



УДК 547.853.3

# КОВАЛЕНТНЫЕ ИНГИБИТОРЫ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА (EGFR) В ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ЛЕКАРСТВЕННО- УСТОЙЧИВОГО НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

© 2024 г. А. Б. Швецов\*, #, А. В. Семёнов\*

\* Национальный исследовательский Мордовский государственный университет,  
Россия, 430005 Саранск, ул. Большевистская, 68

Поступила в редакцию 30.01.2024 г.

После доработки 25.02.2024 г.

Принята к публикации 26.02.2024 г.

Немелкоклеточный рак легких (НМРЛ) – основной подтипа рака легких, выступающий частой причиной смертности от онкологии во всем мире. Ведущую роль в патогенезе НМРЛ играют мутации в гене рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), обуславливающие его патологическую активность. Первое поколение ингибиторов EGFR, действующих обратимо, эффективно блокирует эффекты EGFR с активирующими мутациями за счет выигрыша в конкуренции с АТФ за связывание с киназой. Однако через несколько месяцев лечения часто возникает вторичная мутация T790M, являющаяся причиной резистентности к последующей терапии данными препаратами. Эффективное ингибирование EGFR с мутацией T790M оказалось возможным за счет ингибиторов второго поколения, действующих по ковалентному механизму. Однако второе поколение ковалентных ингибиторов получило ограниченное применение в терапии вследствие недостаточной селективности к EGFR T790M и узкого терапевтического окна. Открытие ковалентных ингибиторов на основе пиримидина обусловило появление ряда эффективных и более безопасных препаратов третьего поколения для лечения НМРЛ с мутацией EGFR T790M. Настоящий обзор содержит краткое описание ингибиторов EGFR первого и второго поколений и подробное рассмотрение основных этапов разработки ингибиторов третьего поколения. Основной акцент сделан на выявленных закономерностях “структура–активность”. Приведены данные по ингибиторам, получившим статус одобренных препаратов для лечения НМРЛ. Указаны перспективные направления разработки новых ингибиторов EGFR.

**Ключевые слова:** немелкоклеточный рак легкого, рецептор эпидермального фактора роста, двойная мутация, ковалентные ингибиторы, ингибирующая активность, пиримидины, молекулярное моделирование

**DOI:** 10.31857/S0132342324060037, **EDN:** NFUMER

## СОДЕРЖАНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ	736
2. ИНГИБИТОРЫ EGFR ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ И ЛЕКАРСТВЕННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ	737
3. ИНГИБИТОРЫ EGFR ВТОРОГО ПОКОЛЕНИЯ	737

Сокращения: АТФ – аденоинтрифосфорная кислота; ГЭБ – гемато-энцефалический барьер; НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого; РСА – рентгеноструктурный анализ; ТМЭДА –  $N,N,N'$ - trimetilэтилендиамин; ALK – киназа анапластической лимфомы; ВТК – киназа Брутона; DM – двойная мутация; EGFR – рецептор эпидермального фактора роста; FDA – управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США; IGFR1 – рецептор инсулиноподобного фактора роста 1; РДВ – база данных белков; Src – протеинтиозинкиназа; ТКИ – ингибиторы тирозинкиназы; WT – дикий тип.

# Автор для связи: (тел.: +7 (917) 996-41-38; эл. почта: shvetsov.1984@list.ru).

4. ИНГИБИТОРЫ EGFR ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЯ	738
5. ИНГИБИТОРЫ EGFR DM С АМИНОПИРИМИДИНОВЫМ ОСТОВОМ	740
6. ИНГИБИТОРЫ С ПИРРОЛОПИРИМИДИНОВЫМ ОСТОВОМ	750
7. ИНГИБИТОРЫ С ПУРИНОВЫМ И ПИРАЗОЛОПИРИМИДИНОВЫМ ОСТОВАМИ	752
8. ИНГИБИТОРЫ С ТИОФЕНО- И ТИОПИРАНОПИРИМИДИНОВЫМИ ОСТОВАМИ	752
9. ИНГИБИТОРЫ EGFR DM С ФУРАНОПИРИМИДИНОВЫМ ОСТОВОМ	753
10. ИНГИБИТОРЫ С ХИНАЗОЛИНОВЫМ, ПИРИДО- И ПИРИМИДОПИРИМИДИНОВЫМИ ОСТОВАМИ	754
11. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	755
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	755

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Рак легкого – одна из наиболее часто встречающихся злокачественных опухолей. Согласно данным международного агентства по изучению рака (IARC), в 2020 г. в мире было зарегистрировано >19 млн новых случаев онкологических заболеваний, среди которых второе место занимает рак легкого. В России среди всех зарегистрированных случаев злокачественных новообразований в 2022 г. 3-е место пришлось на легочную локализацию [1]. Рак легкого – ведущая причина смерти от онкологических заболеваний у мужчин [2].

Немелкоклеточный рак легких (НМРЛ) – основной гистологический подтип рака легких, составляющий ~80% всех случаев заболевания [3]. Исследования показали, что важнейшую роль в патогенезе НМРЛ играет рецептор эпидермального фактора роста человека EGFR (epidermal growth factor receptor), представляющий собой белок клеточной поверхности, который связывается со своим природным лигандом, эпидермальным фактором роста (EGF), индуцируя аутофосфорилирование тирозина и запуская процесс пролиферации клеток [4]. Активность EGFR и опосредованная им клеточная передача сигналов хорошо скоординированы и строго контролируются в нормальных клетках. Разбалансировка сигнальной системы EGFR ведет к нарушению регуляции тирозинкиназной активности. В результате чрезмерной активации EGFR запускается каскад биохимических реакций, приводящих к повышению уровня пролиферации опухолевых клеток, росту опухоли, патологического ангиогенеза и метастазирования. Для опухолевых клеток выявлены следующие основные механизмы активации EGFR-зависимых сигнальных путей:

- 1) гиперэкспрессия EGFR;
- 2) избыточная продукция факторов роста (TGF- $\alpha$ , EGF);
- 3) мутация в гене, кодирующем EGFR, и, как следствие, активация рецептора в отсутствие факторов роста;
- 4) гетеродимеризация рецептора, приводящая к постоянной активации тирозинкиназы в отсутствие лиганда.

Ведущую роль в патогенезе НМРЛ играют мутации. Было установлено, что большинство мутаций (85–90%) в домене EGFR представлены делецией в экзоне 19 (Del19) и заменой Leu858 на Arg в экзоне 21 (L858R), которые называются “активирующими”, поскольку приводят к лиганд-независимой тирозинкиназной активности [5]. Остаток Leu858 расположен в петле активации и является частью цепочки гидрофобных аминокислот, образующих активационную спираль. При замене лейцина более гидрофильным аргинином эта спираль искажается, что приводит к дестабилизации неактивной конформации EGFR, способствуя тем самым переходу в активное состояние. При делеции экзона 19 происходит укорочение С-спирали на 1–3 остатка, что, вероятно, не позволяет С-спирали повернуться наружу и перейти в неактивное состояние [6]. Было установлено, что активирующие мутации EGFR встречаются в ~10–15% случаев НМРЛ у пациентов европеоидной расы и в ~30–40% у пациентов из Восточной Азии [7]. Для блокирования биологических эффектов, реализуемых посредством гиперактивации EGFR, в качестве основных стратегий применяют использование моноклональных тел, действующих непосредственно против связывающего домена EGFR.

или образующих неактивный комплекс с EGF и TGF- $\alpha$ , и использование низкомолекулярных ингибиторов, способных воздействовать на внутриклеточный домен EGFR и прерывать процесс фосфорилирования за счет конкурирования с АТФ, а также комбинации данных стратегий. В настоящем обзоре будут рассмотрены три поколения низкомолекулярных ингибиторов, способных ингибировать мутантные формы EGFR и обусловливающих осложнения при лечении НМРЛ.

## 2. ИНГИБИТОРЫ EGFR ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ И ЛЕКАРСТВЕННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ

Созданные в 2003–2004 гг. ингибиторы EGFR первого поколения (гэфитиниб (1), эрлотиниб (2) и икотиниб (3), рис. 1 $a$ ) проектировались как АТФ-миметики [8], конкурентно и обратимо связывающиеся с АТФ-сайтом EGFR (рис. 1 $b$ , 1 $c$ ) [9]. Лечение НМРЛ этими препаратами приводило к положительному ответу у ~60–80% пациентов, однако в большинстве случаев после 10–12 месяцев терапии наблюдалось развитие резистентности [10]. Ее основной причиной оказалась мутация

T790M (замена Thr790 на Met), приводящая к резкому снижению (как минимум на 50%) эффективности ингибиторов, в основном за счет повышения аффинности рецептора к АТФ [11, 12]. Во многих случаях лекарственно-резистентная мутация T790M существует вместе с активирующей мутацией L858R, образуя двойную мутацию EGFR L858R/T790M (double mutation, EGFR DM), придающую устойчивость к любым конкурентным АТФ-ингибиторам [13]. Для преодоления повышенного сродства мутантной киназы EGFR DM к АТФ при ее физиологических концентрациях (1–10 мМ) потенциальный ингибитор должен обладать сверхбыстрым действием, что может быть достигнуто за счет ковалентного связывания [14].

## 3. ИНГИБИТОРЫ EGFR ВТОРОГО ПОКОЛЕНИЯ

Разработка ковалентных ингибиторов EGFR T790M началась в 1990-х гг. Их основой выступил хиназолиновый остаток, способный образовывать водородную связь с “шарнирным” Met793 EGFR и оснащенный электрофильной “боеголовкой” (акцептор Михаэля), нацеленной на тиольный

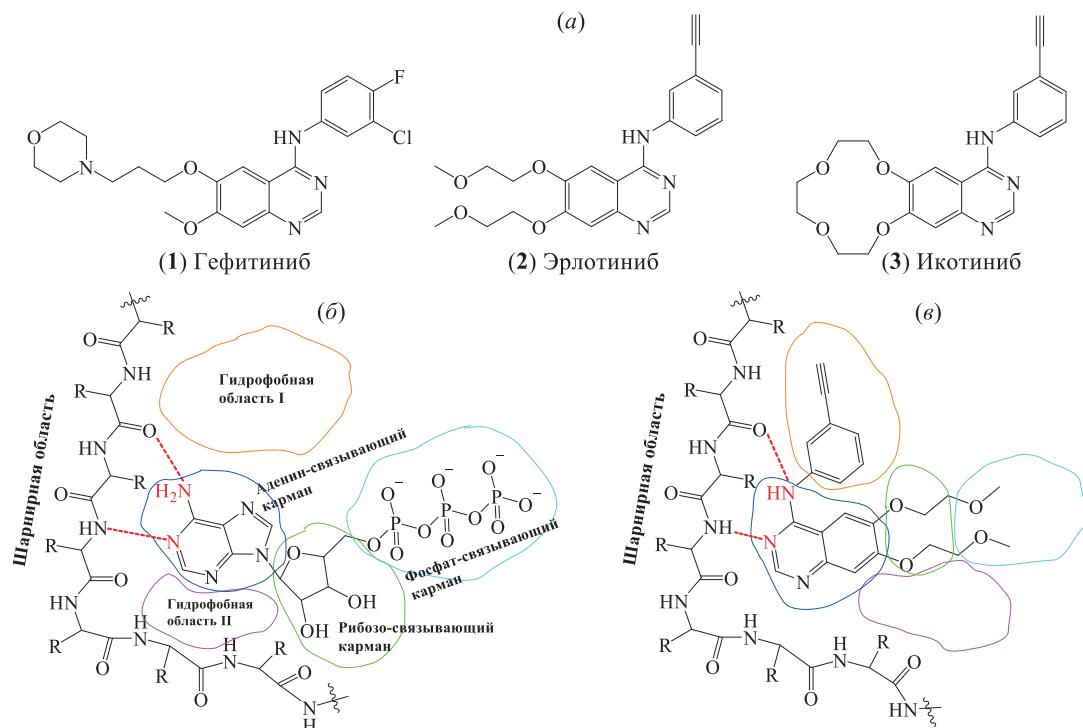


Рис. 1. (a) – Ингибиторы EGFR первого поколения; (б) – строение АТФ-связывающего сайта EGFR [9]; (в) – способ связывания эрлотиниба с EGFR [9].

