

杨竣喆^{†,a,b} 许子超^{†,b} 李淳朴^b 程远征^{*,a} 柳红^{*,a,b}^(a) 潍坊医学院药学院 山东潍坊 261053)^(b) 中国科学院上海药物研究所 新药研究国家重点实验室 上海 201203)

摘要 原肌球蛋白受体激酶(TRK)是一类由神经生长因子激活的酪氨酸激酶家族,包括 TRKA, TRKB 和 TRKC 三个亚型,分别由 *NTRK1* (neurotrophic receptor tyrosine kinase 1), *NTRK2* 和 *NTRK3* 基因编码. TRK 激酶被磷酸化后,能够激活下游信号分子,进而调节细胞增殖、分化、代谢和凋亡等作用. *NTRK* 基因可以与其他基因发生融合,导致激酶的高表达或者激酶活性的持续升高,诱发癌症. 靶向 *NTRK* 融合基因的主要策略是开发作用于胞内激酶区的 TRK 小分子抑制剂,近年来 TRK 小分子抑制剂的开发也受到了研究人员的关注. 对 TRK 激酶的结构、生理功能、TRK 抑制剂以及克服耐药的治疗策略等内容进行综述.

关键词 原肌球蛋白受体激酶; 抗肿瘤; 抑制剂

Research Progress of Tropomyosin Receptor Kinase (TRK) Inhibitors

Yang, Junzhe^{†,a,b} Xu, Zichao^{†,b} Li, Chunpu^b Cheng, Yuanzheng^{*,a} Liu, Hong^{*,a,b}^(a) School of Pharmacy, Weifang Medical College, Weifang, Shandong 261053)^(b) State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203)

Abstract Tropomyosin receptor kinase (TRK) is a tyrosine kinase family activated by nerve growth factor, including TRKA, TRKB and TRKC, which are encoded by *NTRK1* (neurotrophic receptor tyrosine kinase 1), *NTRK2* and *NTRK3* genes, respectively. After phosphorylation, TRK kinase can activate downstream signaling molecules, and then regulate cell proliferation, differentiation, metabolism and apoptosis. The *NTRK* gene can fuse with other genes, resulting in high kinase expression or continuous increase of kinase activity, leading to cancer. The main strategy for targeting *NTRK* fusion genes is to develop small molecule inhibitors of TRK that act on the intracellular kinase region. In recent years, the development of TRK small molecule inhibitors has also attracted the attention of researchers. The structure, physiological function, TRK inhibitors and therapeutic strategies to overcome drug resistance of TRK kinase are reviewed.

Keywords tropomyosin receptor kinase; anticancer; inhibitor

1 TRK 背景简介

原肌球蛋白受体激酶(TRK)属于细胞表面受体酪氨酸激酶(RTK)家族,有 A, B 和 C (TRKA, TRKB 和 TRKC)三种亚型,分别由神经生长因子受体酪氨酸激酶 1, 2 和 3 (*NTRK1*, *NTRK2* 和 *NTRK3*)基因编码^[1]. TRKs 是一种跨膜受体蛋白,包含一个胞外配体结合结构域、一个跨膜结构域和一个具有激酶活性的胞内结构域^[2]. TRKA, TRKB 和 TRKC 的激酶结构域序列同源性为

71.9%~78.3%, 其中 TRKB 和 TRKC 的同源性最高^[3]. 三种 TRKs 亚型之间的主要区别是激活受体的配体不同.

与 TRKA 结合的神经生长因子主要有神经生长因子(NGF)、神经营养因子-6 (NT6)、神经营养因子-7 (NT7), TRKB 结合神经生长因子如脑源性神经营养因子(BDNF)、神经营养因子 4 和 5 (NT4, NT5), 而 TRKC 特异性结合神经营养因子-3 (NT3)^[4-6]. 前期研究证实, 这些 TRKs 作为神经生长因子受体, 可以通过磷酸化其下

* Corresponding authors. E-mail: hliu@simm.ac.cn; chengyzh@wfmc.edu.cn

Received December 16, 2021; revised March 2, 2022; published online March 21, 2022.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81620108027, 21632008, 21907102) and the National Key Research and Development (R&D) Program of China (No. 2020YFC0841400).

国家自然科学基金(Nos. 81620108027, 21632008, 21907102)、国家重点研发计划(No. 2020YFC0841400)资助项目.

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

游基质靶蛋白来调控细胞增殖、分化、代谢,甚至凋亡过程^[7-9]. TRKs 在恶性肿瘤中通过多种机制被组成性激活,目前公认的机制是 3'*NTRK* 区域的基因进行染色体间或染色体间重排,然后与 5'伴侣基因的序列融合,导致肿瘤发生^[10]. 不同的 *NTRK* 融合蛋白,可以通过融合蛋白的低聚化调节相同的下游通路,从而增加 TRKs 的致癌风险^[11-13]. *NTRK* 的其他致癌形式,如 *NTRK1* 基因的激活、剪接变异和 TRKs 的过表达,也在多种肿瘤中被观察到,包括人类神经母细胞瘤、急性髓系白血病(AML)、肺癌、圆柱形肿瘤、乳腺癌等^[14-19]. 由于 TRKs 的跨膜融合经常导致胞外结构域的缺乏,常见的靶向治疗(如单克隆抗体治疗)可能无法产生治疗效果. 因此,靶向 *NTRK* 融合基因的主要策略是开发作用于胞内激酶区的 TRK 小分子抑制剂.

近十年来,针对 *NTRK* 融合引起的癌症,开发相应的治疗方法受到制药公司和药物化学研究者的广泛关注. 这类疾病的靶向治疗已经开展了许多研究,已有大量 TRK 小分子抑制剂出现,包括拉罗替尼(Larotrectinib),恩曲替尼(Entrectinib),贝扎替尼(Belizatinib),AZ23, Cpd5n, PHA-E429, 米尔西利(Milciclib), GNF-5837, 卡博替尼(Cabozantinib), 奥曲替尼(Altiratinib)等化合物. 其中,拉罗替尼(Vitrakvi®)和恩曲替尼(Rozlytrek®)已获得美国食品和药物管理局(FDA)批准上市^[20-21]. 拉罗替尼和恩曲替尼的成功上市得益于基于精准医学设计的临床篮子试验(Basket Trial),即将带有特定基因突变、融合等不同种类的肿瘤病例放进同一篮

子进行临床试验^[22]. 此外,一些其他的 TRK 抑制剂,如洛普替尼(Repotrectinib)、塞曲替尼(Selitrectinib)和他雷替尼(Taletrectinib)等,目前正处于临床试验评估的阶段^[23-30]. 与其他靶向治疗类似,*NTRK1* 阳性结直肠癌患者在治疗 4 个月出现了对恩曲替尼的获得性耐药,这限制了一代 TRK 小分子抑制剂的疗效^[31]. 令人鼓舞的是,更有效的药物已经克服了第一代 TRK 抑制剂的耐药性. 特别是目前正处于临床试验中的塞曲替尼和洛普替尼,在低浓度范围内显示出对多种 TRK 突变体的体外活性(表 1)^[28-30].

2 TRKs 的结构和下游信号通路

激酶的主要功能是催化末端磷酸基从三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)转移到蛋白质底物上^[32]. TRKs 的催化结构域由一个小的氨基端和一个大的羧基端组成,通过铰链区连接. 近端激活环用保守的 Asp-Phe-Gly (DFG)序列标记,以调节酶的活性. 这个环在 TRKs 失活状态下是完全有序的,占据了活性位点,从而阻止了 ATP 的结合^[33].

与大多数酪氨酸激酶类似,TRKs 的激活也是通过受体-配体相互作用导致受体二聚化、自磷酸化,并随后激活 TRKs^[34-35]. 激活的激酶可触发下游信号通路的信号转导,导致细胞增殖、分化和存活^[36]. TRK 蛋白可以激活多种信号通路. NGF 和 TRKA 的结合可以通过激活 PI3K/MAPK/PLC γ 信号通路抑制凋亡蛋白,促进神经分化 and 轴突生长并介导过敏反应^[37]. BDNF 与 TRKB 受

表 1 代表性 TRK 抑制剂的临床进展
Table 1 Representative clinical progress of TRK inhibitors

药物名称	临床研发状态	适应症	靶点	公司
恩曲替尼	批准上市	非小细胞肺癌; 实体瘤	TRK, ALK, ROS1	Hoffmann-La Roche
拉罗替尼	批准上市	实体瘤; 肿瘤	TRK	拜耳
洛普替尼	临床三期	非小细胞肺癌; 实体瘤	TRK, ALK, ROS1	Turning Point Therapeutics
PBI-200	临床二期	脑瘤; 实体瘤	TRKA	Pyramid Biosciences
塞曲替尼	临床二期	实体瘤	TRK	拜耳
ICP-723	临床二期	实体瘤	TRK	诺诚健华
米尔西利	临床二期	肝癌; 胶质瘤; 胸腺瘤; 肝细胞癌	CDK2, TRKA	Nerviano Medical Sciences
ONO-7579	临床二期	肿瘤	TRK	小野制药
他雷替尼	临床二期	非小细胞肺癌; 实体瘤	TRK, ROS1	葆元医药/信达生物
XZP-5955	临床一期	实体瘤	TRK, ROS1	轩竹生物
LPM-4870108	临床一期	实体瘤	TRK	绿叶制药
奥曲替尼	临床一期	实体瘤	TRK, VEGFR2, TIE2, c-Met	Deciphera
HL-5101	临床一期	实体瘤	TRK	Cmg Pharmaceutical
HG-030	临床一期	实体瘤	TRK, ROS1, ROR1	成都先导
PLX-7486	临床一期	胰腺癌	TRK, FLT3, CSF1R	第一三共
BPI-28592	临床一期	实体瘤	TRK	贝达药业

体结合并触发多种下游信号级联, 包括 RAS/MAPK 通路、PI3K/3-PDK1/AKT 通路和 PLC γ 通路的激活, 导致神经代谢细胞增殖和分化^[38]. TRKC 通过 PI3K/AKT 通路介导 NT3 信号通路, 从而增加细胞存活率, 防止细胞凋亡(图 1)^[39]. 然而, TRK 信号通路尚未完全阐明, 还有其他方式激活下游信号通路. 例如, 在结肠癌 KM12 细胞中, TPM3-NTRK1 嵌合蛋白的异常表达使下游的 PI3K/AKT, RAS/MAPK, PLC γ 通路也异常活跃^[16].

3 NTRK 基因在相关疾病中的表达

3.1 NTRK 突变、剪接变异和 TRK 过表达

研究表明, TRKs 通过 NTRK 融合、突变、剪接变异和 TRK 过表达被激活, 进而导致细胞的过度增殖诱发癌症. NTRK 的过度激活已在多种癌症, 如结直肠癌(CRC)、黑色素瘤、AML、巨细胞神经节瘤和非小细胞肺癌(NSCLC)中被发现^[40-43]. 然而, NTRK 突变在促进肿瘤发生和癌症进展中的潜在作用尚未被确定. 此外, 在人神经母细胞瘤和 AML 标本中检测到 NTRK1 剪接突变体 TRKAIII 和框架缺失突变体(δ TRKA)具有诱发癌症的作用^[44-47]. 总之, 由 NTRK 突变、剪接变异和 TRK 过表达激活的 TRKs 可以破坏激酶结构域的调节能力.

3.2 NTRK 融合

涉及 NTRK 的基因融合是恶性肿瘤中 TRK 激活最常见的机制^[5]. NTRK 融合在多种肿瘤类型的成人和儿

童患者中发现, 但在实体肿瘤中出现的确切频率尚不清楚^[48-52]. 在常见的癌症, 包括非小细胞肺癌、CRC 等, NTRK 融合的发病率相对较低, 约为 1%到 3%^[45,52], 但是在一些罕见的癌症, 如小儿纤维肉瘤、乳腺癌、先天性中胚层肾瘤和其他的癌症中发生 NTRK 融合现象的比例可以达到 90%或更高^[53-56]. 迄今为止, 大约有 25 种 NTRK 融合蛋白在不同类型的肿瘤中充当致癌驱动因子, 其中 TPM3-NTRK1 和 ETV6-NTRK3 是两种最常见的融合蛋白(表 2)^[45].

4 TRK 抑制剂及其治疗意义

据估计, NTRK 基因融合在癌症中的发生率为 17%至 20%^[57]. 通过小分子抑制剂阻断异常的 TRK 信号通路已被认为是抑制 NTRK 融合肿瘤细胞增殖的有效方法. 在过去的十年里, 科研人员付出了巨大的努力来开发不同类型的 TRK 抑制剂. 根据与 TRKs 结合的位点, TRK 小分子抑制剂可分为 I 型、II 型和 III 型. 针对活化激酶 ATP 结合位点的小分子抑制剂被称为 I 型激酶抑制剂. 以激酶 ATP 结合位点为靶点并与相邻疏水口袋相互作用的抑制剂被定义为 II 型激酶抑制剂. III 型激酶抑制剂也被称为别构抑制剂. 它们以远离 ATP 结合位点的疏水口袋为靶点, 通过改变 ATP 结合口袋的构象来调节激酶活性. 接下来, 将从药物化学的角度介绍现有抑制剂的发现、构效关系(SAR)和活性.