остаток Cys797 на краю активного сайта киназы. Ковалентное связывание способствует конкурентному преимуществу над АТФ и увеличивает время действия ингибитора [15].

Первым одобренным FDA в 2013 г. ковалентным ингибитором стал афатиниб (4) (рис. 2), показавший в тестах *in vitro* концентрацию полумаксимального ингибирования в отношении мутантной киназы ( $IC_{50}^{EGFR\ DM}$ ) на уровне 10 нМ, что оказалось на два порядка ниже по сравнению с гефитинибом. Кроме того, афатиниб показал выраженное противоопухолевое действие на модели ксенотранспланта H1975, несущего мутацию EGFR DM (модель *in vivo*) [16]. При исследовании методами PCA комплекса афатиниба с EGFR DM (PDB: 4G5J) было установлено, что между азотом Met793 в шарнирной области и хиназолиновым остовом ингибитора образуется водородная связь. Гидрофобная часть молекулы ориентируется вглубь сайта связывания. Данные о распределении электронной плотности свидетельствуют об образовании ковалентной связи между Cys797 и акцепторной группой Михаэля [17]. Однако применение афатиниба в качестве монотерапии для преодоления приобретенной резистентности T790M оказалось неэффективным и существенно ограниченным из-за недостаточной селективности и, как следствие, проявлении кожной и желудочно-кишечной токсичности в дозах, необходимых для эффективного ингибирования EGFR T790M [18].

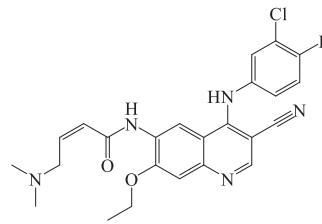
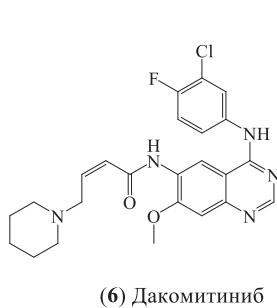
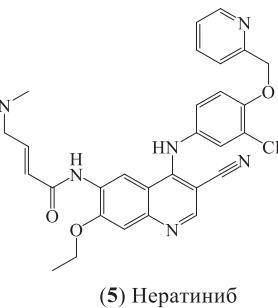
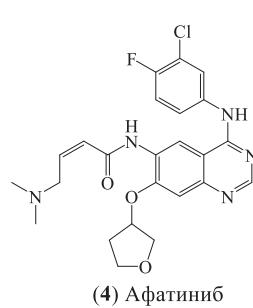
В качестве ингибитора EGFR T790M также был исследован нератиниб (5) (рис. 2), показавший в доклинических исследованиях многообещающую антитрополиферативную активность в отношении клеточной линии H1975 [19]. Однако в клинических исследованиях нератиниб не был эффективен в лечении пациентов с НМРЛ, ранее полу-

чавших положительный эффект от терапии ТКИ (ингибиторами тирозинкиназы) EGFR первого поколения, а также низкую биодоступность и ряд побочных эффектов вследствие узкого терапевтического окна [20]. Способ связывания нератиниба с EGFR T790M аналогичен таковому для афатиниба (PDB: 2JIV) [21].

Был исследован ряд других ковалентных ингибиторов: дакомитиниб (6) [22], пелитиниб (7) [23], канертиниб [24] (рис. 2) и др., но ни одному из них не удалось преодолеть проблемы лекарственной резистентности, связанные с мутацией T790M в долгосрочной перспективе за счет сходных недостатков: узкого терапевтического окна, побочных и токсических эффектов, обусловленных высокой степенью активности в отношении киназы дикого типа, находящейся в здоровых тканях [25, 26].

## 4. ИНГИБИТОРЫ EGFR ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЯ

Разработка в 2009 г. Zhou et al. соединения WZ4002 (8) (рис. 3а) дало начало третьему поколению ингибиторов EGFR. Пиrimидиновый остов WZ4002 имел меньший размер, большую гибкость и способность к размещению в сайте связывания в условиях стерических затруднений, возникающих вследствие появления более объемного и гидрофобного мутантного Met790 в EGFR DM. В тестах *in vitro* ингибитор показал 14-кратную селективность к EGFR T790M, а в сравнении с нератинибом (5) и гефитинибом (1) имел на два порядка более низкую активность в отношении EGFR дикого типа. WZ4002 вызывал значительную регрессию опухоли в моделях *in vivo*, имел пероральную доступность 24% и период полувыведения ( $T_{1/2}$ ) 2.5 ч [27]. По данным PCA комплекса WZ4002 с EGFR T790M (PDB: 3IKA), молекула ингибитора находится в



**Рис. 2.** Ингибиторы EGFR второго поколения.

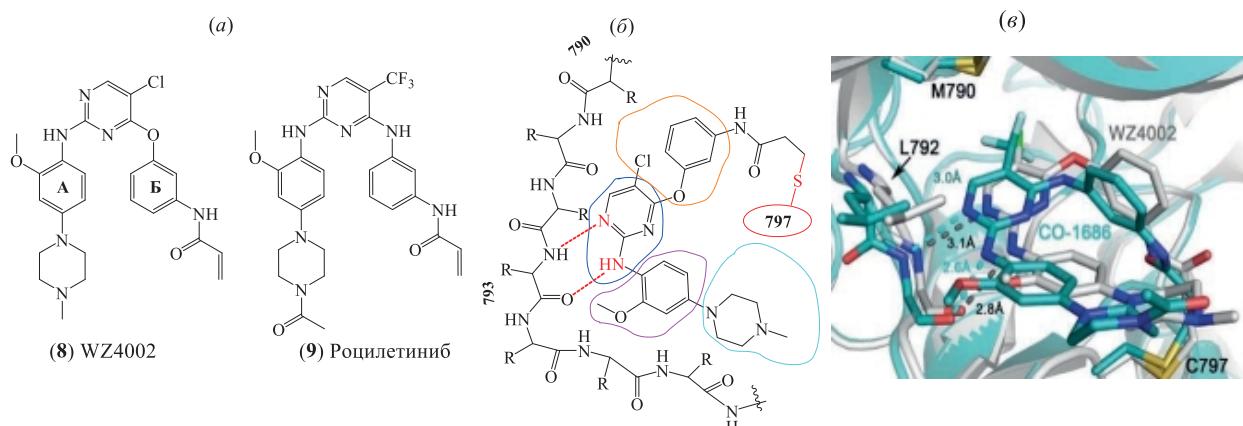


Рис. 3. (а) – Первые ингибиторы EGFR третьего поколения; (б) – способ связывания WZ4002 с EGFR; (в) – наложение суперпозиций WZ4002 и роцилэтиниба в EGFR T790M [30].

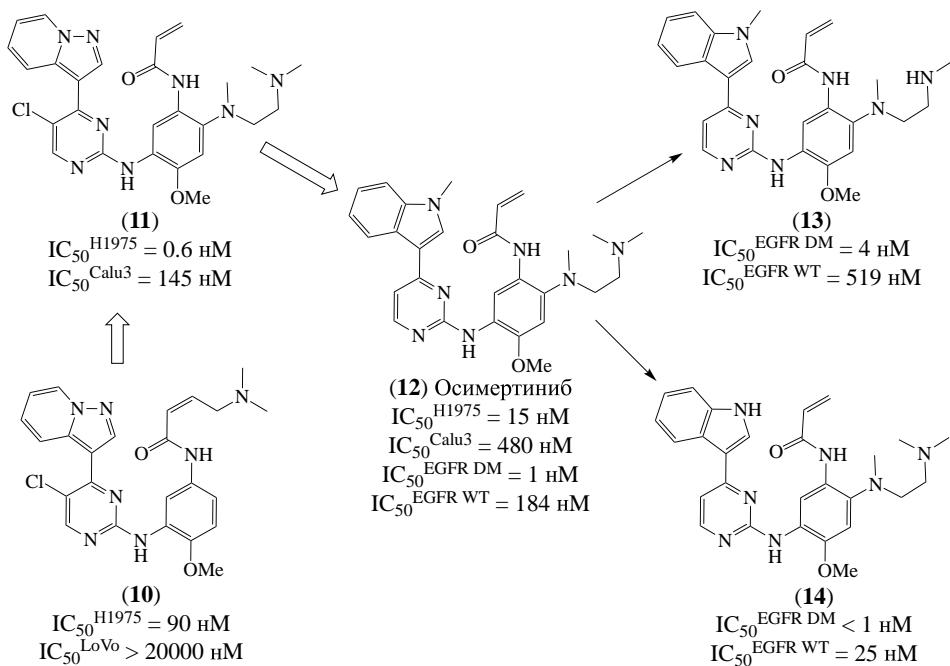
сайте связывания киназы в U-образной конформации и образует ковалентную связь с Cys797 (рис. 3б). 2-Аминопиримидиновый остов образует бидентатную водородную связь с “шарнирным” Met793. Хлор взаимодействует с мутантным “привратниковым” Met790, что, вероятно, обуславливает селективность WZ4002 в отношении DM, поскольку немутантный Thr790 не обеспечивает такого взаимодействия. Фенильное кольцо А (рис. 3а) гидрофобно взаимодействует с Gly796. Метоксигруппа взаимодействует с Leu792 и Pro794 в “шарнирной” области. Фенильное кольцо Б, располагающееся почти перпендикулярно к пиримидиновому циклу, выступает в качестве “линкера” для акриламидной группы, благоприятно располагая ее для взаимодействия вблизи Cys797. Данная информация послужила важнейшей отправной точкой для дальнейших разработок TKI третьего поколения.

В 2011 г. был получен 2,4-диаминопиримидиновый ингибитор роцилэтиниб (9) (рис. 3а). В тестах *in vitro* ингибитор показал 12–22-кратную селективность в отношении EGFR DM [28]. Роцилэтиниб эффективно ингибирал рост клеточных линий НМРЛ, несущих мутации EGFR DM и EGFR del19/T790M на уровне  $IC_{50} = 7$ –32 нМ, тогда как для клеточных линий, несущих EGFR WT,  $IC_{50}$  составляла 547–4275 нМ. В сравнении с афатинибом, роцилэтиниб показал более выраженный противоопухолевый эффект *in vivo* [29]. Способ связывания ингибитора (9) в целом аналогичен WZ4002 (рис. 3б) (PDB: 5XDK) [30]. Метоксильный заместитель ориентируется в сторону боковой цепи Leu792 и, вероятно, обуславливает селективность ингибитора (9) в отношении се-

мейства киназ EGFR, поскольку другие киназы (JAK, TEC) содержат более объемный остаток в данном положении. Трифторметильная группа гидрофобно взаимодействует с Met790.

В ходе фазы I/II клинических испытаний был выявлен частый побочный эффект роцилэтиниба в виде гипергликемии за счет ингибирования IGFR1 его основным метаболитом [31]. Позже выяснилось, что количества метаболитов в плазме крови у людей значительно выше, чем в до-клинических моделях, вследствие различий в механизмах метаболизма [32]. Вследствие этого, а также ввиду наличия более безопасных препаратов в 2016 г. исследования роцилэтиниба были прекращены [33].

Прорывной разработкой оказался осимертиниб, получивший в 2015 г. ускоренное одобрение FDA для применения в США [13], а в феврале 2016 г. – в Европейском Союзе. Разработка осимертиниба предшествовало получение соединения (10) (схема 1), которое ингибирало рост клеток H1975 с 220-кратной селективностью относительно клеток LoVo, несущих EGFR WT [34]. Далее был осуществлен перенос концевой аминогруппы на фенильное кольцо, что привело к получению соединения (11), которое продемонстрировало более высокую киназную активность и селективность, а также более низкую липофильность. Однако оно по-прежнему сильно ингибирало IGFR1 и имело высокое сродство к ионным каналам hERG. Дальнейшая структурная оптимизация была сосредоточена на заместителях в положениях 4 и 5 пиримидинового ядра, которые оказывают влияние на активность, селективность и физико-



**Схема 1.** Предшественники осимертиниба и его основные метаболиты.

химические свойства. Удаление 5-Cl и замена “головного” пиридазопиримидина на *N*-метилиндол привели к получению осимертиниба (12) с улучшенными фармакокинетическими характеристиками и сниженной аффинностью к hERG и IGFR1. Киназная ингибирующая активность осимертиниба *in vitro* составила  $IC_{50}^{EGFR\ DM} = 1\text{ нМ}$ ,  $IC_{50}^{EGFR\ WT} = 184\text{ нМ}$ . Было установлено, что соединение (12) в организме подвергается интенсивному метаболизму с участием цитохрома P450 с образованием основных метаболитов (13) и (14) (схема 1), обнаруживаемых в плазме крови в примерном соотношении 32 и 67% соответственно. Метаболит (13) демонстрирует сопоставимую с исходным соединением ингибирующую активность и селективность, тогда как соединение (14) обладает существенно меньшей избирательностью к EGFR DM и обуславливает большинство токсических эффектов осимертиниба [35]. Режим связывания соединения (12) с киназами EGFR T790M (PDB: 6JX0, 6JX4) и EGFR WT (PDB: 6JWL, 6JXT) был исследован и в целом соответствовал роцилтинибу и WZ4002 [36].

Заметим, что для ковалентных ингибиторов значения  $IC_{50}$  не строго характеристичны, поскольку сильно зависят от условий проведения испытания (особенно от времени инкубирования) [37–39]. Хотя были попытки сделать метод определения

IC<sub>50</sub> более универсальным для применения к необратимым ингибиторам (например, в работе [40]), сравнение с референсным препаратом остается основной мерой активности таких соединений.

Последовавший клинический успех осимертиниба и фактический его монополизм на рынке препаратов для лечения НМРЛ с мутацией T790M (НМРЛ<sup>T790M</sup>) вызвал резкий рост числа работ по получению его аналогов. Кроме того, он не был лишен побочных эффектов, таких как гипергликемия, сыпь, диарея, кардиотоксичность [41]. Разработанные новые ингибиторы EGFR третьего поколения можно условно разделить по общности структурного остова на аминопиrimидиновые, пирролопиrimидиновые, пуриновые, пиразолопиrimидиновые, тиофенопиrimидиновые, тиопиранопиrimидиновые, фуранопиrimидиновые, хиназолиновые, пиридопиrimидиновые и пиридинопиrimидиновые.

## 5. ИНГИБИТОРЫ EGFR DM С АМИНОПИРИМИДИНОВЫМ ОСТОВОМ

На основе структуры (15) (схема 2) была получена серия аналогов WZ4002 с метилтиольной группой в положении 5 пиримидинового цикла, установленной с целью усиления взаимодействия с мутантным Met790 и ограничением конфор-

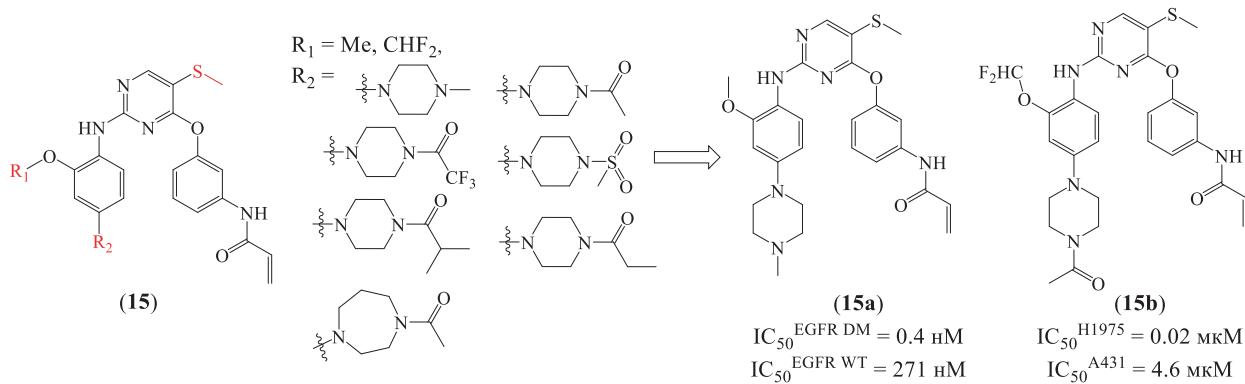


Схема 2. 5-Метилтио-аналоги WZ4002.

мационного вращения фенильного линкера [42]. По результатам киназных тестов *in vitro* ингибитор (15a) превзошел референсное соединение (12) по активности в 27 раз и селективности в 18 раз. В клеточных тестах лучшие результаты показал ингибитор (15b) с активностью в 2.5 раза, а селективностью в 13 раз превосходящие таковые для ингибитора (12).

Также была получена серия аналогов WZ4002 с мочевиной в качестве линкерной вставки и различными заместителями при гидрофильной части молекулы (16) (схема 3) [43]. Соединения продемонстрировали умеренное ингибиование киназ *in vitro*. Наиболее оптимальный баланс свойств показал соединение (16a) с активностью к EGFR DM, близкой к активности соединения (8), но пятикратно увеличенной селективностью. Отмечается, что для данного ряда соединений было выявлено нецелевое ингибиование киназы Src.

Были смоделированы и получены производные WZ4002 с тио- и сульфоксиалкильными линкерами в гидрофильной части молекулы (17) (схема 4) [44]. Ингибитор (17a) в киназном тесте *in vitro* показал активность, сравнимую с референсным соединением (9), тогда как в клеточном teste (17a) был в 4 раза более активен в отношении H1975, а по селективности в 9 раз превзошел соединение (9).

Для ряда полученных новых структурных аналогов роцилетиниба (9) (схема 5) было установлено, что значительные отклонения от исходной структуры (9) приводили к существенной потере целевой активности [45]. Дезактивирующее влияние также оказывали электронодонорные заместители при акриламидной группе. Наиболее активный ингибитор (18a) двукратно уступал роцилетинибу по активности в отношении EGFR DM.

В качестве перспективного таргетного препарата было получено производное роцилетиниба с радио-

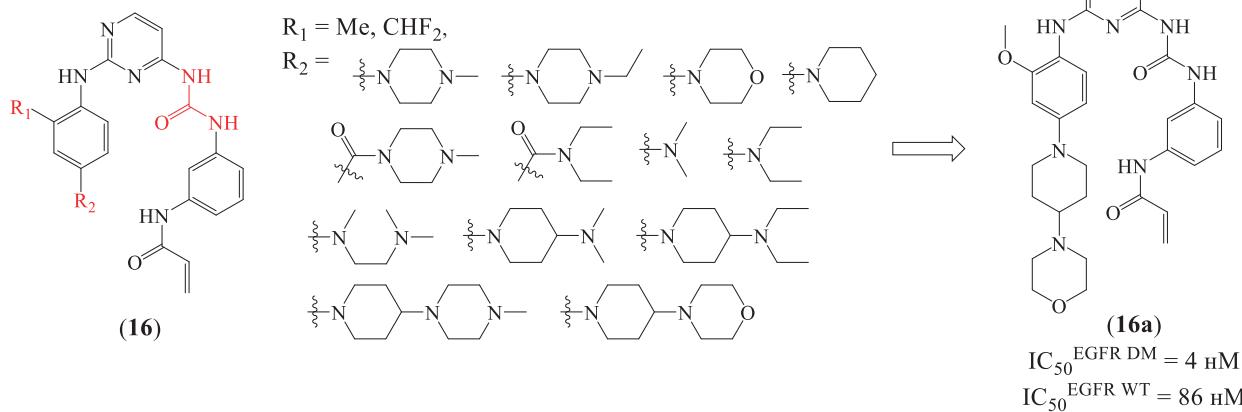


Схема 3. Аналоги WZ4002 с мочевиной в качестве линкерной вставки.

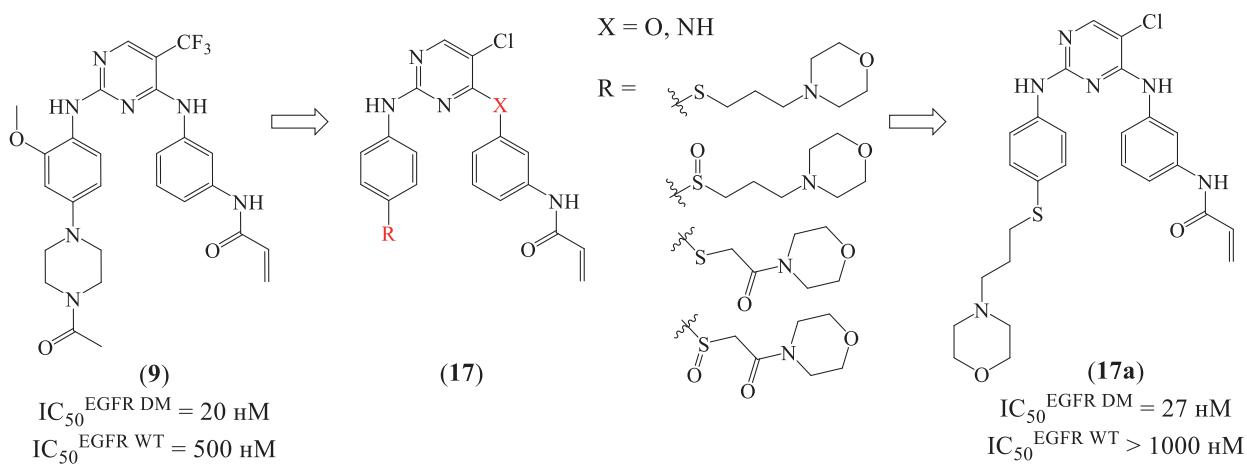


Схема 4. Аналоги роцилетиниба.