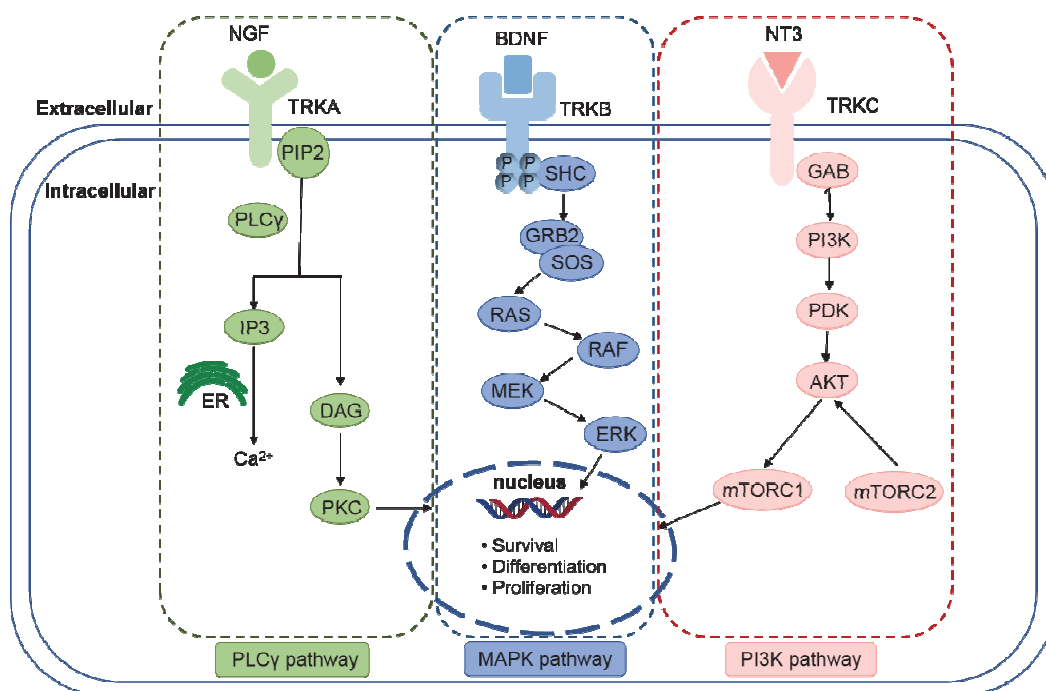


图 1 TRK 通路示意图

Figure 1 Schematic representation of TRK pathways

表 2 *NTRK* 基因融合及其对应癌症种类
Table 2 *NTRK* gene fusion and its corresponding cancer types

癌症种类	<i>NTRK1</i>	<i>NTRK2</i>	<i>NTRK3</i>
结直肠癌	TPM3	—	—
	LMNA	—	—
	TPR	—	—
	SCYL3	—	—
非小细胞肺癌	CD74	—	—
	MPRIIP	—	—
	SQSTM1	—	—
		TRIM24	—
多形性胶质母细胞瘤	ARHGEF2	—	—
	BCAN	—	—
	NFASC	—	—
	TPM3	—	—
	—	—	ETV6
	—	VCL	—
	—	—	BTBD1
毛状星细胞瘤		NACC2 QKI	
Spitzoid 黑色素瘤	TP53 LMNA		
乳头状甲状腺癌	TPM3	—	—
	TFG	—	—
	TPR	—	—
甲状腺癌	PPL		
肺大细胞神经内分泌肿瘤	RFWD2		
肝内胆管细胞癌	RABGAP1L		
涎腺类乳腺分泌性癌	—	—	ETV6
小细胞肺癌	—	—	ETV6
婴儿性纤维肉瘤	LMNA		ETV6
头颈鳞癌		PAN3	
中胚层低级神经胶质瘤		AFAP1	ETV6

4.1 I 型 TRK 抑制剂

与 ATP 竞争的 I 型激酶抑制剂可以识别激酶的 DFG-in 构象。由于所有激酶 ATP 结合位点的高度保守结构,使这些抑制剂大多对同一家族的激酶具有抑制活,所以通过结构优化,仍然有可能找到对 TRKs 具有高选择性的潜在药物。

4.1.1 单环类 I 型 TRK 抑制剂

单环类 I 型 TRK 抑制剂往往包含氨基嘧啶、氨基吡啶等母核结构,能够与激酶铰链区形成氢键。Thress 等^[58]发现了一类高选择性和高活性的 4-氨基嘧啶类 TRK 抑制剂,代表性化合物 AZ-23 (**1**, 图 2)有效抑制 TRKA 和 TRKB, IC₅₀ 值分别为 2 和 8 nmol/L。化合物 **1** 在 SK-N-SH 神经细胞瘤小鼠模型中也表现出显著的体内抑瘤效果,100 mg/kg 剂量组的 T/C 值达到 26%。化合物 **2** 为高通量筛选(HTS)的异噻唑衍生物,其对 TRKA

激酶具有较强的抑制活性, IC₅₀ 值小于 1 nmol/L^[59]。同时,该化合物在过度表达 TRKA 的猪动脉内皮(porcine aorta endothelial, PAE)细胞抑制活性测试中, IC₅₀ 值为 7 nmol/L。Lee 等^[60]报道了一类多靶点激酶抑制剂,激酶谱分析显示化合物 **3** 能够抑制 TRKA 激酶活性, IC₅₀ 为 39 nmol/L(图 2)。化合物 **3** 具有良好的药物代谢动力学性质,其口服生物利用度大于 90%。在 NCI-H441 非小细胞肺癌和 HT-29 结直肠癌裸鼠移植瘤模型中,化合物 **3** 表现出一定程度的体内药效,50 mg/kg 剂量组抑瘤率分别达到 55%和 34%。

4.1.2 并环类 I 型 TRK 抑制剂

与单环类 I 型 TRK 抑制剂类似,并环类抑制剂母核中的五元并六元环往往与激酶铰链区形成氢键。2008 年,诺华集团研究人员^[61]通过筛选发现了一类对氨基苯取代的咪唑并吡嗪骨架 TRK 抑制剂,代表性化合物 **4**

对 TRKB 的 IC_{50} 为 83 nmol/L(图 3). 由于其药物代谢动力学特性较差, 因此对其进行了进一步优化. 经结构改造后发现, 引入 *R*-氟苯取代吡咯烷片段的化合物 **5** 对 TRK 的抑制活性有明显提升, 并且通过其与 TRKA 的晶体复合物可以看出, 化合物 **5** 在 DFG-in 构象中占据 ATP 的前袋, 咪唑并吡嗪母核中的氮原子与 Met592 形成关键的氢键, 同时吡啶氮原子也通过水分子与 Met592 形成氢键. 基于上述结果 Molteni 等继续进行结构优化, 发现了化合物 GNF-8625 (**6**). 在 Ba/F3 细胞模型中, 化合物 **6** 对 TRKA, TRKB 和 TRKC 的 IC_{50} 值分别达到了 4, 4 和 2 nmol/L. 同时, 进一步的 KM12 肿瘤移植动物模型结果显示, 化合物 **6** 在 50 mg/kg 剂量下显著抑制肿瘤的生长, 展现了该化合物的巨大潜力. Loxo Oncology 公司(现已被礼来收购)研究人员基于化合物 **5** 的结构基础, 将其结构中的吡啶替换为脒基结构, 经过大量的药物化学研究工作, 最终发现了上市药物拉罗替尼(**7**). 化合物 **7** 对 TRKA, TRKB 和 TRKC 表现出纳摩尔级的酶水平活性, IC_{50} 值为 2 nmol/L(图 3). 此外, 生物化学和细胞实验表明, 化合物 **7** 对 TRKA/B/C 的选择性大约是其 100 种激酶的 100 倍左右^[21]. 化合物 **7** 是 FDA 批准的第一个 TRK 抑制剂. 大量的临床试验表明整体起效率(ORR)是 81%, 其中 63% 的患者有部分症状缓解, 17% 的患者症状完全缓解^[45]. 总的来说, 无论年龄或肿瘤类型, 化合物 **7** 在 *NTRK* 融合癌患者中具有显著和持久的抗肿瘤活性. 化合物 **7** 被国家综合癌症网络(NCCN)指南推荐作为携带 *NTRK* 融合的晚期 NSCLC 患者的一线治疗方案^[62], 并作为转移性结直肠癌 *NTRK* 融合患者的二线治疗方案^[63]. 基于 PROTAC 的蛋白降解技术, 近年来已被广泛地应用于药物化学研究中, 睿跃生物近期报道了其针对 TRK 开发的蛋白降解剂, 基于化合物 **5** 的结构设计合成并发现了 TRK 降解剂 **8** (CG416)和 **9** (CG428). 化合物 **8** 和 **9** 在细胞层面表现出

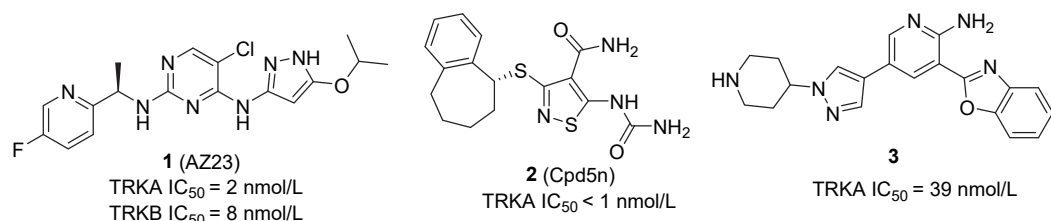


图2 单环类 I 型 TRK 抑制剂结构

Figure 2 Structures of monocyclic type I TRK inhibitors

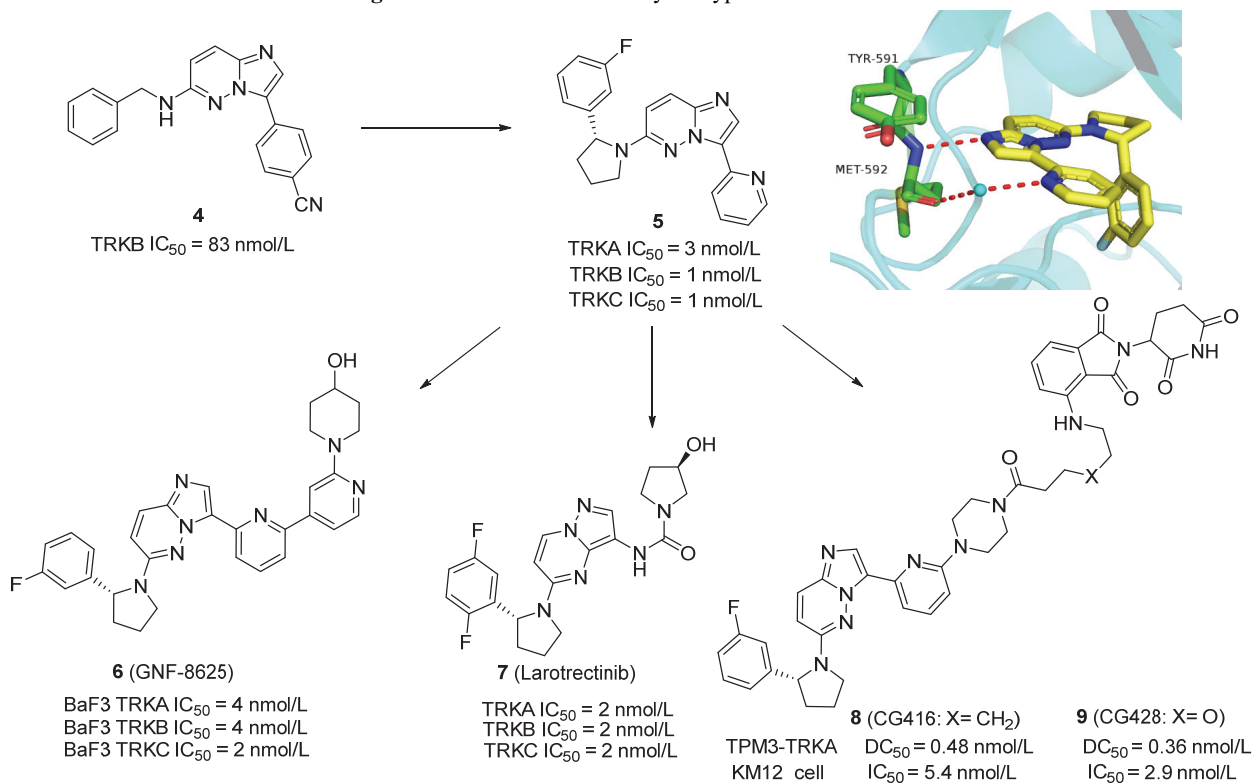


图3 咪唑并吡嗪类 TRK 抑制剂的改造

Figure 3 Structural modification of imidazolidazine TRK inhibitors

显著的 TRKA 降解活性, 其 DC_{50} 分别为 0.48 和 0.36 nmol/L, 并且对 KM-12 细胞的增殖具有较强的抑制活性. 更为重要的是, 化合物 **8** 和 **9** 表现出良好的体内药物代谢动力学性质, 腹腔给药血浆暴露量较为理想, 为后续开发 TRK 降解剂提供了一定的指导^[64].