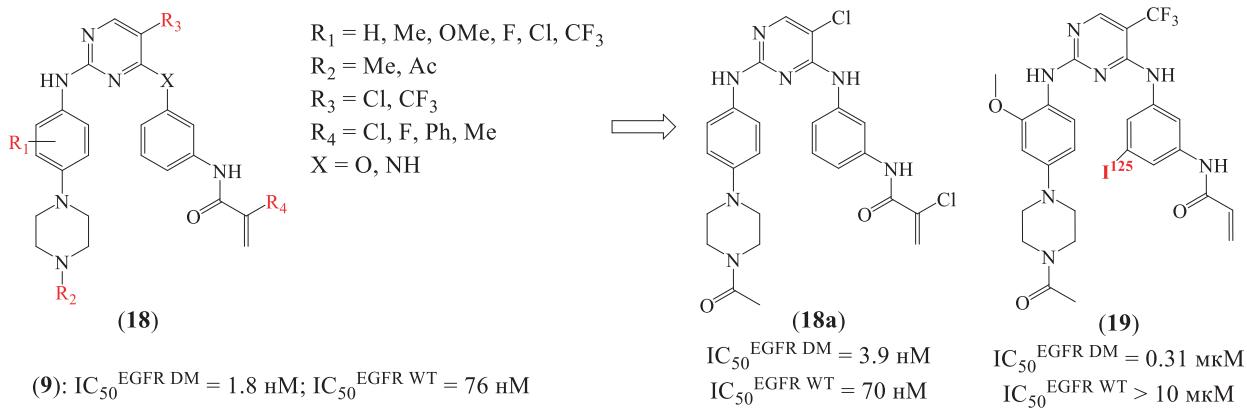


Схема 5. Аналоги роцилетиниба.

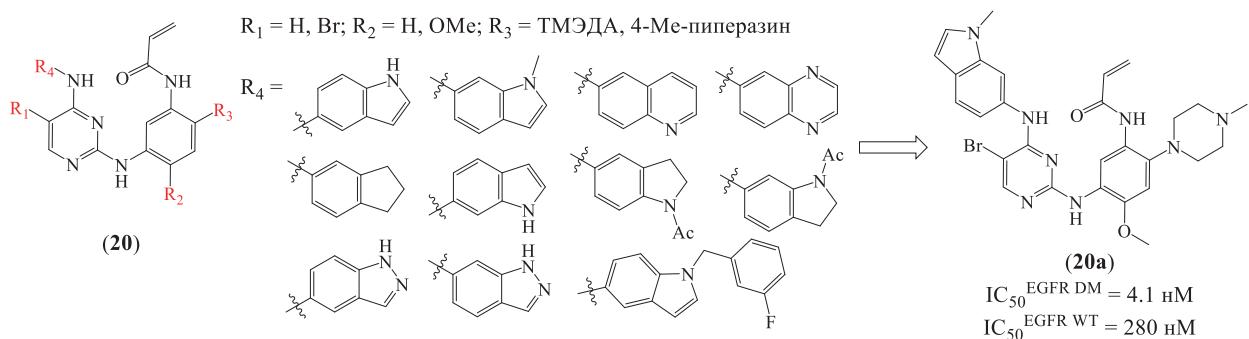
активным иодом<sup>125</sup> в положении 5 фенильного линкера – соединение (19) (схема 5) [46]. Хотя его ингибирующая активность *in vitro* была ниже, чем у соединения (9), селективность в отношении EGFR DM оставалась в пределах 10–30, что позволяло использовать его в качестве препарата, специфичного к двойной мутации. В тестировании *in vitro* на клетках H1975 и H441 (несущих EGFR WT) ингибитор (19) действительно показал 10-кратное преимущественное средство к клеткам H1975. Однако в испытаниях на животных не было зафиксировано накопления радиоактивного иода в трансплантиантной опухоли H1975 относительно нормальных тканей, предположительно, вследствие повышенной липофильности соединения (19).

На основе 2,4-диаминопirimидинового осно-  
ва структуры (20) (схема 6) была получена серия TKI EGFR DM, из которых 5-бром-производные были наиболее активны *in vitro*, предположительно, за счет дополнительного взаимо-

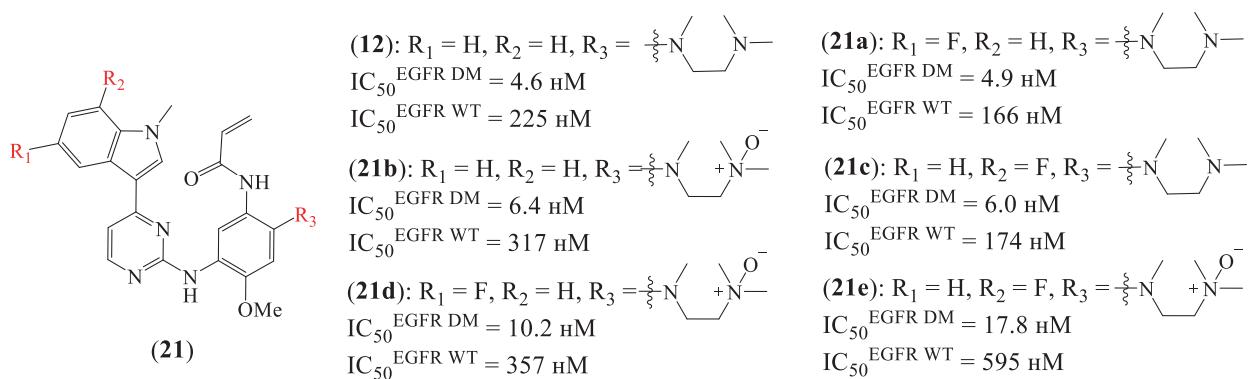
действия брома с Met790 [47]. Среди заместителей (R<sub>4</sub>) предпочтительными оказались индол, *N*-метилиндол и дигидроинден. Ингибитор (20a) показал высокую целевую активность и селективность на уровне соединения (12), а также выраженное противоопухолевое действие *in vivo* без выраженных токсических эффектов.

С целью защиты метильных групп соединения (12) от метаболического деметилирования были получены его *N*-оксидные и фторированные производные (схема 7) [48]. В киназных тестах *in vitro* ингибитор (21a) был наименее активен в отношении EGFR DM и сравнимым с референсным ингибитором (12). Самую высокую селективность *in vitro* и *in vivo* показало соединение (21b).

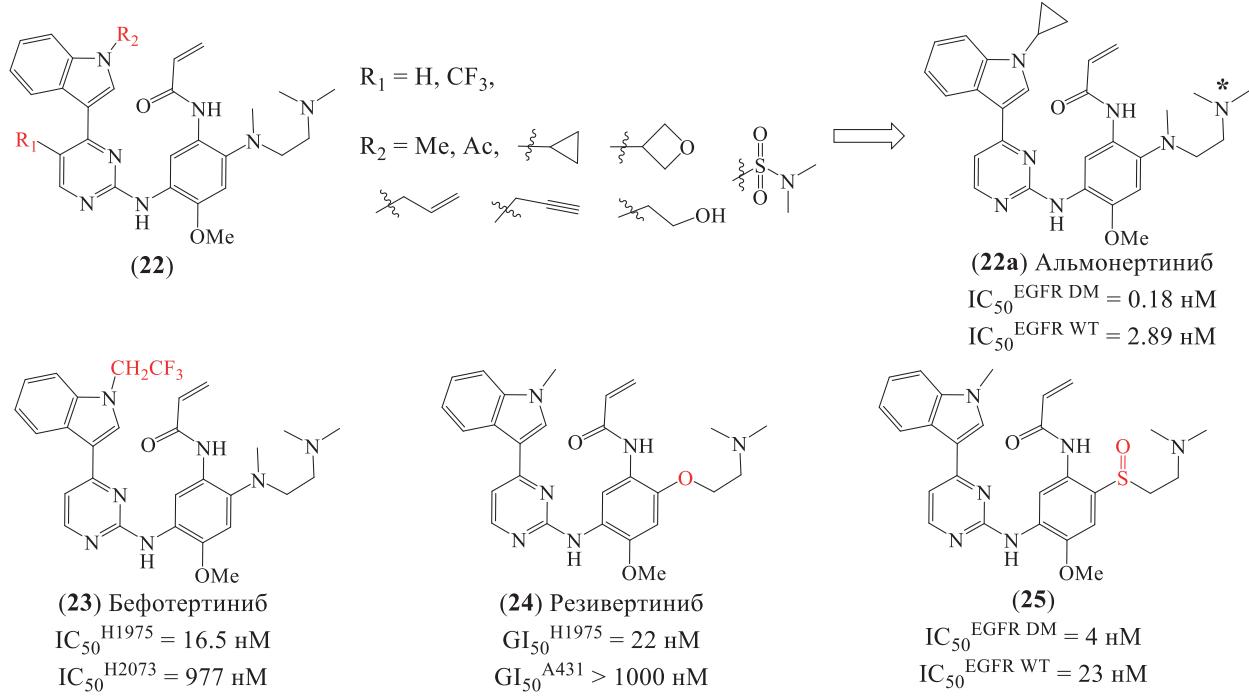
В ряду ингибиторов, полученных путем замены *N*-метильной группы (R<sub>2</sub>) на индольном фрагменте структуры (22) (схема 8), наиболее активным *in vitro* оказался *N*-циклогексипропильный ингибитор (22a), в 3 раза превзойдя осиметиниб



**Схема 6.** 2,4-Диаминопиримидиновые аналоги осимертиниба.



**Схема 7.** *N*-Оксидные и фторированные аналоги осимертиниба.



### Схема 8. Аналоги осимертиниба

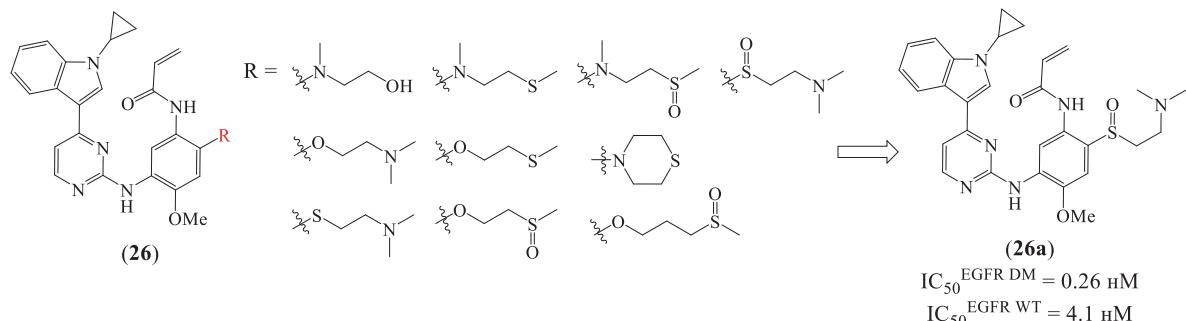
по активности и в 8 раз – по селективности [49]. Соединение (22а) продемонстрировало выраженную противоопухолевую активность *in vivo* и удовлетворительные параметры фармакокинетики. Был идентифицирован один метаболит, деметилированный по азоту (указан звездочкой в формуле соединения (22а)). В клеточных тестах соединение (22а) также было активным и ингибировало рост клеток Н1975 с  $IC_{50} = 2.44$  нМ и 208-кратной селективностью [50]. Ингибитор (22а) –альмонертиниб – прошел доклинические испытания, фазу II клинических исследований, и в 2020 г. был одобрен в качестве препарата для лечения НМРЛ<sup>T790M</sup> в КНР [51]. Альмонертиниб не вызывал некоторые характерные для осимертиниба побочные эффекты (гипергликемия, сыпь) и обладал более длительным периодом полувыведения 25 ч [52].