Menichincheri 等^[65]报道了一类具有潜力的 3-氨基-5-取代吡唑类化合物, 其中化合物 **10** 对间变性淋巴瘤激酶(ALK)有较好的抑制活性(IC_{50} = 73 nmol/L), 对 ALK 敏感的 Karpas-299 细胞株有较好的抗增殖活性(IC_{50} = 253 nmol/L). 经进一步优化环 A 取代基发现了活性更好的化合物恩曲替尼(**11**, ALK IC_{50} = 12 nmol/L), 化合物 **11** 也表现出较好的细胞活性(图 4). 由于 ALK 和 TRK 的磷酸化催化区域具有相似的三维结构和催化机理, 化合物 **11** 作为 ALK 抑制剂也具有泛 TRK 抑制活性(TRKA/ TRKB/TRKC IC_{50} 分别为 1, 3, 5 nmol/L)^[66]. 在 TRK 敏感的 KM12 肿瘤细胞中, 其抗增殖 IC_{50} 为 17 nmol/L. 在 TRKA 与 **11** 结合的晶体复合物中, 化合物 **11** 占据 DFG-in 构象中 ATP 的前侧口袋, 并与 Glu590 和 Met592 残基形成两个氢键. 与化合物 **10** 相比, 4-氨基四氢吡喃部分以最优的方式占据活化环的 ATP 糖口袋. 该化合物表现出良好的药物代谢动力学性质和动物模型抗肿瘤药效. 在 II 期试验中, 化合物 **11** (NCT 02568267) 在 *NTRK* 融合实体瘤患者中的 ORR 为 56.9%, 而脑转移患者的 ORR 为 50%, 持续客观反应(DOR)为 10.4 个月^[67]. 鉴于其良好的药效和药物代谢动力学特性, 化合物 **11** 已于 2019 年 8 月 15 日被 FDA 加速批准作为携带 *NTRK*、*ROS1* 或 *ALK* 基因融合的实体肿瘤的治疗药物. 化合物 **7** 和 **11** 的获批上市是篮子试验的成功案例, 这是一项涉及精准药物设计的创新临床试验. 篮子试验是指将具有同种基因或分子变异, 但肿瘤发生组织不同的患

者全部纳入试验中, 在一个临床试验框架下探索对靶向药物更敏感的肿瘤组织学类型.

2012 年, Lewis 等^[68]采用 HTS 方法获得了新型苯并咪唑类 ALK 抑制剂. 为了提高化合物的活性、选择性和代谢稳定性, 经过构效关系研究发现了活性、代谢稳定性更好的化合物贝扎替尼(**12**). Weiss 等^[69]发现化合物 **12** 是 ALK/TRK 双靶点抑制剂, 对 TRK 各亚型的 IC_{50} 值均低于 3 nmol/L. 化合物 **12** 作为 ALK 抑制剂已完成了晚期实体瘤和淋巴瘤患者的 I/II 期临床试验(NCT 02048488). Albanese 研究小组^[70-72]报道了一种周期蛋白依赖激酶(CDK-2)/TRKA 的双靶点抑制剂米尔西利(**13**, 图 5), 该化合物能有效抑制 NGF 诱导的 TRKA 磷酸化和下游信号转导, 其针对 CDK-2 和 TRKA 的 IC_{50} 分别为 53 和 45 nmol/L. Fancelli 等^[73]通过筛选发现一系列吡唑类 TRKA/Aurora 双靶点抑制剂, 其代表性化合物 **14** 对 TRKA/AuroraA 的 IC_{50} 值分别为 30 和 13 nmol/L(图 5). 化合物 **15** 为 I 型 TRK 抑制剂, IC_{50} 值为 19 nmol/L, SAR 研究表明, 氨基甲酸苄酯对这些化合物的效力至关重要^[74]. Stachel 等^[75]基于吡啶[3,2-*d*]嘧啶母核设计合成了一类有效的 TRK 抑制剂, 其中化合物 **16**(图 5)表现出良好的酶水平活性(TRKA IC_{50} = 11 nmol/L). Carboni 等^[76]开发的化合物 **17**(图 5)是 IGF1R/IR 的双靶点抑制剂, 其对 TRKA/TRKB 的 IC_{50} 分别为 7 和 4 nmol/L. 上述 I 型 TRK 激酶抑制剂都具有纳摩尔级的抑制活性, 但由于它们往往具有较低的激酶选择性, 将它们用于特异性治疗受到一定限制.

4.2 第二代 I 型 TRK 抑制剂

与许多其他转移性癌症类似, *NTRK* 融合引起的癌症会反复复发, 导致获得性耐药, 亟需开发新的靶向治

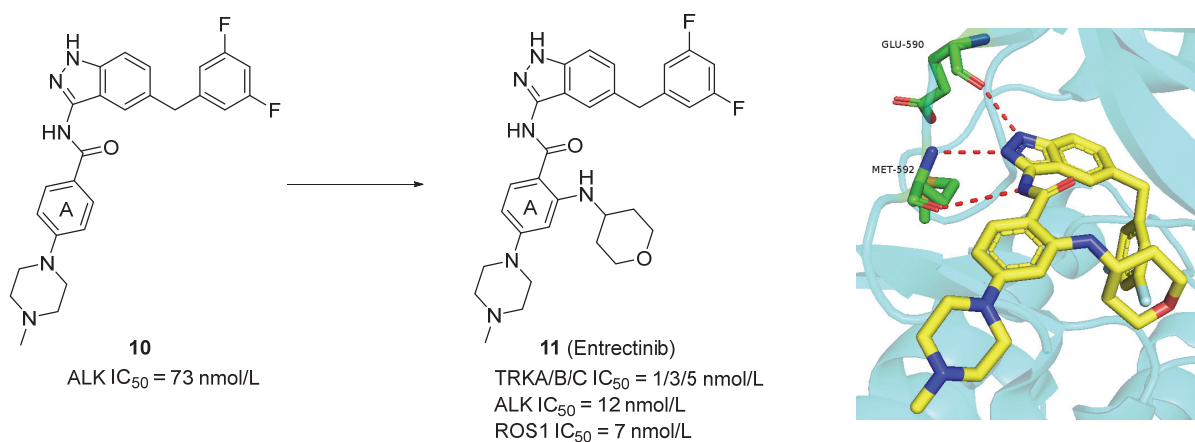


图 4 化合物 **11** 的发现及其与 TRKA 的结合模式图

Figure 4 Discovery of compound **11** and its binding pattern with TRKA

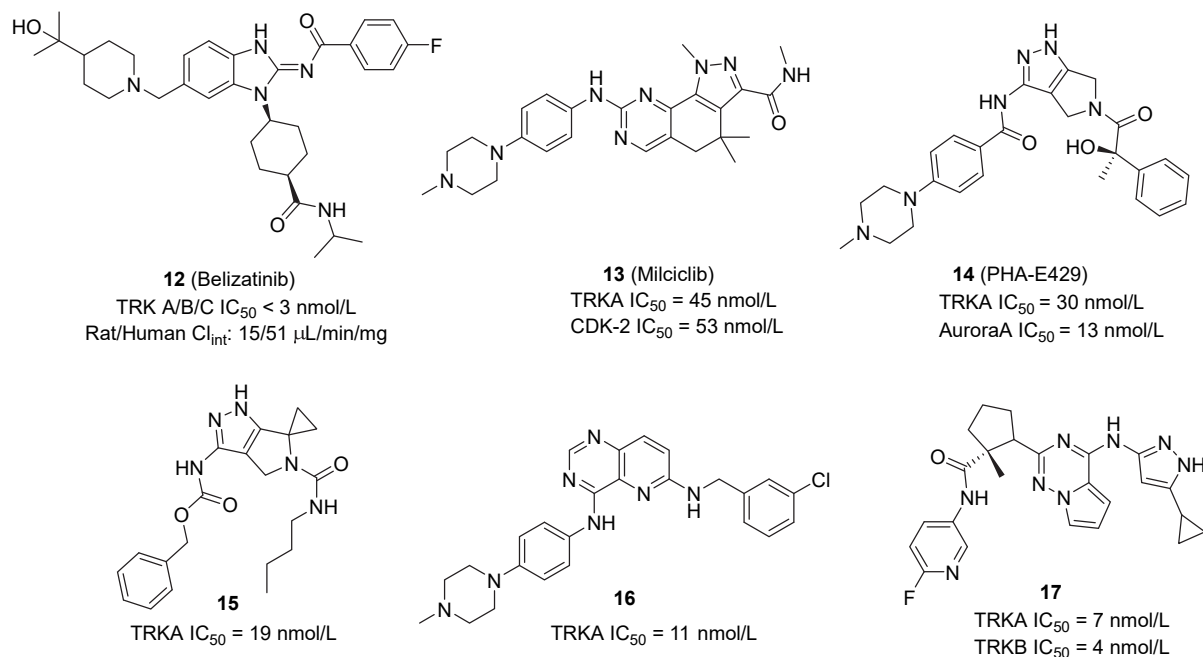


图5 其他并环类 I 型 TRK 抑制剂结构

Figure 5 Structures of other bicyclic type I TRK inhibitors

疗策略。例如, 化合物 7 的耐药是由三种不同的突变引起的, 包括溶剂前沿突变(*NTRK1* p.G595R, *NTRK3* p.G623R), gate keeper 突变(*NTRK1* p.F589L)和 xDFG 突变(*NTRK1* p.G667S, *NTRK3* p.G696A)^[17]。结构模型预测可以发现, 突变残基直接在空间上干扰化合物 7 及其它一代 TRK 抑制剂与 TRK 蛋白的结合, 从而降低它们的抑制能力^[11,28]。通过减少与突变位点的碰撞, 开发出了对耐药株保持活性的第二代 TRK 抑制剂。

4.2.1 大环类第二代 I 型 TRK 抑制剂

第二代 TRK 抑制剂塞曲替尼(**18**)和洛普替尼(**19**)在化合物拉罗替尼(**7**)的基础上通过融合大环的设计策略得到, 以减少与活性位点接触的表面积, 从而减少与突变位点的不必要碰撞作用^[28-29](图 6)。化合物 **18** 对 TRKA^{G595R}, TRKA^{G667C}, TRKC^{G696A} 和 TRKC^{G623R} 具有较高的纳摩尔级抑制活性(IC_{50} 分别为 2.0, 9.8, 2.3 和 2.5 nmol/L)^[28]。其临床研究结果表明, 先前接受过一代 TRK 抑制剂治疗的耐药患者, 接受化合物 **18** 治疗后的客观缓解率 ORR 可以达到 45%, 表明该化合物可能解决对一代 TRK 抑制剂产生耐药性的实体瘤患者的未满足临床需求。化合物 **19** 目前正在进行临床研究, 临床前研究证明该化合物能有效抑制 ROS1^{G2032R} ($IC_{50} = 8.4$ nmol/L), TRKA^{G595R} ($IC_{50} = 0.4$ nmol/L), TRKB^{G639R} ($IC_{50} = 0.6$ nmol/L), TRKC^{G623R} ($IC_{50} = 0.2$ nmol/L) 和 TRKC^{G623E} ($IC_{50} = 1.4$ nmol/L)(图 6)^[29]。化合物 **19** 的初步临床研究结果显示, 入组的 40 名患者中, 17 名未接受过 TRK 靶向治疗的初治患者客观缓解率达到 41%, 23

名接受过 TRK 抑制剂治疗的患者(57%具有 *NTRK* 溶剂前沿突变)客观缓解率为 62%, 包括一名完全缓解的患者。由于化合物 **19** 表现出的良好临床研究结果, 该化合物也获得了 FDA 突破性疗法认定, 有望成为首个获批的二代 TRK 抑制剂。近期, 田京伟等基于化合物 **7** 的结构, 通过大环化策略减小与突变蛋白残基的位阻设计, 合成了一类二代大环 TRK 抑制剂, 并从中发现了活性化合物 **20**(图 6)。该化合物与 **18** 的主要区别为将吡咯烷替换为吗啉环, 并在大环连接链上引入环丙基, 其表现出对 ROS1、TRK 及其突变酶的较强抑制作用。化合物 **20** 在野生型细胞(Ba/F3 LMNA-NTRK1 和 Ba/F3 ETV6-NTRK3)及突变细胞株(Ba/F3 ETV6-NTRK3-G623R cells 和 Ba/F3 LMNA-NTRK1-G595R)的移植瘤动物模型中表现出良好的抑瘤效果, 起效剂量仅为 5 mg/kg, 远低于化合物 **18**^[77]。在大环类二代 TRK 抑制剂方面, 从专利角度分析发现成都先导、诺诚健华等新药公司也布局了相应的专利, 相应的化合物 HG-030、ICP-723 等已获批进入临床研究。由于化学结构还未公布, 本部分未展开讨论。