*N*-Трифторэтилиндольный аналог осимертиниба – бефотертиниб (**23**) (схема 8) – показал эффективность в доклинических исследованиях и приемлемый профиль безопасности в начальных фазах клинических исследований. По завершении в 2023 г. III фазы клинических исследований бефотертиниб получил одобрение в КНР для лечения метастатического НМРЛ<sup>T790M</sup> [53, 54]. Другой близкий аналог осимертиниба – резивертиниб (**24**)

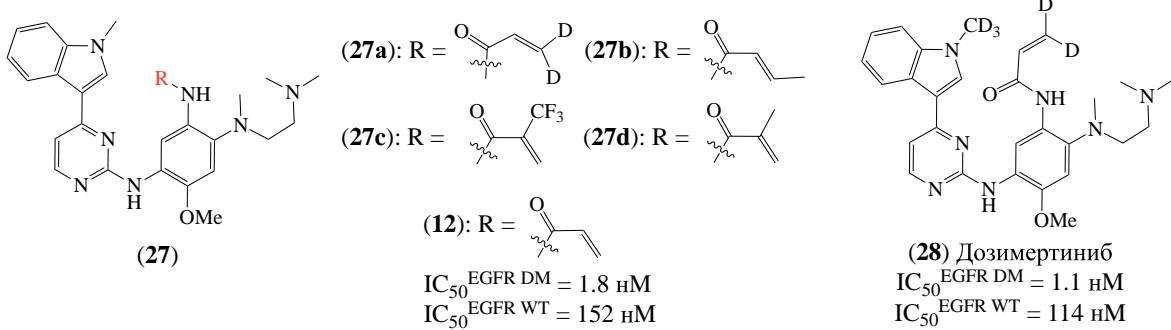
(схема 8) – продемонстрировал наномолярную активность и высокую селективность в отношении EGFR DM *in vitro* [55], был эффективен в до-клинических исследованиях и в настоящее время проходит III фазу клинических испытаний в КНР [56, 57].

Циклопропильная группа, показанная на примере альмонертиниба, как и сульфоксидная группа, довольно часто используется при разработке лекарств для модулирования различных свойств, в том числе метаболической стабильности [58]. Так, была получена серия циклопропил- и серо-содержащих аналогов ингибитора (12) на основе структуры (26) (схема 9) [59]. Удовлетворительную активность показали только те ингибиторы, которые содержали концевую диметиламинную группу. Соединение (26a) в тестах *in vitro* было в 13 раз более активным и в 2.5 раза более селективным по отношению к EGFR DM, чем референс (12). Эффективность *in vivo* была сопоставима. В сравнении с полученным ранее аналогом (25) (схема 8) [60], ингибитор (26a) имел больший период полувыведения – 2.5 ч.

Введение дейтерия в структуру лекарственных молекул – также известный метод модуляции их физико-химических и фармакологических свойств [61, 62]. Соединение (27а) (схема 10),



**Схема 9.** Циклопропильные аналоги осимертиниба.



**Схема 10.** Дозимертиниб и его предшественники.

полученное в результате замены водородов на дейтерий при  $\beta$ -углероде акриламидной группы, показало сниженную активность в сравнении с осимертинибом (12). Малоперспективными были и другие модификации акриламида (27b), (27c) и (27d) [63]. Однако соединение (28) (схема 10), дополнительно дейтерированное по *N*-метильной группе индола, уже ингибирировало *in vitro* киназу EGFR DM на уровне ингибитора (12), но было менее селективным. В клеточном же тесте соединение (28) было более активным и селективным, а в модели *in vivo* показало сравнимую с референсом эффективность. Ингибитор (28), или дозимертиниб, обнаруживал значительно меньшую концентрацию *N*-деметилированного по индолу метаболита AZ5104-D2 в плазме крови лабораторных животных, чем аналогичного метаболита AZ5104 в случае осимертиниба, что могло объяснить более низкую токсичность дозимертиниба *in vivo*. С 2020 г. проводятся клинические исследования дозимертиниба в КНР (CXHL2000060, CXHL2000061).

Из ряда аналогов осимертиниба на основе структуры (29) (схема 11) приемлемую целевую активность показали только соединения, содержащие ТМЭДА-боковую цепь ( $R_2$ ) [64]. Фторирование метоксигруппы ( $R_3$ ) слабо модулировало активность. Умеренно различались по активности аналоги, содержащие в положении ( $R_1$ ) бензоизоксазол, пирролопиридин и тиенопиразол. Лучшие результаты показало соединение (29a), уступая в 1.7 раз по активности, но превосходя в 2.5 раза по селективности референсный ингибитор (12). Два основных метаболита (29a), *N*-деметилированных по ТМЭДА, показали сниженную ингибирующую активность *in vitro* в сравнении с исходным соединением и ингибитором (12).

Изучение режима связывания осимертиниба с EGFR T790M (PDB: 3IKA) показало, что только один азот в пиримидиновом цикле используется для образования водородной связи с Met793, что было применено для получения новых ингибиторов на основе 4-аминопиримидина [65]. Кроме того, наличие свободного пространства в гидрофобной области сайта связывания (синяя окружность над формулой соединения (12) на схеме 12), с которым взаимодействует метилиндольный фрагмент, допускало его модификацию путем стерического расширения. Было обнаружено, что среди полученных соединений все 4-аминопиримидины показали резко сниженную активность *in vitro* в сравнении с 2-аминопиримидиновыми аналогами. Аналогично результатам, полученным в работах [64] и [66], умеренную и высокую активность продемонстрировали только ингибиторы, имеющие ТМЭДА-боковую цепь ( $R_4$ ). Влияние небольших заместителей  $R_1$  и  $R_2$  было различным, но в целом они умеренно снижали активность и повышали селективность. Только соединения с 5,6-дигидро-4Н-пирролохинолиновым фрагментом ( $R_3$ ) вместо метилиндола осимертиниба показали активность и селективность на уровне референса. Наиболее активный ингибитор (31a) (схема 12) был сопоставим по активности с соединением (12) *in vitro* и *in vivo*.

В исследовании другой серии ингибиторов, у которых метилиндольный фрагмент был заменен некоторыми трициклическими группами, было отмечено соединение (32), или оритиниб (схема 12), показавший  $IC_{50}^{H1975} = 2 \text{ нМ}$  и  $IC_{50}^{A431} = 414 \text{ нМ}$ , что выше в 2.3 раза по активности и в 3.3 раза по селективности в сравнении с соединением (12) [67]. Соединение (32) показало многообещающие результаты на этапе доклинических исследований. Была установлена его способность проникать

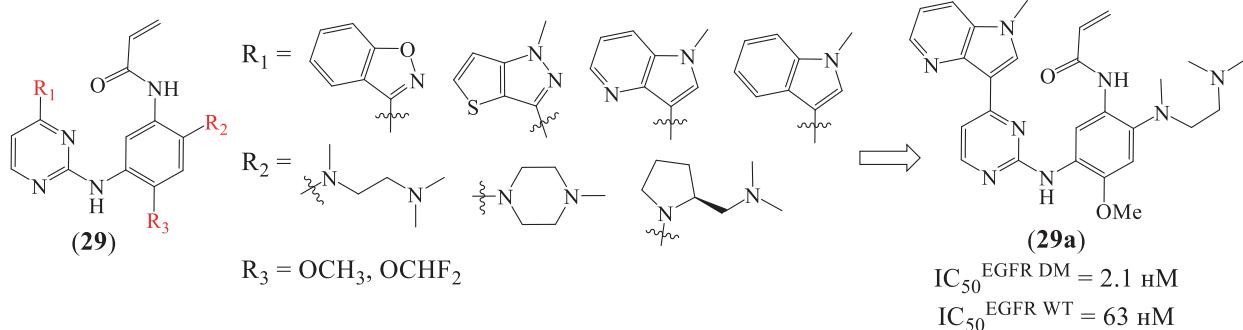


Схема 11. Аналоги осимертиниба.

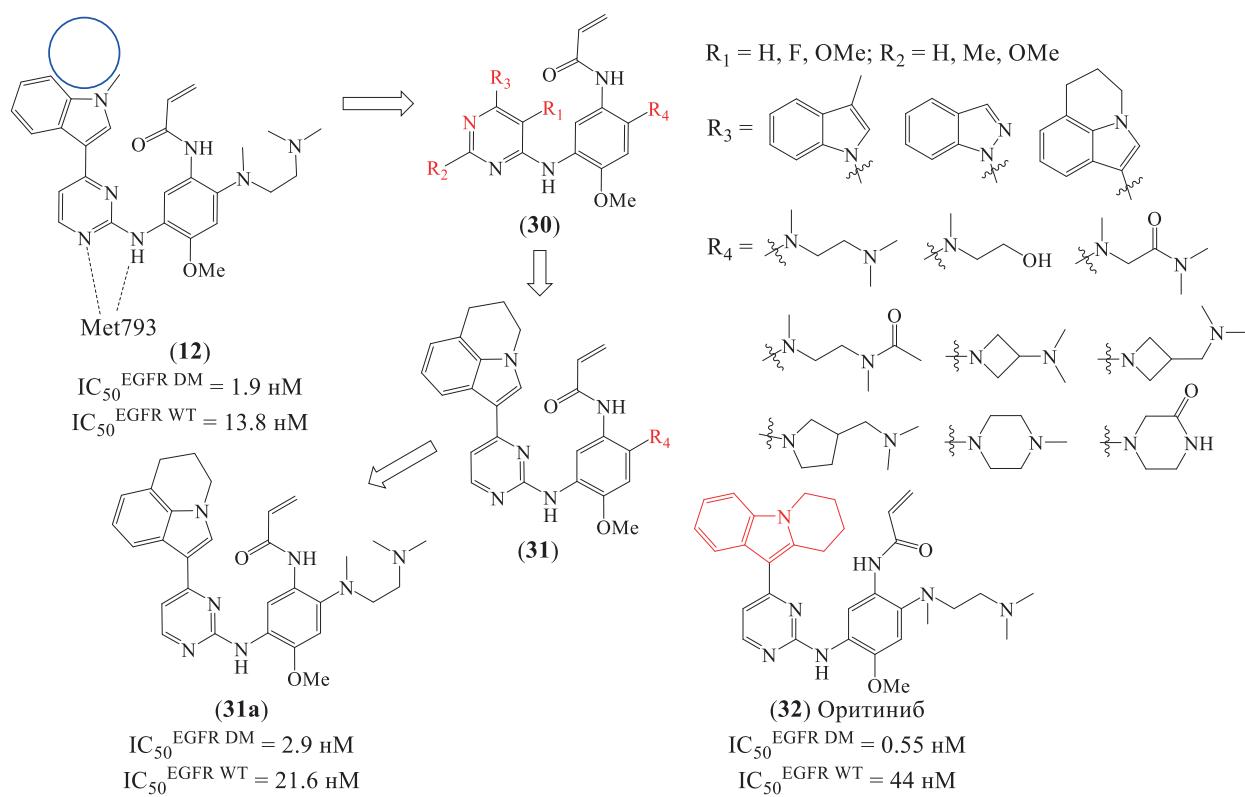


Схема 12. Аналоги осимертиниба.