4.2.2 非大环类第二代 I 型 TRK 抑制剂

目前, 二代 I 型 TRK 抑制剂的研究主要集中在针对化合物 **7** 改造的大环化合物结构, 但近年来也有部分非大环类第二代 I 型 TRK 抑制剂报道。化合物 **21** 是由丁克等开发的吡唑类 TRK 抑制剂(图 7), 研究结果显示该化合物针对 TRK 各突变株细胞均表现出较强的抑制活性, 尽管化合物 **21** 的口服生物利用度较低, 但也为开发

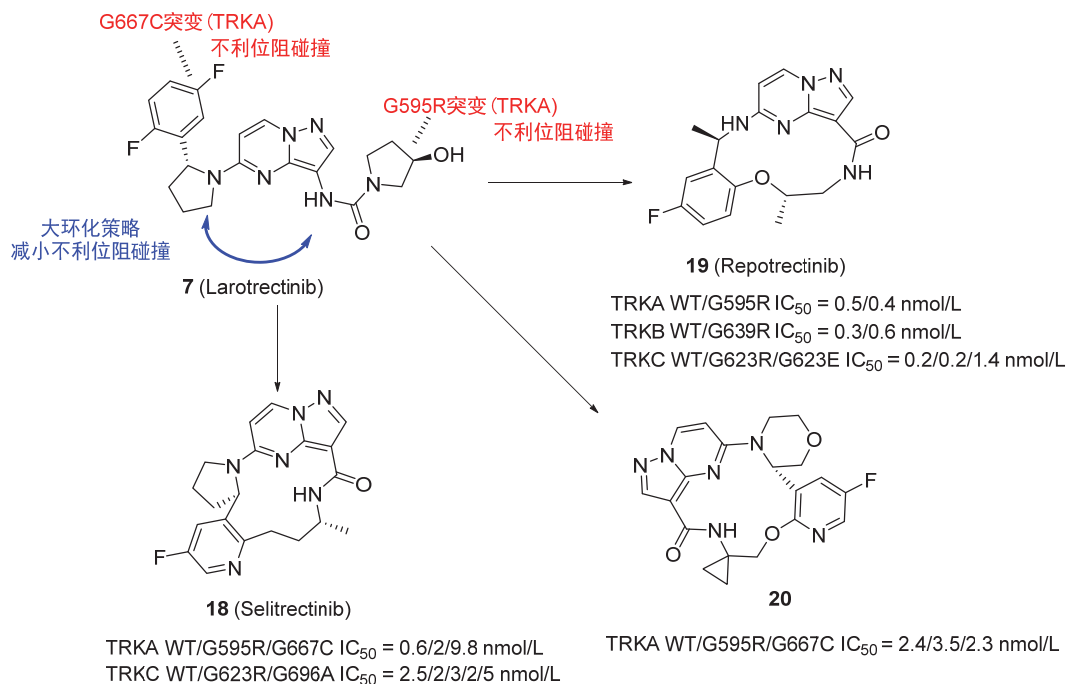


图6 大环类第二代 I 型 TRK 抑制剂改造过程

Figure 6 Modification process of the second generation of macrocyclic type I TRK inhibitors

新型二代 TRK 抑制剂提供了基础^[78]。周金培等^[79]基于化合物 7 的结构进行改造,发现了化合物 22,该化合物在酶水平对 G595R 突变表现出较强的抑制活性,在突变细胞中也表现出亚微摩尔的抑制活性(图 7)。正

大天晴药业集团^[80]报道的吡唑并嘧啶类化合物 23(图 7)与化合物 7 非常相似,表现出对 TRKA/B/C 的有效抑制活性($TRKA/TRKB/TRKC$ IC_{50} < 1 nmol/L),并且能够抑制 $TRKA^{G667C}$ 突变株的活性。Fochon 制药^[81]也在专利

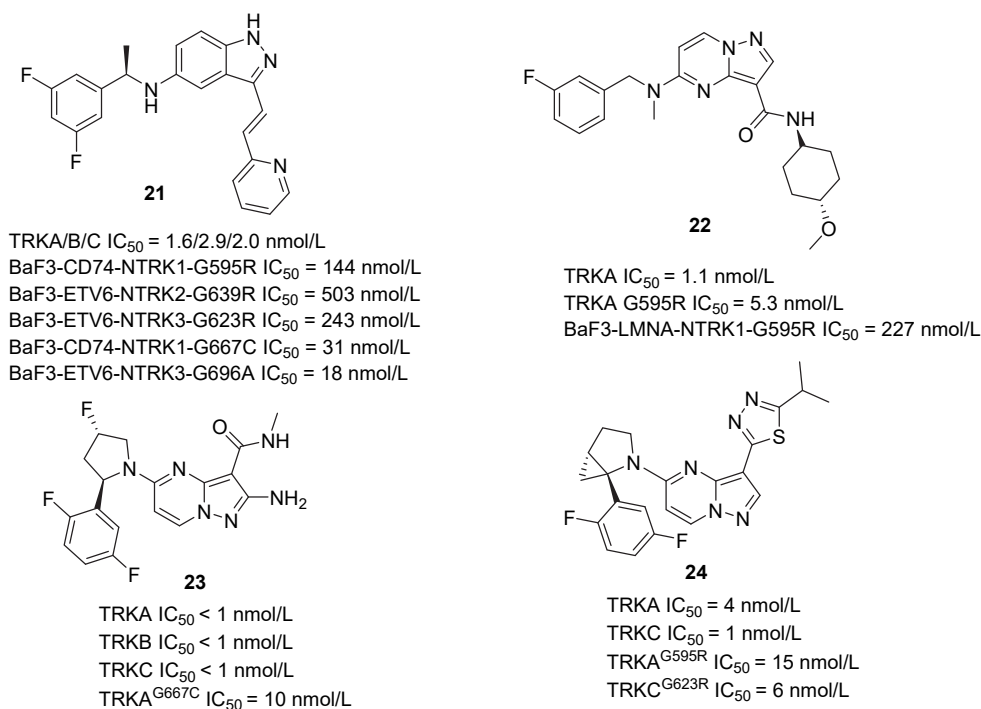


图7 非大环类第二代 I 型 TRK 抑制剂改造过程

Figure 7 Modification process of the second generation of non-macrocyclic type I TRK inhibitors

WO 2019174598中披露一系列吡唑并嘧啶类化合物. 在细胞实验中, 代表性化合物 **24**(图 7) 显示出对 TRKA^{G595R} 和 TRKC^{G623R} 突变株的纳摩尔级抑制活性.

从近年报道的第二代 I 型抑制剂来看, 大多数都对 TRKA 突变体有较强的抑制作用. 然而, 与第一代 I 型抑制剂相比, 其结构相对简单, 缺乏多样化. 因此, 第二代抑制剂仍有广阔的发展前景.

4.3 II 型 TRK 抑制剂

尽管第二代的 I 型 TRK 抑制剂化合物 **18** 在体外评价中对 TRK 蛋白的 G595R 与 G667C 突变株均展现出优良的抑制活性, 人们却发现, 用药数月后在患者体内发生了耐药现象^[82]. 进一步的研究发现, 目前正在临床测试中的两种第二代 TRK 抑制剂 **18** 和 **19** 在结合到 TRKA 的 ATP 结合口袋时, 其刚性的含氟芳环部分紧密靠近 667 位甘氨酸. 因此, 无论甘氨酸残基突变为任何其他氨基酸, 甚至那些具有最小体积侧链的氨基酸(例如, 丙氨酸的甲基侧链或半胱氨酸的硫醇侧链), 都会导致空间位阻.

然而, 当 TRK 蛋白从野生型突变为 G667C 突变株时, II 型 TRK 抑制剂与 TRK 蛋白的结合能力得到了大幅度的提升. 根据 Cocco 等^[82]在 2021 年的报道, 在野生型 TRKA 的非激活构象中, DFG 序列上的 Gly667 会与 His-Arg-Asp (HRD)基序的 His648 相互作用, 这种相互作用较弱, 有助于野生型 TRKA 蛋白从非激活构象过渡

到激活构象. 而当 Gly667 被 Cys 取代后, 体积会变大, 侧链的 Cys667 的巯基主链和 His648 的侧链会产生较强的相互作用, 从而稳定了 TRK 蛋白的非激活构象, 即 DFG-out 构象.

II 型 TRK 抑制剂就是针对 TRK 蛋白 DFG-out 构象设计得到的一类抑制剂小分子. 这类抑制剂主要由两端分别结合在两个口袋的头部以及中间的连接链组成. 根据连接部分的结构类型, 可以大致分成两种类型, 分别是炔类抑制剂和环状连接链的化合物. 该类抑制剂的作用模式主要是通过杂环与铰链区的氢键作用, 以及酰胺键与 DFG-out 变构口袋的氢键作用, 保证其与 TRK 激酶的结合.

4.3.1 炔类 II 型 TRK 抑制剂

化合物普纳替尼(Ponatinib, **25**)是一种 Abl 抑制剂, 对于多种激酶靶点均展现出较好的抑制活性. **25** 对于 Abl, PDGFR α , VEGFR2, FGFR1 和 Src 的 IC₅₀ 分别为 0.37, 1.1, 1.5, 2.2 和 5.4 nmol/L. 临床上, 该化合物主要用于治疗慢性髓性白血病(CML)和费城染色体阳性的急性淋巴细胞白血病(ALL). 化合物 **25** 对于 TRK 蛋白展现出优良的抑制活性, 对 TRKA 野生型蛋白的 IC₅₀ 值达到了 1.9 nmol/L. 同时, 该化合物对于 TRKA 的突变蛋白也有较好的抑制作用, 对于 G595R 和 G667C 的双突变株的 IC₅₀ 值也达到了 1.9 nmol/L(图 8)^[82]. 丁克等^[83]基于 **25** 的结构进行了选择性 TRK 抑制剂的开发,

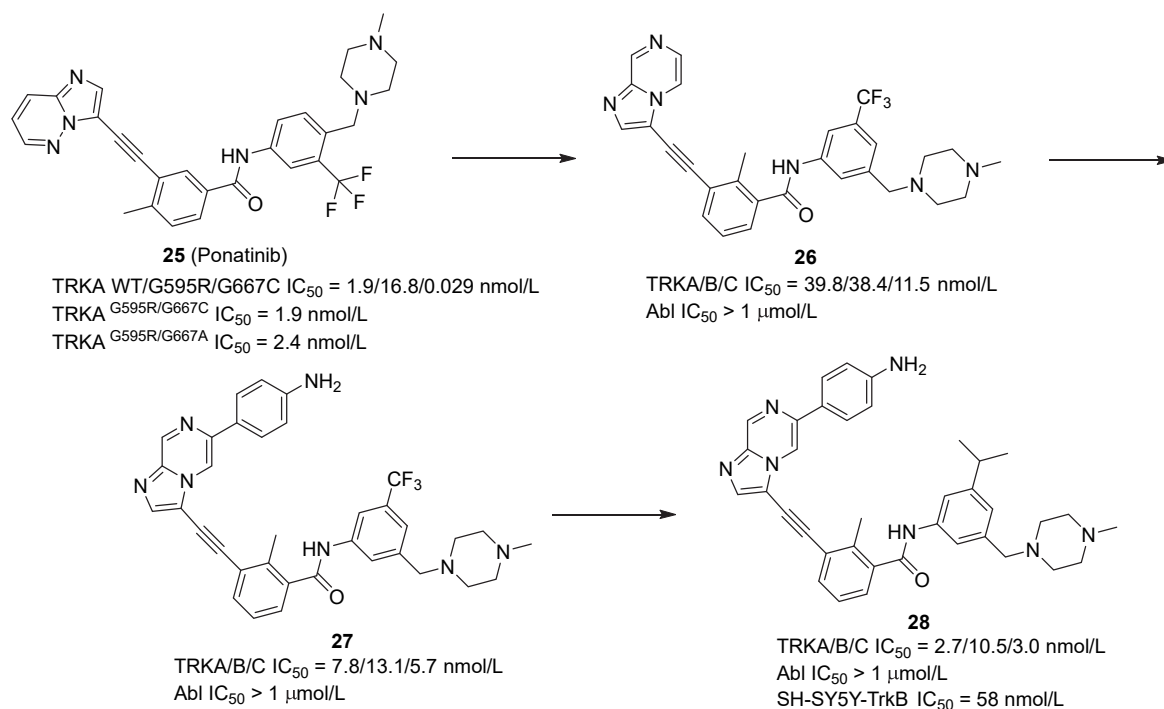


图 8 化合物 **25** 结构及后续改造

Figure 8 Structure of compound **25** and subsequent modification

通过骨架跃迁成功地发现了先导化合物 **26**, 该化合物对 Abl 激酶表现出较高的选择性. 通过苯胺取代基的引入使得化合物对 TRK 激酶的活性得到进一步的提升(化合物 **27**). 最终, 异丙基替换三氟甲基得到的化合物 **28** 表现出较强的泛 TRK 抑制活性, 同时提高了对 Abl 激酶的选择性, 并且具有显著的抗 SH-SY5Y-TrkB 细胞增殖活性.

化合物 CH7057288 (**29**)是由 Tanaka 等^[84]在 2018 年报道的二氢萘苯并咪唑类 TRK 选择性抑制剂. 从晶体复合物的结构来看, 甲基吡啶进入变构口袋并与 Lys544 相互作用. 该化合物不仅对于 TRK 蛋白的三种亚型都展现出纳摩尔的抑制活性, 而且其对于化合物 **11** 等一代 TRK 抑制剂耐药的 G667C 突变株依然保持了优良的抑制活性, IC₅₀ 值达到了 1.8 nmol/L. 但是, 化合物 **29** 对于另一种突变株 G595R 的抑制活性显著降低, 这可能是由于分子中的四环结构与突变后的精氨酸产生了位阻效应(图 9).

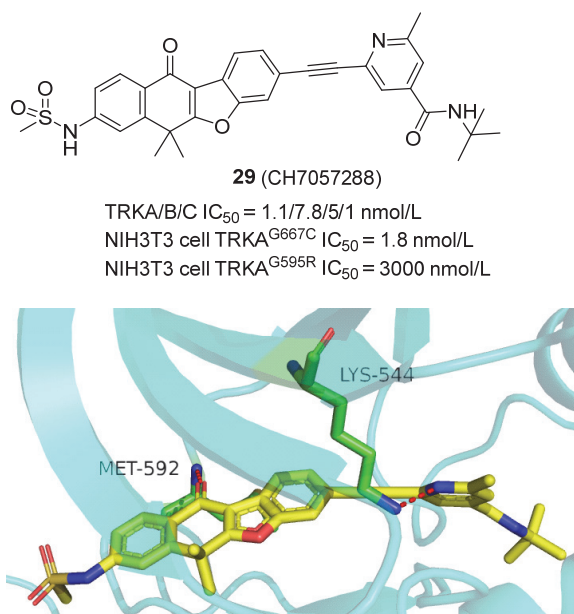


图 9 化合物 **29** 结构以及其晶体复合物结构
 Figure 9 Structure of compound **29** and crystalline complex with TRKA

4.3.2 环状连接链的 II 型 TRK 抑制剂

化合物卡博替尼(**30**)是一种多靶点激酶抑制剂, 对于 c-MET/VEGFR2 都具有抑制活性, 其对 KIT, RET, AXL, TIE2 和 FLT3 的 IC₅₀ 值分别为 4.6, 5.2, 7, 14.3 和 11.3 nmol/L^[85]. 该化合物对于 TRK 蛋白也具有比较好的抑制活性, 对 TRKA 的 IC₅₀ 值达到了 72.3 nmol/L. 值得注意的是, 化合物 **28** 对于临床中常见的 TRK 蛋白 G595R/G667C 双氨基酸突变的情况在酶水平和细胞水平均保持了明显的抑制活性. 更为关键的是, 化合物 **30**

对目前临床出现的二代 TRK 抑制剂 **18** 耐药的患者产生了显著的治疗作用, 在使用化合物 **30** 之后, 患者体内的肿瘤体积得到了明显抑制^[82]. 这提示该化合物在克服目前临床上出现的针对 TRK 蛋白进行肿瘤治疗时易发生耐药这一问题上具有巨大的潜力(图 10).

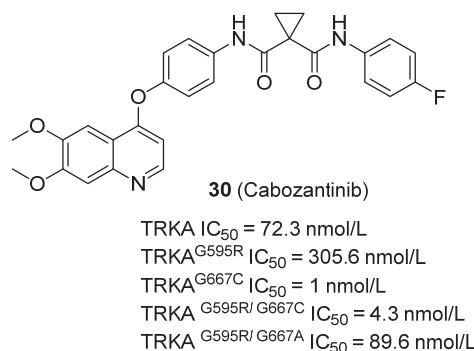


图 10 化合物 **30** 结构及 TRK 抑制活性

Figure 10 Structure and TRK inhibition activity of compound **30**

与化合物 **30** 类似, 许多 II 型的多靶点抑制剂都具有显著的 TRK 抑制活性. 弗瑞替尼(Foretinib, **31**)是一种口服多靶点抑制剂, 对于 MET, RON, AXL 和 VEGFRs 都展现出显著的抑制活性^[86]. 2018 年, Nishiyama 等^[31]报道弗瑞替尼可以克服化合物 **11** 在癌症的临床治疗中产生的耐药性问题, 该问题是 TRK 蛋白出现 G667C 突变引起的. 他们利用对化合物 **11** 具有耐药性的 KM12SM-ER 细胞在小鼠体内模拟脑转移模型, 研究发现, 化合物 **31** 在 30 mg/kg 剂量下对肿瘤有显著的抑制作用. 在第 22 d 的小鼠体内成像图中可以明显观察到肿瘤体积的缩小. 然而, 在针对 TRK 的 G595R 突变株的抑制活性测试中, 化合物 **31** 的抑制作用明显降低(图 11). 司曲替尼(Sitravatinib, **32**)是由 Patwardhan 等开发的效果优良的多激酶靶点的小分子抑制剂. 该化合物对于多种激酶均有良好的抑制活性, 对于 AXL 的 IC₅₀ 值为 1.5 nmol/L, VEGFR2 为 5 nmol/L, FLT3 为 8 nmol/L, c-KIT 为 6 nmol/L. 它对于 TRKA 的 IC₅₀ 值达到 5 nmol/L, 对于 TRKB 的 IC₅₀ 值达到 9 nmol/L^[24]. 奥曲替尼(**33**)是由 Smith 等在 2015 年报道的一个多靶点激酶抑制剂. 它对于 MET、TIE-2 和 VEGFR2 的 IC₅₀ 值分别为 2.7, 8 和 9.2 nmol/L, 对于 TRKA 的 IC₅₀ 值为 0.85 nmol/L, 对于 TRKB 的 IC₅₀ 值为 4.6 nmol/L, 对于 TRKC 的 IC₅₀ 值为 0.83 nmol/L^[27]. 值得注意的是, 该化合物具有穿透血脑屏障的能力, 因此, 化合物 **33** 在脑部肿瘤或者脑转移瘤的治疗当中有巨大的潜力.

除肿瘤适应症外, TRK 抑制剂在镇痛等适应症方面也有一定的研究进展. PF-06273340 (**34**)是由 Skerratt 等

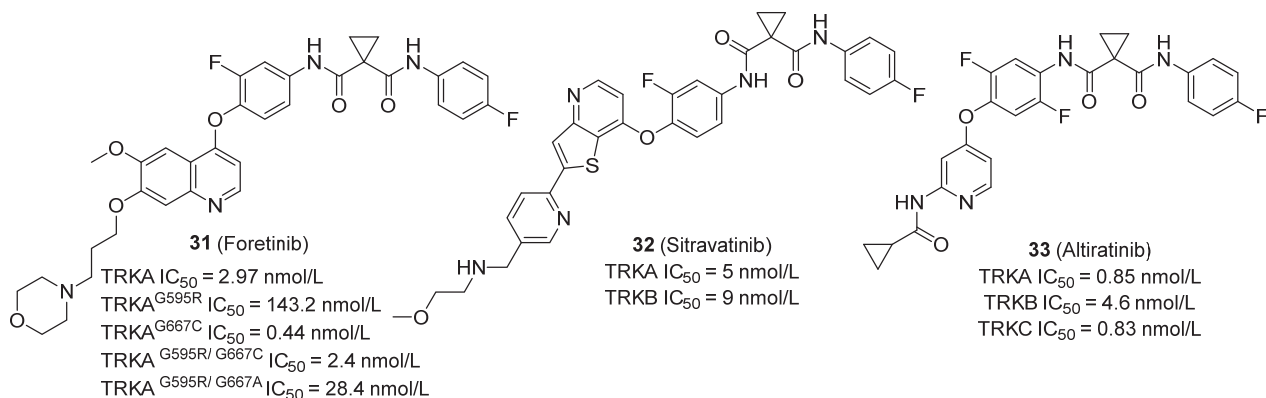


图 11 化合物 31, 32 以及 33 的 TRK 抑制活性

Figure 11 TRK inhibition activity of compounds 31, 32 and 33

在 2016 年报道的一个泛 TRK 抑制剂(图 12), 它对于 TRKA, TRKB 和 TRKC 的 IC_{50} 值分别为 6, 4 和 3 nmol/L. 从晶体复合物的结构来看, 该分子在嘧啶头部以 N 原子与 Met592 的酰胺氢形成氢键, 同时, 它利用延伸出去的氨基的氢与 Met592 的酰胺羰基形成氢键. 化合物 34 是一种用于外周的镇痛药物, 它被设计成为 P-gp 外排转运体的底物, 以确保其不能透过血脑屏障. 目前, 对于它的镇痛作用已经进行了 I 期临床试验^[87], 然而后来的研究表明, 该化合物在代谢过程中涉及醛氧化酶介导的反应, 从而影响该化合物在体内的清除率的评价. 经过进一步优化, 辉瑞公司的研究人员^[88]在 2018 年报道

了新的三种化合物(化合物 35~37), 在细胞水平的活性测试中维持了纳摩尔级别的活性, 并且解决了 34 的代谢问题(图 12). 其中活性最好的是化合物 37, 对于 TRKA 的活性达到了 1.9 nmol/L. 经过初步评价, 化合物 37 表现出较低的代谢清除率, 不会经过醛氧化酶的代谢, 其口服生物利用度达到了 52%. 在紫外线照射诱导热痛觉过敏(UVIH)的大鼠炎症模型中, 3 mg/kg 剂量组表现出显著的镇痛效果.

目前正在研究的 II 型 TRK 抑制剂都是基于 TRK 蛋白的 DFG-out 构象进行结构优化与改造的. 相比于 I 型 TRK 抑制剂, II 型 TRK 抑制剂分子显得更长, 因为它除

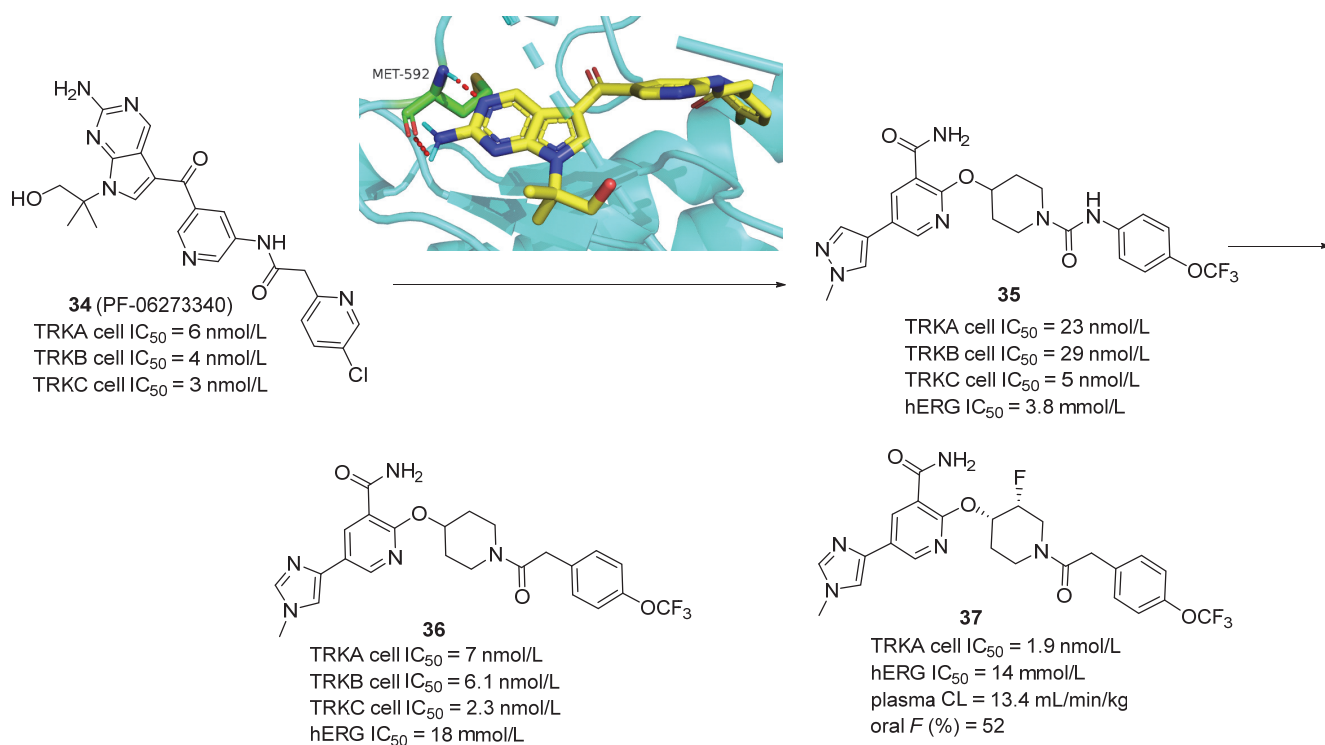


图 12 化合物 34 与 TRKA 的晶体复合物结构和后续改造

Figure 12 Crystalline complex structure of compound 34 with TRKA and subsequent modification

了与 ATP 结合位点结合, 还与附近的一个疏水口袋的氨基酸有较强的作用. 这一口袋在 TRK 蛋白处于激活状态, 即 DFG-in 构象时, 被 DFG 序列所封闭, 只有 TRK 蛋白处于失活状态, 即 DFG-out 构象时, 蛋白的 DFG 序列发生旋转, 从而使得这一疏水口袋开放.