через ГЭБ и проявлять меньше побочных эффектов *in vivo* в сравнении с соединением (12). Основной метаболит (32) слабо ингибиравал IGFR1 [68]. Оритиниб в настоящее время проходит III фазу клинических испытаний (NCT04239833) как препарат для лечения метастазированного в ЦНС НМРЛ<sup>T790M</sup> в КНР.

Ряды новых аналогов осимертиниба были получены заменой метилиндольного фрагмента на анилины, *ортого*-замещенные пиразолами или триазолами, с целью повышения селективности к EGFR DM за счет более сильного взаимодействия с Met790 (схема 13) [69]. Умеренную и высокую активность *in vitro* показали только ингибиторы, содержащие ТМЭДА-боковую цепь. Наиболее активный и селективный ингибитор (33а) превзошел в 3 раза по активности и в 4 раза по селективности референсный ингибитор (12). Дальнейшие исследования выявили перспективный ингибитор лимертиниб (34) (рис. 4). Он показал субнаномолярную киназную активность *in vitro* с 20-кратной селективностью [70]. Лимертиниб был эффективен *in vivo*, а также вызывал регрессию опухоли у больного НМРЛ с приобретенной резистентностью к ТКИ EGFR раннего поколения

[71]. В настоящее время ингибитор (34) проходит III фазу клинических испытаний (NCT04143607).

Пиридиновые ТКИ (35) и (36) (рис. 4) были разработаны на основе результатов молекулярного моделирования, которое показало, что данные молекулы надлежащим образом ориентируются в активном сайте EGFR DM с образованием бидентатной водородной связи с Met793 и ковалентной связи с Cys797 [72]. Однако в тестах *in vitro* ингибитор (35) был малоактивным, тогда как ингибитор (36) показал наномолярную активность с преимущественной селективностью к EGFR WT.

Также с применением методов *in silico* получена серия аналогов осимертиниба, содержащая замещенные пиразолы и триазолы [73]. Наиболее селективные *in vitro* соединения (37) и (38) (рис. 5) ингибиравали киназу EGFR DM на уровне соединения (12), при этом ингибитор (38) был в 5 раз более селективен, чем референс. Ингибиторы умеренно проникали через ГЭБ и были способны подавлять рост внутричерепных опухолевых систем H1975. Позднее была опубликована структура ингибитора (39), или лазертиниба (рис. 5), показавшего сопоставимую с соединением (12) ак-

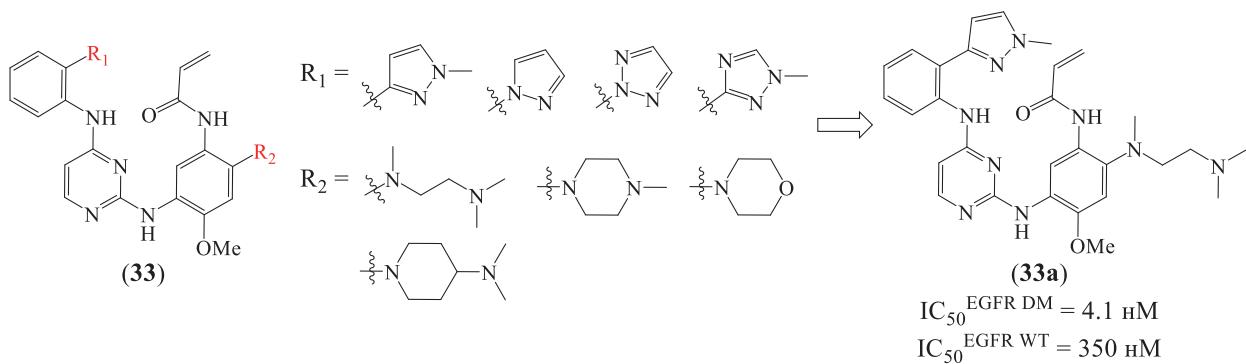


Схема 13. Пиразол- и триазол-содержащие 2,4-диаминопиридинины.

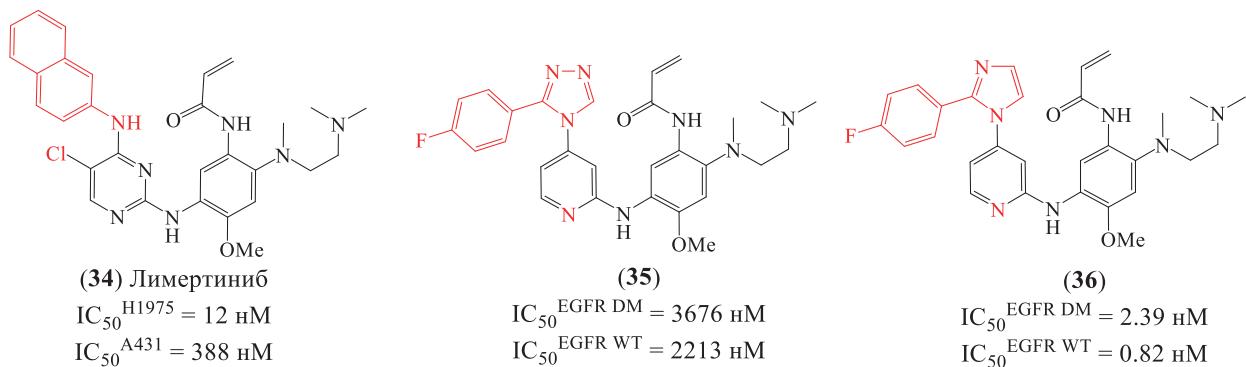


Рис. 4. Лимертиниб и пиридиновые аналоги осимертиниба.

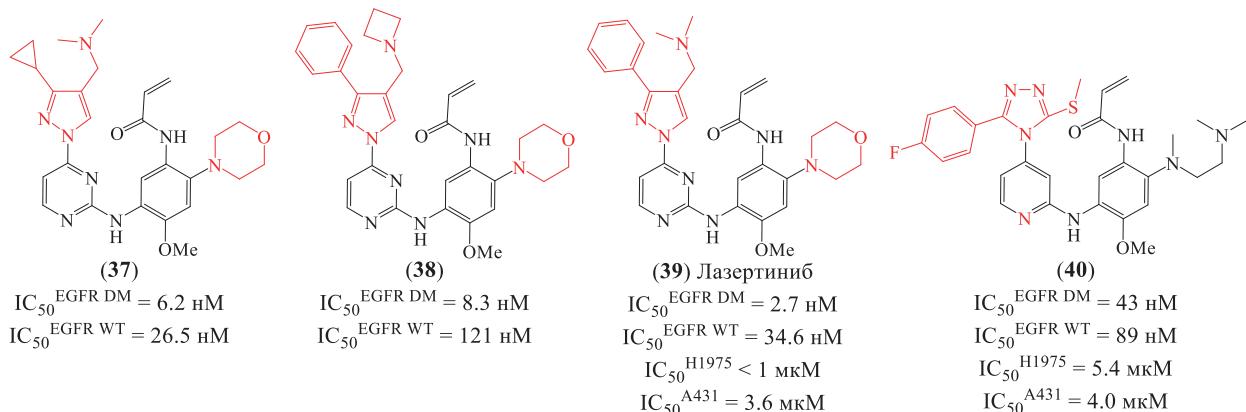


Рис. 5. Пиразол- и триазол-содержащие аналоги осимертиниба.

тивность *in vitro*, но более высокую селективность. Он был высокоэффективен *in vivo* и проникал через ГЭБ [74]. Лазертиниб (39) перешел в активную фазу клинических испытаний и по завершении II фазы в 2021 г. получил одобрение для лечения метастазированного НМРЛ<sup>T790M</sup> в Южной Корее [75].

По результатам молекулярного моделирования некоторые 2-амино-4-(1,2,4-триазол)-пиридины хорошо воспроизводили конфигурацию ингиби-

тора (39) при стыковке к EGFR DM, проведен синтез этих соединений [76, 77]. Однако по результатам тестов *in vitro* все соединения оказались малоактивными и неселективными. Только ингибитор (40) (рис. 5) показал 2-кратную селективность в отношении EGFR DM, что значительно уступало референсным (12) и (39).

Были исследованы некоторые аминопиразоловые фрагменты ( $R_1$ ) для структуры (41) (схема 14) [78]. Все они показали сниженную активность в

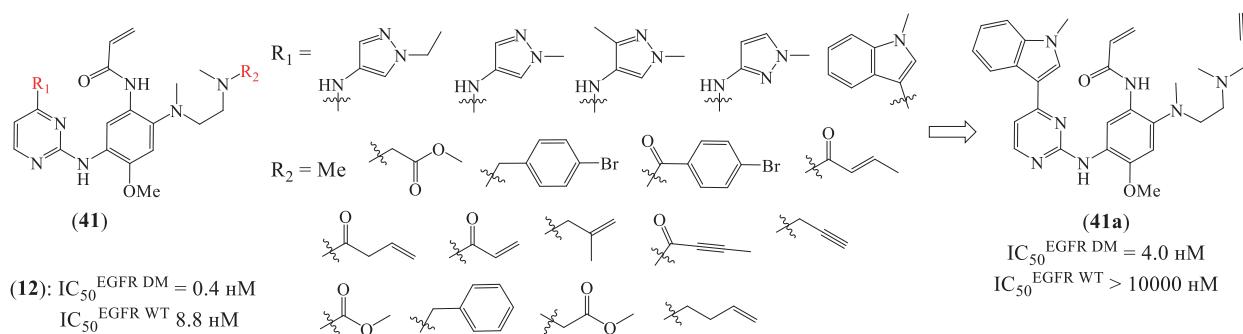


Схема 14. Модификации “головной” и аминной частей осимертиниба.

сравнении с аналогами, содержащими *N*-метилиндол. Ряд перспективных соединений был получен в результате модификации ТМЭДА боковой цепи ( $R_2$ ). Из них соединение (41a), уступая по активности ингибитору (12), было существенно более селективным. Отмечается, что установленная в тестах *in vitro* селективность коррелировала с теоретически рассчитанной энергией взаимодействия между аминной боковой цепью и Asp800 или Glu804 посредством солевого мостика.

Другой путь разработки новых аналогов осимертиниба был реализован заменой фенильного линкера на пиридиновый в структуре соединения (42) (схема 15) [79]. Малоактивными оказались ингибиторы с пиридиновыми и пиразо-

ловыми заместителями  $R_1$ , а также те, что имели комбинацию заместителей:  $R_1$  = любой фторированный метилиндол,  $R_2$  = хлор,  $R_3$  = изопропил. Наиболее активное и селективное соединение (42a) – фурмонартиниб (ранее алфлутиниб) – превзошло референсный ингибитор (12) *in vitro* и *in vivo*. Обобщенный профиль безопасности соединения (42a) был аналогичен таковому для соединения (12). По завершении доклинических исследований и II фазы клинических испытаний фурмонартиниб получил в 2021 г. одобрение в КНР для лечения метастатического НМРЛГ790М [80, 81].