很多激酶类蛋白在 ATP 结合区的结构是保守的, 因此, 仅针对 ATP 结合区进行结构优化的 I 型 TRK 抑制剂, 往往对很多其他的靶点也有抑制作用. 而 II 型 TRK 抑制剂还与附近的疏水口袋结合, 因此, 相比 I 型抑制剂有更好的选择性. 同时, II 型抑制剂已经在临床上证明, 可以对抗目前 TRK 抑制剂应用过程中出现的二代 I 型抑制剂耐药现象. 这些都显示出开发 II 型 TRK 抑制剂的巨大潜力.

4.4 III 型 TRK 抑制剂

除了 I 型与 II 型 TRK 抑制剂之外, 针对 TRK 蛋白的变构调节区, 研究者们还开发了一批 III 型 TRK 抑制剂, 这一类 TRK 抑制剂可以促使 TRK 蛋白维持在无法与 ATP 结合的失活状态. TRKA, TRKB, TRKC 三种亚型的 ATP 结合区是高度保守的, 所以往往很难开发针对某一亚型的选择性抑制剂. 比如, Skerratt 等^[87]报道了一类 *N*-苯基吡唑化合物, 其中化合物 **38** 对于 TRKA 的 IC_{50} 值达到了 10 nmol/L, 而对于 TRKB 和 TRKC 的 IC_{50} 值分别达到了 1800 和 700 nmol/L (图 13), 展现出该化合物优良的 TRKA 亚型的选择性. 与之类似的还有化合物 **39**^[89]和 **40**^[90]. 这些 III 型化合物的活性结果均显示出对

于 TRKA, TRKB, TRKC 三种亚型的优良选择性, 这一点是 I 型与 II 型 TRK 抑制剂所不具备的优势.

5 总结和展望

第一代 TRK 抑制剂拉罗替尼和恩曲替尼已经在发生 *NTRK* 基因融合突变的患者中, 表现出了显著的抗肿瘤活性, 然而, 与其他靶向治疗类似, 获得性耐药的发生限制了 TRK 抑制剂的效力. 尽管可以使用第二代 TRK 抑制剂消除由 TRK 结构域突变导致的靶向耐药, 但使用 TRK 抑制剂治疗获得性耐药仍是一个持续的挑战. 目前, 克服耐药机制的 TRK 抑制剂多为大环化合物, 其结构类型相对单一, 发现新结构类型的克服耐药 TRK 抑制剂将是该领域未来的重要研究方向之一. 受其他激酶耐药的启发, 联合其他激酶抑制剂给药已被证明是 TRK 抑制剂耐药治疗的新选择. 此外, TRK 抑制剂联合化疗或免疫治疗是另一种有前景的治疗方法, 但值得注意的是, 应避免额外的毒性作用. 在一些早期的临床前研究中, TRK 抑制剂联合化疗药物也表现出了潜在的肿瘤治疗效果. TRK 抑制剂 AZ623 联合拓扑替康^[91]、TRK 抑制剂 GNF-4256 联合伊立替康和替莫唑胺^[92]等方案可以显著降低荷神经母细胞瘤小鼠的肿瘤体积, 其抗肿瘤效果优于单药, 且毒副作用较小. 这些临床前的数据也为靶向 TRK 联合化疗方案提供了临床依据. 另外, PROTAC 技术也被应用于 TRK 药物的开发, 睿跃生物开发的靶向 TRK 的 PROTAC 降解剂充分证实了其可行性. 但针对该技术存在的亟待解决共性问题, 如药物代谢动力学性质优化等方面, 也同样存在于 TRK 降解剂的开发过程中. 与 PROTAC 类似促降解机制的化合物也是一个积极且快速推进的研究方向, 为靶向 TRK 治疗打开了新的窗口.

目前, 更准确、更高效的检测技术, 如荧光原位杂交(FISH)、下一代肿瘤组织测序(NGS)、循环肿瘤细胞测序(CTCs), 提供了更准确的检测 *NTRK* 融合的方法, 并作为优化当前治疗的补充策略. 同时, ^{18}F 标记的 TRK 抑制剂也被用于 PET 成像技术, 由于 TRK 信号通路对神经元生长发育的重要作用, TRK 信号通路的激活水平在早期就被发现与一些神经系统疾病的进程息息相关. 在 2018 年, Bailey 等^[93]报道了第一例针对 TRK 蛋白的用于脑部成像的 ^{18}F 标记 PET 示踪剂. 首次人体试验也表明该示踪剂在人体内的稳定性和安全性. 目前, 该示踪剂用于阿尔兹海默症和轻度认知障碍患者的临床研究正在计划中^[94]. 相信在未来会开发出更多的靶向 TRK 的 PET 示踪剂用于肿瘤患者的诊疗. 随着计算生物学技术的发展, 计算机辅助药物设计已经能够参与药物开发中蛋白质残基的鉴定, 并逐步阐明现有药物的结

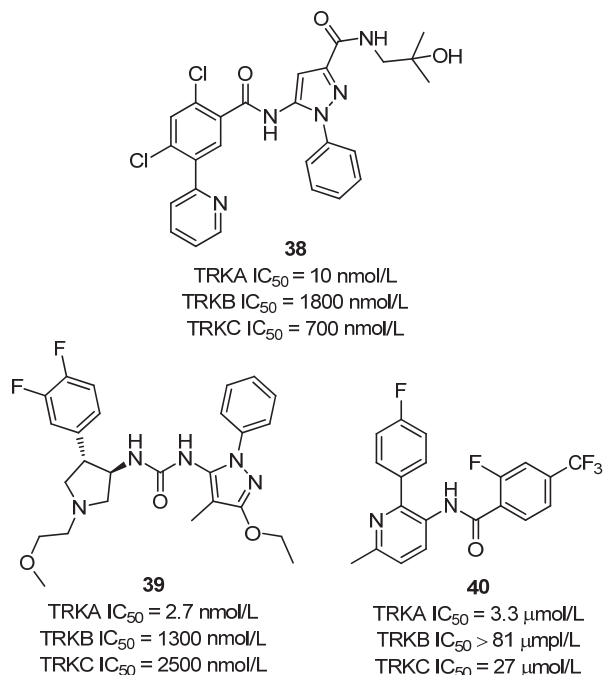


图 13 化合物 **38**, **39** 以及 **40** 的 TRK 抑制活性

Figure 13 TRK inhibition activity of compounds **38**, **39** and **40**

合特性. 此外, 基于序列、结构和动力学方法, 有利于开发新型 TRK 药物, 探索耐药机制. 除了运用这些新技术和新方法, 全面了解 TRKs 在癌症治疗中的作用, 更准确地检测 *NTRK* 融合对提高临床治疗水平至关重要. 我们相信, 随着对 TRK 细胞内信号通路和耐药机制的进一步了解, 更多的 TRK 抑制剂将进入临床试验并应用于治疗, 耐药性问题将很快得到解决. 除了肿瘤之外, TRK 在疼痛、瘙痒、自身免疫疾病等方面的研究也取得了重大的进展. 随着技术的发展, 相信在未来会有更多的 TRK 抑制剂进入临床研究.

References

- [1] Huang, E. J.; Reichardt, L. F. *Annu. Rev. Neurosci.* **2001**, *24*, 677.
- [2] Kozaki, R.; Yoshizawa, T.; Tsukamoto, K.; Kato, H.; Kawabata, K. *Cancer Res.* **2016**, *76*, 2954A.
- [3] Huse, M.; Kuriyan, J. *Cell* **2002**, *109*, 275.
- [4] Bannen, L. C.; Chan, D. S.-M.; Forsyth, T. P.; Khoury, R. G.; Leahy, J. W.; Mac, M. B.; Mann, L. W.; Nuss, J. M.; Parks, J. J.; Wang, Y.; Xu, W. *US 7579473*, **2009**.
- [5] Kaplan, D. R.; Martin-Zanca, D.; Parada, L. F. *Nature* **1991**, *350*, 158.
- [6] Klein, R.; Nanduri, V.; Jing, S.; Lamballe, F.; Tapley, P.; Bryant, S.; Cordon-Cardo, C.; Jones, K. R.; Reichardt, L. F.; Barbacid, M. *Cell* **1991**, *66*, 395.
- [7] Frade, J. M.; Barde, Y. A. *Bioessays* **1998**, *20*, 137.
- [8] Patel, T. D.; Jackman, A.; Rice, F. L.; Kucera, J.; Snider, W. D. *Neuron* **2000**, *25*, 345.
- [9] Teng, H. K.; Teng, K. K.; Lee, R.; Wright, S.; Tevar, S.; Almeida, R. D.; Kermani, P.; Torkin, R.; Chen, Z.-Y.; Lee, F. S.; Kraemer, R. T.; Nykjaer, A.; Hempstead, B. L. *J. Neurosci.* **2005**, *25*, 5455.
- [10] Vaishnavi, A.; Le, A. T.; Doebele, R. C. *Cancer Discovery* **2015**, *5*, 25.
- [11] Créancier, L.; Vandenberghe, I.; Gomes, B.; Dejean, C.; Blanchet, J.-C.; Meilleroux, J.; Guimbaud, R.; Selves, J.; Kruczyński, A. *Cancer Lett.* **2015**, *365*, 107.
- [12] Drilon, A.; Li, G.; Dogan, S.; Gounder, M.; Shen, R.; Arcila, M.; Wang, L.; Hyman, D. M.; Hechtman, J.; Wei, G.; Cam, N. R.; Christiansen, J.; Luo, D.; Maneval, E. C.; Bauer, T.; Patel, M.; Liu, S. V.; Ou, S. H. I.; Farago, A.; Shaw, A.; Shoemaker, R. F.; Lim, J.; Hornby, Z.; Multani, P.; Ladanyi, M.; Berger, M.; Katabi, N.; Ghossein, R.; Ho, A. L. *Ann. Oncol.* **2016**, *27*, 920.
- [13] Skálková, A.; Vanecek, T.; Simpson, R. H. W.; Laco, J.; Majewska, H.; Baneckova, M.; Steiner, P.; Michal, M. *Am. J. Surg. Pathol.* **2016**, *40*, 3.
- [14] Cocco, E.; Scaltriti, M.; Drilon, A. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2018**, *15*, 731.
- [15] Chen, S.; Schneider, B.; Nagel, S.; Geffers, R.; Kaufmann, M.; Quentmeier, H.; Drexler, H. G.; MacLeod, R. A. F. *Blood* **2009**, *114*, 5042.
- [16] Strohmaier, C.; Carter, B. D.; Urfer, R.; Barde, Y. A.; Dechant, G. *EMBO J.* **1996**, *15*, 3332.
- [17] Eggert, A.; Grotzer, M. A.; Ikegaki, N.; Liu, X.-g.; Evans, A. E.; Brodeur, G. M. *Cancer Res.* **2002**, *62*, 1802.
- [18] Lagadeuc, C.; Meignan, S.; Adriaenssens, E.; Foveau, B.; Vanhecke, E.; Romon, R.; Toillon, R. A.; Oxombre, B.; Hondermarck, H.; Le Bourhis, X. *Oncogene* **2009**, *28*, 1960.
- [19] Lange, A. M.; Lo, H.-W. *Cancers* **2018**, *10*, 105.
- [20] Scott, L. J. *Drugs* **2019**, *79*, 201.
- [21] Al-Salama, Z. T.; Keam, S. J. *Drugs* **2019**, *79*, 1477.
- [22] Rajan, N.; Elliott, R.; Clewes, O.; Mackay, A.; Reis-Filho, J. S.; Burn, J.; Langtry, J.; Sieber-Blum, M.; Lord, C. J.; Ashworth, A. *Oncogene* **2011**, *30*, 4243.
- [23] Plummer, R.; Dua, D.; Cresti, N.; Suder, A.; Drew, Y.; Prathapan, V.; Stephens, P.; Thornton, J. K.; de las Heras, B.; Ink, B.; Lee, L.; Matijevic, M.; McGrath, S.; Sarker, D. J. *Clin. Oncol.* **2014**, *32*, e19531.
- [24] Patwardhan, P. P.; Ivy, K. S.; Musi, E.; de Stanchina, E.; Schwartz, G. K. *Oncotarget* **2015**, *7*, 4093.
- [25] Fujiwara, Y.; Takeda, M.; Yamamoto, N.; Nakagawa, K.; Nosaki, K.; Toyozawa, R.; Abe, C.; Shiga, R.; Nakamaru, K.; Seto, T. *Oncotarget* **2018**, *9*, 23729.
- [26] Lin, C.-C.; Arkenau, H.-T.; Lu, S.; Sachdev, J.; de Castro Carpeño, J.; Mita, M.; Dziadziuszko, R.; Su, W.-C.; Bobilev, D.; Hughes, L.; Chan, J.; Zhang, Z.-Y.; Weiss, G. J. *Br. J. Cancer* **2019**, *121*, 131.
- [27] Smith, B. D.; Kaufman, M. D.; Leary, C. B.; Turner, B. A.; Wise, S. C.; Ahn, Y. M.; Booth, R. J.; Caldwell, T. M.; Ensinger, C. L.; Hood, M. M.; Lu, W.-P.; Patt, T. W.; Patt, W. C.; Rutkoski, T. J.; Samarakoon, T.; Telikepalli, H.; Vogeti, L.; Vogeti, S.; Yates, K. M.; Chun, L.; Stewart, L. J.; Clare, M.; Flynn, D. L. *Mol. Cancer Ther.* **2015**, *14*, 2023.
- [28] Russo, M.; Misale, S.; Wei, G.; Siravegna, G.; Crisafulli, G.; Lazzari, L.; Corti, G.; Rospo, G.; Novara, L.; Mussolin, B.; Bartolini, A.; Cam, N.; Patel, R.; Yan, S.; Shoemaker, R.; Wild, R.; Di Nicolantonio, F.; Bianchi, A. S.; Li, G.; Siena, S.; Bardelli, A. *Cancer Discovery* **2016**, *6*, 36.
- [29] Drilon, A.; Nagasubramanian, R.; Blake, J. F.; Ku, N.; Tuch, B. B.; Ebata, K.; Smith, S.; Lauriault, V.; Kolakowski, G. R.; Brandhuber, B. J.; Larsen, P. D.; Bouhana, K. S.; Winski, S. L.; Hamor, R.; Wu, W.-I.; Parker, A.; Morales, T. H.; Sullivan, F. X.; DeWolf, W. E.; Wollenberg, L. A.; Gordon, P. R.; Douglas-Lindsay, D. N.; Scaltriti, M.; Benayed, R.; Raj, S.; Hanusch, B.; Schram, A. M.; Jonsson, P.; Berger, M. F.; Hechtman, J. F.; Taylor, B. S.; Andrews, S.; Rothenberg, S. M.; Hyman, D. M. *Cancer Discovery* **2017**, *7*, 963.
- [30] Cui, J. J.; Zhai, D.; Deng, W.; Rogers, E.; Huang, Z.; Whitten, J.; Li, Y. *Eur. J. Cancer* **2016**, *69*, S32.
- [31] Nishiyama, A.; Yamada, T.; Kita, K.; Wang, R.; Arai, S.; Fukuda, K.; Tanimoto, A.; Takeuchi, S.; Tange, S.; Tajima, A.; Furuya, N.; Kinoshita, T.; Yano, S. *Clin. Cancer Res.* **2018**, *24*, 2357.
- [32] Xiang, H.; Zhang, J.; Lin, C.; Zhang, L.; Liu, B.; Ouyang, L. *Acta Pharm. Sin. B* **2020**, *10*, 569.
- [33] Klein, R.; Jing, S.; Nanduri, V.; O'Rourke, E.; Barbacid, M. *Cell* **1991**, *65*, 189.
- [34] Lamballe, F.; Klein, R.; Barbacid, M. *Cell* **1991**, *66*, 967.
- [35] He, P.; Niu, S.; Wang, S.; Shi, X.; Feng, S.; Du, L.; Zhang, X.; Ma, Z.; Yu, B.; Liu, H. *Acta Pharm. Sin. B* **2019**, *9*, 1193.
- [36] Deinhardt, K.; Chao, M. V. Trk Receptors. In *Neurotrophic Factors*, Eds.: Lewin, G. R.; Carter, B. D.; Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2014**, pp. 103~119.
- [37] Nakagawara, A. *Cancer Lett.* **2001**, *169*, 107.
- [38] Julius, D.; Basbaum, A. I. *Nature* **2001**, *413*, 203.
- [39] Li, M.; Dai, F.-R.; Du, X.-P.; Yang, Q.-D.; Zhang, X.; Chen, Y. *Behav. Brain Res.* **2012**, *231*, 146.
- [40] Miranda, C.; Mazzoni, M.; Sensi, M.; Pierotti, M. A.; Greco, A. *Genes, Chromosomes Cancer* **2014**, *53*, 875.
- [41] Geiger, T. R.; Song, J.-Y.; Rosado, A.; Peeper, D. S. *PLoS One* **2011**, *6*, e16871.
- [42] Harada, T.; Yatabe, Y.; Takeshita, M.; Koga, T.; Yano, T.; Wang, Y.; Giaccone, G. *Clin. Cancer Res.* **2011**, *17*, 2638.
- [43] Marchetti, A.; Felicioni, L.; Pelosi, G.; Del Gramastro, M.; Fumagalli, C.; Sciarrotta, M.; Malatesta, S.; Chella, A.; Barassi, F.; Mucilli, F.; Camplese, P.; D'Antuono, T.; Sacco, R.; Butti, F. *Hum. Mutat.* **2008**, *29*, 609.
- [44] Tomasson, M. H.; Xiang, Z.; Walgren, R.; Zhao, Y.; Kasai, Y.; Miner, T.; Ries, R. E.; Lubman, O.; Fremont, D. H.; McLellan, M. D.; Payton, J. E.; Westervelt, P.; DiPersio, J. F.; Link, D. C.; Walter, M. J.; Graubert, T. A.; Watson, M.; Baty, J.; Heath, S.; Shannon, W. D.; Nagarajan, R.; Bloomfield, C. D.; Mardis, E. R.; Wilson, R. K.; Ley, T. J. *Blood* **2008**, *111*, 4797.
- [45] Reuther Gary, W.; Lambert Que, T.; Caligiuri Michael, A.; Der Channing, J. *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 8655.