Изостерическая замена *N*-метилиндолольного фрагмента в структуре (12) на тетрагидротиено-пиридиновый привела к получению новой серии ингибиторов EGFR DM (схема 16) [82].

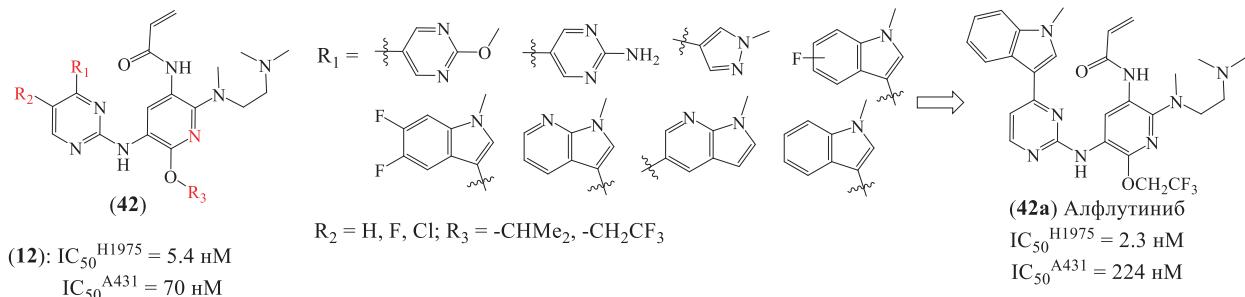


Схема 15. Аналоги осимертиниба с пиридиновым линкером.

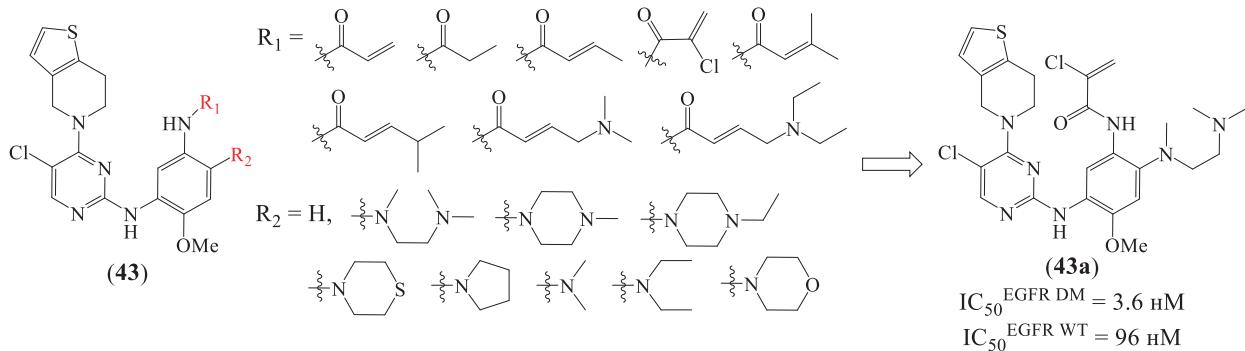


Схема 16. Тетрагидротиено-пиридиновые аналоги осимертиниба.

Тестирование *in vitro* показало, что наименее активными были наиболее гидрофобные соединения с тиоморфолином, а также ингибиторы, не содержащие аминной боковой цепи. Алкильные заместители при акриламиде снижали целевую активность. Ингибитор (43а) показал сопоставимую с соединением (12) целевую активность и увеличенную в 3 раза селективность.

Было исследовано влияние на активность некоторых электронодонорных и электроноакцепторных заместителей при акриламидной “боеголовке” ( $R_1$ ), а также в пиридиновом ( $R_2$ ,  $R_3$ ) и индольном ( $R_4$ ) фрагментах структуры (44) (схема 17) [83]. Показано, что введение электроноакцепторных заместителей в акриламидную группу в целом повышало активность ингибиторов, но снижало селективность; электронодонорные заместители в целом снижали ингибирующую активность. Среди модификаций акриламида предпочтение было отдано гексенамидной группе в силу наиболее высокого достигнутого значения селективности. Цианогруппа в положении 5 и ме-

тильная группа в положении 4 пиридинового цикла, предназначенные для дополнительного взаимодействия ингибитора с Met790, обусловили умеренное снижение активности, но повышение селективности ингибиторов. Гексенамидная группа в комбинации с 4-метилпиридиновым основом в структуре соединения (44а) позволили повысить селективность в отношении EGFR DM в 95 раз при сохранении целевой активности на уровне референса (12). Все соединения со фторированным индолом показали сниженную активность.

Поскольку алленамиды способны избирательно реагировать с остатком цистеина в пептидах [84], были получены серии аналогов осимертиниба с алленамидной “боеголовкой” на основе структур (45) и (46) (схема 18) [85]. В тестах *in vitro* была установлена высокая активность алленамидных ингибиторов в отношении как EGFR DM, так и EGFR WT. Из данных исследования кинетики следовало, что ковалентная реактивность алленамидной группы на порядок превосходит реак-

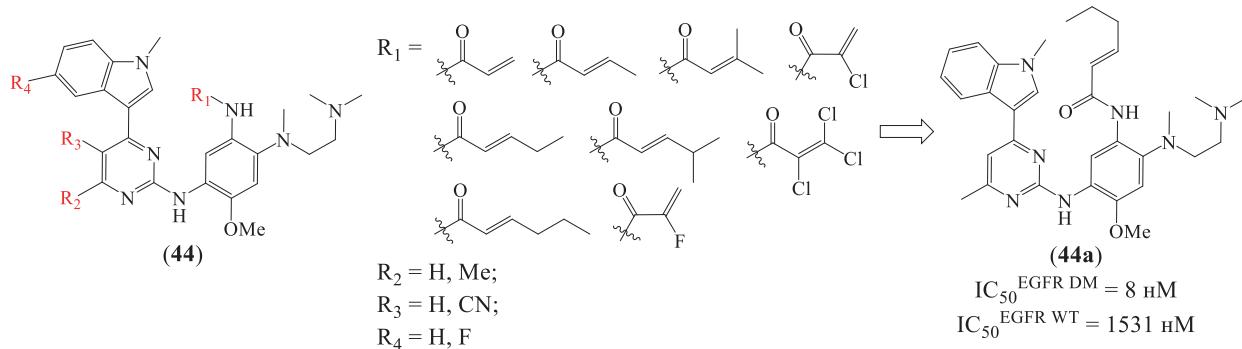


Схема 17. Модификации акриламида и пиридинового остова.

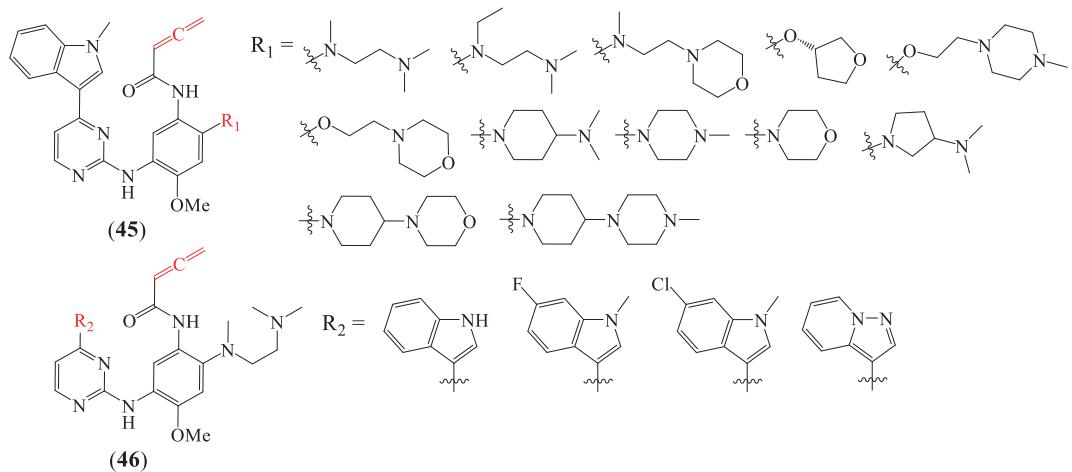


Схема 18. Алленамидные аналоги осимертиниба.

тивность акриламида. И это, по-видимому, обуславливает низкую стабильность и пероральную биодоступность таких соединений, а также неприемлемые параметры фармакокинетики, что делает их малоперспективными.

Стоит подчеркнуть, что выбор оптимального по реакционной способности акцептора Михаэля – важный этап разработки ковалентных ингибиторов, чему посвящено множество работ. Обобщив и систематизировав накопленный к 2023 г. опыт создания ковалентных ингибиторов, Zhao и Bourne классифицировали известные “боеголовки” по предпочтительности применения к различным семействам киназ. Из приведенных схем следует, что в отношении EGFR предпочтителен выбор акриламидной группы [86].

В некоторых случаях возможна разработка ингибиторов с одновременным действием на две мишени вследствие схожести строения сайтов связывания данных киназ, например, EGFR DM и ALK. Было установлено, что аминопиrimидиновое ядро ингибиторов EGFR и ALK образует идентичные водородные связи с шарнирными Met793 и Met1199 соответственно. Однако для ингибиторов EGFR DM важным является образование ковалентной связи между акцептором Михаэля и Cys797, тогда как для ингибиторов ALK ключевой выступает водородная связь между изопропилсульфоновой группой и Lys1150 [87–89]. Были получены серии таких ингибиторов, наиболее активные из них показаны на рис. 6.

При разработке 2,4-диаминопиrimидиновых ингибиторов двойного действия EGFR DM/BTK было получено соединение (50) (рис. 6), показавшее многообещающие результаты в доклинических исследованиях. Сунвозертиниб (50) по завер-

шении II фазы клинических испытаний в 2023 г. был одобрен в КНР для лечения метастатического НМРЛ<sup>T790M</sup> [90, 91].

Информация по упомянутым ингибиторам с аминопиrimидиновым остовом сведена в табл. 1.

## 6. ИНГИБИТОРЫ С ПИРРОЛОПИРИМИДИНОВЫМ ОСТОВОМ

Согласно данным молекулярного моделирования, конденсированные с пиридином циклы могут обуславливать дополнительные полезные взаимодействия в активном сайте EGFR DM. Таким образом, были разработаны новые структурные остовы для TKI третьего поколения. Так, при скрининге пирролопиридиновых TKI многообещающие результаты показал ингибитор PF-06459988 (51) (рис. 7), который в клеточных тестах *in vitro* ингибирал рост клеток H1975 на уровне осимертиниба (12), а по селективности превзошел его в 40 раз [92]. PF-06459988 проходил клинические испытания как препарат для лечения НМРЛ<sup>T790M</sup> (NCT02297425), но исследования были досрочно завершены в 2018 г. на II фазе.

В 2014 г. был разработан пирролопиридиновый ингибитор (52) (рис. 7), известный как авитиниб – первый собственный ингибитор EGFR третьего поколения в КНР [93]. Соединение (52) ингибирало киназу EGFR DM с  $IC_{50} = 0.18$  нМ и 43-кратной селективностью, а в клеточных тестах показало  $IC_{50}^{H1975} = 7.3$  нМ и 43-кратную селективность. Авитиниб проявил мощную противоопухолевую эффективность *in vivo* без признаков потери массы тела у лабораторных животных в качестве меры токсичности [94]. Клинические исследования авитиниба продолжаются (NCT03856697, NCT03058094, NCT05361915 и др.).