- [46] Tacconelli, A.; Farina, A. R.; Cappabianca, L.; Gulino, A.; Mackay, A. R. *Future Oncol.* **2005**, *1*, 689.
- [47] Tacconelli, A.; Farina, A. R.; Cappabianca, L.; DeSantis, G.; Tessitore, A.; Vetuschi, A.; Sferra, R.; Rucci, N.; Argenti, B.; Screpanti, I.; Gulino, A.; Mackay, A. R. *Cancer Cell* **2004**, *6*, 347.
- [48] Vaishnavi, A.; Capelletti, M.; Le, A. T.; Kako, S.; Butaney, M.; Ercan, D.; Mahale, S.; Davies, K. D.; Aisner, D. L.; Pilling, A. B.; Berge, E. M.; Kim, J.; Sasaki, H.; Park, S.-i.; Kryukov, G.; Garraway, L. A.; Hammerman, P. S.; Haas, J.; Andrews, S. W.; Lipson, D.; Stephens, P. J.; Miller, V. A.; Varella-Garcia, M.; Jänne, P. A.; Doebele, R. C. *Nat. Med.* **2013**, *19*, 1469.
- [49] Ranzi, V.; Meakin, S. O.; Miranda, C.; Mondellini, P.; Pierotti, M. A.; Greco, A. *Endocrinology* **2003**, *144*, 922.
- [50] Miranda, C.; Greco, A.; Miele, C.; Pierotti, M. A.; Van Obberghen, E. *J. Cell. Physiol.* **2001**, *186*, 35.
- [51] Roccato, E.; Miranda, C.; Ranzi, V.; Gishizki, M.; Pierotti, M. A.; Greco, A. *Br. J. Cancer* **2016**, *114*, e19.
- [52] Drilon, A.; Laetsch, T. W.; Kummar, S.; DuBois, S. G.; Lassen, U. N.; Demetri, G. D.; Nathanson, M.; Doebele, R. C.; Farago, A. F.; Pappo, A. S.; Turpin, B.; Dowlati, A.; Brose, M. S.; Mascarenhas, L.; Federman, N.; Berlin, J.; El-Deiry, W. S.; Baik, C.; Deeken, J.; Boni, V.; Nagasubramanian, R.; Taylor, M.; Rudzinski, E. R.; Meric-Bernstam, F.; Sohal, D. P. S.; Ma, P. C.; Racz, L. E.; Hechtman, J. F.; Benayed, R.; Ladanyi, M.; Tuch, B. B.; Ebata, K.; Cruickshank, S.; Ku, N. C.; Cox, M. C.; Hawkins, D. S.; Hong, D. S.; Hyman, D. M. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378*, 731.
- [53] Amatu, A.; Sartore-Bianchi, A.; Siena, S. *ESMO Open* **2016**, *1*, e000023.
- [54] Halalshah, H.; McCarville, M. B.; Neel, M.; Reynolds, M.; Cox, M. C.; Pappo, A. S. *Pediatr. Blood Cancer* **2018**, *65*, e27271.
- [55] Davis, J. L.; Lockwood, C. M.; Albert, C. M.; Tsuchiya, K.; Hawkins, D. S.; Rudzinski, E. R. *Pediatr. Dev. Pathol.* **2017**, *21*, 68.
- [56] Laetsch, T. W.; DuBois, S. G.; Mascarenhas, L.; Turpin, B.; Federman, N.; Albert, C. M.; Nagasubramanian, R.; Davis, J. L.; Rudzinski, E.; Feraco, A. M.; Tuch, B. B.; Ebata, K. T.; Reynolds, M.; Smith, S.; Cruickshank, S.; Cox, M. C.; Pappo, A. S.; Hawkins, D. S. *Lancet Oncol.* **2018**, *19*, 705.
- [57] Tognon, C.; Huntsman, D.; Sorensen, P. H. B. 26-Expression of the ETV6-NTRK3 Gene Fusion in Human Secretory Breast Carcinoma. In *Handbook of Immunohistochemistry and in Situ Hybridization of Human Carcinomas*, Ed.: Hayat, M. A., Academic Press, **2002**, p. 493.
- [58] Thress, K.; MacIntyre, T.; Wang, H.; Whitston, D.; Liu, Z.-Y.; Hoffmann, E.; Wang, T.; Brown, J. L.; Webster, K.; Omer, C.; Zage, P. E.; Zeng, L.; Zweidler-McKay, P. A. *Mol. Cancer Ther.* **2009**, *8*, 1818.
- [59] Lippa, B.; Morris, J.; Corbett, M.; Kwan, T. A.; Noe, M. C.; Snow, S. L.; Gant, T. G.; Mangiaracina, M.; Coffey, H. A.; Foster, B.; Knauth, E. A.; Wessel, M. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3444.
- [60] Han, S.-Y.; Lee, C. O.; Ahn, S.-H.; Lee, M.-O.; Kang, S.-Y.; Cha, H.-J.; Cho, S. Y.; Ha, J. D.; Ryu, J. W.; Jung, H.; Kim, H. R.; Koh, J. S.; Lee, J. *Invest. New Drugs* **2012**, *30*, 518.
- [61] Choi, H.-S.; Rucker, P. V.; Wang, Z.; Fan, Y.; Albaugh, P.; Chopiuk, G.; Gessier, F.; Sun, F.; Adrian, F.; Liu, G.; Hood, T.; Li, N.; Jia, Y.; Che, J.; McCormack, S.; Li, A.; Li, J.; Steffy, A.; Culazzo, A.; Tompkins, C.; Phung, V.; Kreusch, A.; Lu, M.; Hu, B.; Chaudhary, A.; Prashad, M.; Tuntland, T.; Liu, B.; Harris, J.; Seidel, H. M.; Loren, J.; Molteni, V. *ACS Med. Chem. Lett.* **2015**, *6*, 562.
- [62] Ettinger, D. S.; Akerley, W.; Borghaei, H.; Chang, A. C.; Cheney, R. T.; Chirieac, L. R.; D'Amico, T. A.; Demmy, T. L.; Ganti, A. K. P.; Govindan, R.; Grannis, F. W.; Horn, L.; Jahan, T. M.; Jahanzeb, M.; Kessinger, A.; Komaki, R.; Kong, F.-M.; Kris, M. G.; Krug, L. M.; Lennes, I. T.; Loo, B. W.; Martins, R.; O'Malley, J.; Osarogiagbon, R. U.; Otterson, G. A.; Patel, J. D.; Pinder-Schenck, M. C.; Pisters, K. M.; Reckamp, K.; Riely, G. J.; Rohren, E.; Swanson, S. J.; Wood, D. E.; Yang, S. C.; Hughes, M.; Gregory, K. M. *J. Natl. Compr. Cancer Network* **2012**, *10*, 1236.
- [63] Engstrom, P. F.; Benson, A. B.; Chen, Y. J.; Choti, M. A.; Yeatman, T. J. *J. Natl. Compr. Cancer Network* **2005**, *3*, 468.
- [64] Chen, L.; Chen, Y.; Zhang, C.; Jiao, B.; Liang, S.; Tan, Q.; Chai, H.; Yu, W.; Qian, Y.; Yang, H.; Yao, W.; Yu, J.; Luo, Y.; Plewe, M.; Wang, J.; Han, X.-R.; Liu, J. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 14562.
- [65] Menichincheri, M.; Ardini, E.; Magnaghi, P.; Avanzi, N.; Banfi, P.; Bossi, R.; Buffa, L.; Canevari, G.; Ceriani, L.; Colombo, M.; Corti, L.; Donati, D.; Fasolini, M.; Felder, E.; Fiorelli, C.; Fiorentini, F.; Galvani, A.; Isacchi, A.; Borgia, A. L.; Marchionni, C.; Nesi, M.; Orrenius, C.; Panzeri, A.; Pesenti, E.; Rusconi, L.; Saccardo, M. B.; Vanotti, E.; Perrone, E.; Orsini, P. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 3392.
- [66] Ardini, E.; Menichincheri, M.; Banfi, P.; Bosotti, R.; De Ponti, C.; Pulci, R.; Ballinari, D.; Ciomei, M.; Texido, G.; Degrassi, A.; Avanzi, N.; Amboldi, N.; Saccardo, M. B.; Casero, D.; Orsini, P.; Bandiera, T.; Mologni, L.; Anderson, D.; Wei, G.; Harris, J.; Vernier, J.-M.; Li, G.; Felder, E.; Donati, D.; Isacchi, A.; Pesenti, E.; Magnaghi, P.; Galvani, A. *Mol. Cancer Ther.* **2016**, *15*, 628.
- [67] Roche, Japan becomes first country to approve Roche's alectinib for people with a specific form of advanced lung cancer. [https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/news/\(2014/07/04\)](https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/news/(2014/07/04)).
- [68] Lewis, R. T.; Bode, C. M.; Choquette, D. M.; Potashman, M.; Romero, K.; Stellwagen, J. C.; Teffera, Y.; Moore, E.; Whittington, D. A.; Chen, H.; Epstein, L. F.; Emkey, R.; Andrews, P. S.; Yu, V. L.; Saffran, D. C.; Xu, M.; Drew, A.; Merkel, P.; Szilvassy, S.; Brake, R. L. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6523.
- [69] Arkenau, H.-T.; Sachdev, J. C.; Mita, M. M.; Dziadziuszko, R.; Lin, C.-C.; Yang, J. C. H.; Infante, J. R.; Anthony, S. P.; Voskoboinik, M.; Su, W.-C.; De Castro, J.; Natale, R. B.; Zhang, Z.-Y.; Hughes, L.; Bobilev, D.; Weiss, G. J. *J. Clin. Oncol.* **2015**, *33*, 8063.
- [70] Albanese, C.; Alzani, R.; Amboldi, N.; Degrassi, A.; Festuccia, C.; Fiorentini, F.; Gravina, G. L.; Mercurio, C.; Pastori, W.; Brasca, M. G.; Pesenti, E.; Galvani, A.; Ciomei, M. *Br. J. Pharmacol.* **2013**, *169*, 156.
- [71] Albanese, C.; Alzani, R.; Amboldi, N.; Avanzi, N.; Ballinari, D.; Brasca, M. G.; Festuccia, C.; Fiorentini, F.; Locatelli, G.; Pastori, W.; Patton, V.; Roletto, F.; Colotta, F.; Galvani, A.; Isacchi, A.; Moll, J.; Pesenti, E.; Mercurio, C.; Ciomei, M. *Mol. Cancer Ther.* **2010**, *9*, 2243.
- [72] Brasca, M. G.; Amboldi, N.; Ballinari, D.; Cameron, A.; Casale, E.; Cervi, G.; Colombo, M.; Colotta, F.; Croci, V.; D'Alessio, R.; Fiorentini, F.; Isacchi, A.; Mercurio, C.; Moretti, W.; Panzeri, A.; Pastori, W.; Pevarello, P.; Quartieri, F.; Roletto, F.; Traquandi, G.; Vianello, P.; Vulpetti, A.; Ciomei, M. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 5152.
- [73] Fancelli, D.; Moll, J.; Varasi, M.; Bravo, R.; Artico, R.; Berta, D.; Bindi, S.; Cameron, A.; Candiani, I.; Cappella, P.; Carpinelli, P.; Croci, W.; Forte, B.; Giorgini, M. L.; Klapwig, J.; Marsiglio, A.; Pesenti, E.; Rocchetti, M.; Roletto, F.; Severino, D.; Soncini, C.; Storici, P.; Tonani, R.; Zugnoni, P.; Vianello, P. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 7247.
- [74] Choe, H.; Son, Y. H.; Byun, B. J.; Choi, S. U.; Lee, K. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2016**, *37*, 1378.
- [75] Stachel, S. J.; Sanders, J. M.; Henze, D. A.; Rudd, M. T.; Su, H.-P.; Li, Y.; Nanda, K. K.; Egbertson, M. S.; Manley, P. J.; Jones, K. L. G.; Brnardic, E. J.; Green, A.; Grobler, J. A.; Hanney, B.; Leilt, M.; Lai, M.-T.; Munshi, V.; Murphy, D.; Rickert, K.; Riley, D.; Krasowska-Zoladek, A.; Daley, C.; Zuck, P.; Kane, S. A.; Bilodeau, M. T. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 5800.
- [76] Carboni, J. M.; Wittman, M.; Yang, Z.; Lee, F.; Greer, A.; Hurlburt, W.; Hillerman, S.; Cao, C.; Cantor, G. H.; Dell-John, J.; Chen, C.; Discenza, L.; Menard, K.; Li, A.; Trainor, G.; Vyas, D.; Kramer, R.; Attar, R. M.; Gottardis, M. M. *Mol. Cancer Ther.* **2009**, *8*, 3341.
- [77] Liu, Z.; Yu, P.; Dong, L.; Wang, W.; Duan, S.; Wang, B.; Gong, X.; Ye, L.; Wang, H.; Tian, J. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 10286.
- [78] Duan, Y.; Wang, J.; Zhu, S.; Tu, Z.-C.; Zhang, Z.; Chan, S.; Ding, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *203*, 112552.
- [79] Sun, M.; Cai, S.; Li, P.; Zhang, F.; Zhang, H.; Zhou, J. *Bioorg. Med.*

- Chem.* **2020**, *28*, 115811.
- [80] Zhu, L.; Hu, Y.; Wu, W.; Dai, L.; Duan, X.; Yang, Y.; Sun, Y.; Han, Y.; Peng, Y.; Kong, F.; Luo, H.; Yang, L.; Xu, H.; Guo, M.; Zhong, Z.; Wang, S. *US 10829492*, **2017**.
- [81] Liu, H.; Tan, H.; He, C.; Wang, X.; Liu, Q.; Li, Z.; Zhou, Z.; Gao, Y.; Jiang, L.; Li, L.; Lin, S.; Zhao, X.; Wang, W. *WO 2019174598*, **2019**.
- [82] Cocco, E.; Lee, J. E.; Kannan, S.; Schram, A. M.; Won, H. H.; Shifman, S.; Kulick, A.; Baldino, L.; Toska, E.; Arruabarrena-Aristorena, A.; Kittane, S.; Wu, F.; Cai, Y.; Arena, S.; Mussolin, B.; Kannan, R.; Vasan, N.; Gorelick, A. N.; Berger, M. F.; Novoplansky, O.; Jagadeeshan, S.; Liao, Y.; Rix, U.; Misale, S.; Taylor, B. S.; Bardelli, A.; Hechtman, J. F.; Hyman, D. M.; Elkabets, M.; de Stanchina, E.; Verma, C. S.; Ventura, A.; Drilon, A.; Scaltriti, M. *Cancer Discovery* **2021**, *11*, 126.
- [83] Cui, S.; Wang, Y.; Wang, Y.; Tang, X.; Ren, X.; Zhang, L.; Xu, Y.; Zhang, Z.; Zhang, Z.-M.; Lu, X.; Ding, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *179*, 470.
- [84] Tanaka, H.; Sase, H.; Tsukaguchi, T.; Hasegawa, M.; Tanimura, H.; Yoshida, M.; Sakata, K.; Fujii, T.; Tachibana, Y.; Takanashi, K.; Higashida, A.; Hasegawa, K.; Ono, Y.; Oikawa, N.; Mio, T. *Mol. Cancer Ther.* **2018**, *17*, 2519.
- [85] Yakes, F. M.; Chen, J.; Tan, J.; Yamaguchi, K.; Shi, Y.; Yu, P.; Qian, F.; Chu, F.; Bentzien, F.; Cancilla, B.; Orf, J.; You, A.; Laird, A. D.; Engst, S.; Lee, L.; Lesch, J.; Chou, Y.-C.; Joly, A. H. *Mol. Cancer Ther.* **2011**, *10*, 2298.
- [86] Kataoka, Y.; Mukohara, T.; Tomioka, H.; Funakoshi, Y.; Kiyota, N.; Fujiwara, Y.; Yashiro, M.; Hirakawa, K.; Hirai, M.; Minami, H. *Invest. New Drugs* **2012**, *30*, 1352.
- [87] Skerratt, S. E.; Andrews, M.; Bagal, S. K.; Bilsland, J.; Brown, D.; Bungay, P. J.; Cole, S.; Gibson, K. R.; Jones, R.; Morao, I.; Nedderman, A.; Omoto, K.; Robinson, C.; Ryckmans, T.; Skinner, K.; Stupp, P.; Waldron, G. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 10084.
- [88] Bagal, S. K.; Andrews, M.; Bechle, B. M.; Bian, J.; Bilsland, J.; Blakemore, D. C.; Braganza, J. F.; Bungay, P. J.; Corbett, M. S.; Cronin, C. N.; Cui, J. J.; Dias, R.; Flanagan, N. J.; Greasley, S. E.; Grimley, R.; James, K.; Johnson, E.; Kitching, L.; Kraus, M. L.; McAlpine, I.; Nagata, A.; Ninkovic, S.; Omoto, K.; Scales, S.; Skerratt, S. E.; Sun, J.; Tran-Dubé, M.; Waldron, G. J.; Wang, F.; Warmus, J. S. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 6779.
- [89] Shelley, A.; Andrews, S. W.; Blake, J. F.; Condroski, K. R.; Julia, H.; Lily, H.; Yutong, J.; Timothy, K.; Kolakowski, G. R.; Jeongbeob, S. *WO 2012158413*, **2012**.
- [90] Su, H.-P.; Rickert, K.; Burlein, C.; Narayan, K.; Bukhtiyarova, M.; Hurzy, D. M.; Stump, C. A.; Zhang, X.; Reid, J.; Krasowska-Zoladek, A.; Tummala, S.; Shipman, J. M.; Kornienko, M.; Lemaire, P. A.; Krosky, D.; Heller, A.; Achab, A.; Chamberlin, C.; Saradjian, P.; Sauvagnat, B.; Yang, X.; Ziebell, M. R.; Nickbarg, E.; Sanders, J. M.; Bilodeau, M. T.; Carroll, S. S.; Lumb, K. J.; Soisson, S. M.; Henze, D. A.; Cooke, A. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2017**, *114*, E297.
- [91] Zage, P. E.; Graham, T. C.; Zeng, L.; Fang, W.; Pien, C.; Thress, K.; Omer, C.; Brown, J. L.; Zweidler-McKay, P. A. *Cancer* **2011**, *117*, 1321.
- [92] Croucher, J. L.; Iyer, R.; Li, N.; Molteni, V.; Loren, J.; Gordon, W. P.; Tuntland, T.; Liu, B.; Brodeur, G. M. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2015**, *75*, 131.
- [93] Bernard-Gauthier, V.; Mossine, A. V.; Mahringer, A.; Aliaga, A.; Bailey, J. J.; Shao, X.; Stauff, J.; Arteaga, J.; Sherman, P.; Grand' Maison, M.; Rochon, P.-L.; Wängler, B.; Wängler, C.; Bartenstein, P.; Kostikov, A.; Kaplan, D. R.; Fricker, G.; Rosa-Neto, P.; Scott, P. J. H.; Schirrmacher, R. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 1737.
- [94] Bailey, J. J.; Kaiser, L.; Lindner, S.; Wüst, M.; Thiel, A.; Soucy, J.-P.; Rosa-Neto, P.; Scott, P. J. H.; Unterrainer, M.; Kaplan, D. R.; Wängler, C.; Wängler, B.; Bartenstein, P.; Bernard-Gauthier, V.; Schirrmacher, R. *ACS Chem. Neurosci.* **2019**, *10*, 2697.

(Lu, Y.)