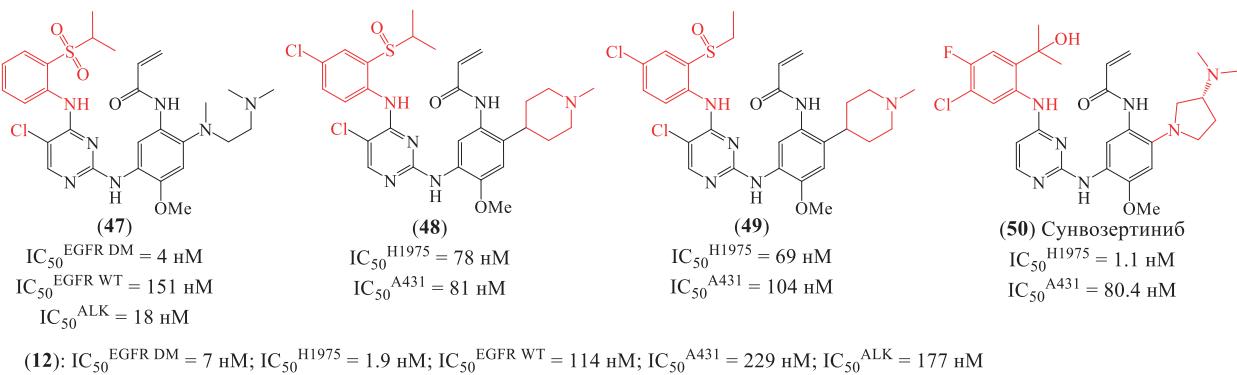


Рис. 6. Ингибиторы двойного действия EGFR DM/ALK и EGFR DM/BTK.

**Таблица 1.** Сводная информация по ингибиторам EGFR DM с аминопиrimидиновым остатком

Ингибитор	$IC_{50}$ EGFR DM, нМ	Селективность	Метод исследования	Ссылка
(9)	0.5	12	Киназное профилирование, панель Reaction Biology (США)	[28]
(12)	1.0	184	Киназное профилирование, панель EMD Kinase Profiler	[35]
(15a)	0.4	677	Иммуноферментный анализ (ELISA), инкубация 1 ч	[42]
(18a)	3,9	18	Гомогенная флуоресценция с временным разрешением (HTRF), комплект Cisbio (США), инкубация 0.5 ч	[45]
(20a)	4.1	68	ELISA	[47]
(21b)	6.4	50	Киназное профилирование, панель Z'-LYTE (Invitrogen, США)	[48]
(22a)	0.18	16	Гомогенная флуоресценция с временным разрешением (HTRF), инкубация 30 мин	[49]
(23)	16.5 (H1975)	59	Люминесцентный анализ жизнеспособности клеток, комплект Cell Titer-Glo, инкубация 72 ч	[53]
(24)	22 (H1975)	>45	Люминесцентный анализ жизнеспособности клеток с использованием резазурина, инкубирование 72 ч	[55]
(26a)	0.26	16	Резонансный перенос энергии флуоресценции (FRET), комплект Z'-Lyte (Thermo, США)	[59]
(28)	1.1	103	ELISA	[63]
(29a)	2.1	30	Комплекты для анализа активности киназ (Eurofins, Carna, Германия)	[64]
(32)	0.55	80	Комплекты для анализа активности киназ (Eurofins, Carna, Германия)	[67]
(33a)	4.1	85	ELISA	[69]
(34)	0.3	20	ELISA	[70]
(39)	2.7	13	Резонансный перенос энергии флуоресценции Lance Ultra с временным разрешением (TR-FRET), инкубация 1 ч	[74]
(41a)	4.0	>2500	HTRF, комплект KinEASE-TK (Cisbio, США), инкубация 40 мин	[78]
(42a)	2.3 (H1975)	97	Люминесцентный анализ жизнеспособности клеток с использованием сульфородамина B, инкубация 72 ч	[79]
(43a)	3.6	27	ELISA	[82]
(44a)	8	191	ELISA	[83]
(50)	1.1	73	Комплект Multi-Spot (Meso Scale, США), инкубация 4 ч	[90]

На основе структуры авитиниба были получены серии новых ингибиторов EGFR DM, из которых соединение (53) (рис. 7) показало наиболее высокую активность и селективность *in vitro*, сопоставимую с референсным ингибитором (52) [95]. В результате исследований влияния заместителей в положениях 3 и 4 пирролопирамидинового остатка было получено соединение (54) (рис. 7) с субнаномолярным значением  $IC_{50}$  и 33-кратной селективностью [96, 97]. Хотя в клеточных тестах порядок значений  $IC_{50}$  был иной,

высокая селективность сохранялась. В кинетических тестах было установлено, что данный ряд ингибиторов обладает высокой аффинностью к EGFR DM и низкой степенью зависимости от образования ковалентной связи для достижения эффективного ингибирования, что может быть использовано в случае третичной мутации L858R/T790M/C797S, являющейся одной из причин резистентности к ингибиторам EGFR третьего поколения [98]. Сообщается, что в случае замены пирролопирамидинового ос-

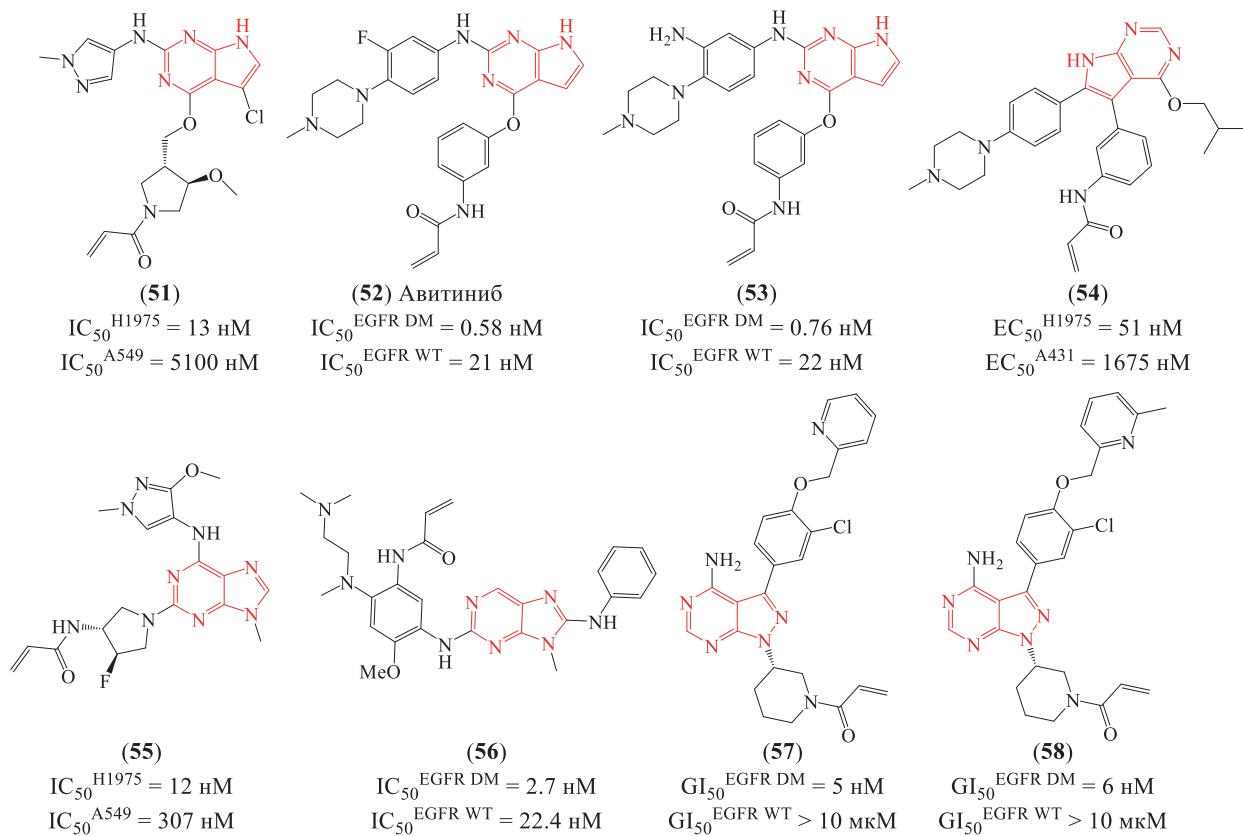


Рис. 7. Пиррол-, пиразол-пиrimидиновые и пуриновые ингибиторы EGFR DM.

това на пирролопиридиновый происходит значительное снижение целевой активности и селективности [99, 100].

## 7. ИНГИБИТОРЫ С ПУРИНОВЫМ И ПИРАЗОЛОПИРИМИДИНОВЫМ ОСТОВАМИ

Пуриновый ингибитор (55), известный как мавелертиниб (или PF-06747775) (рис. 7), был получен модификацией соединения (51) [101]. В доклинических исследованиях мавелертиниб показал наномолярную активность и 26-кратную селективность в отношении EGFR DM, а также высокую эффективность *in vivo*, пероральную доступность ~80% и приемлемый профиль безопасности. Разработка мавелертиниба была прекращена на II фазе клинических испытаний в 2020 г. (NCT02349633).

Тестирование *in vitro* серий пуриновых TKI EGFR DM выявило перспективное соединение (56) (рис. 7), сопоставимое по активности и селективности с референсным соединением (12) [102]. На основе структуры известного пуринового

ингибитора BTK ибрутиниба были получены ингибиторы EGFR DM (57) и (58) (рис. 7), которые дозозависимо вызывали гибель клеток H1975 при наномолярных концентрациях с 500-кратной селективностью, были эффективны *in vivo*, а также слабо ингибировали INSR и IGF1R [103, 104].

## 8. ИНГИБИТОРЫ С ТИОФЕНО- И ТИОПИРАНОПИРИМИДИНОВЫМИ ОСТОВАМИ

Разработка тиофенопириимидинового ингибитора EGFR DM олмутиниба (59) (рис. 8) началась в 2013 г. Он ингибировал *in vitro* киназу EGFR DM с  $IC_{50} = 10 \text{ нМ}$  и селективностью 222 [105]. В долгосрочных моделях *in vivo* олмутиниб продемонстрировал устойчивый противоопухолевый эффект [106]. По завершении фазы I/II клинических испытаний в 2016 г. олмутиниб получил первое одобрение в Южной Корее как препарат для второлинейной терапии НМРЛ<sup>T790M</sup>. Однако в 2021 г. клинические испытания были прекращены на II фазе из-за выявленных проблем с безопасностью [107].

На основе олмутиниба (59) были получены ряды новых ТКИ EGFR DM, из которых ингибитор (60) был наиболее активен *in vitro* и сопоставим с референсом (59) [108]. Исследования *in silico* показали перспективность стерического расширения тиофенопиримидинового остава до тиопиранопиримидинового за счет дополнительного связывания в активном сайте киназы [109]. Однако тестирование *in vitro* показало, что в целом тиопиранопиримидиновые ингибиторы, например, соединение (61) (рис. 8), были менее активны, чем их тиофенопиримидиновые аналоги. В ряду сульфоновых производных соединение (62) (рис. 8) уступало по активности, но в 60 раз превосходило по селективности референсный ингибитор (12) [110].

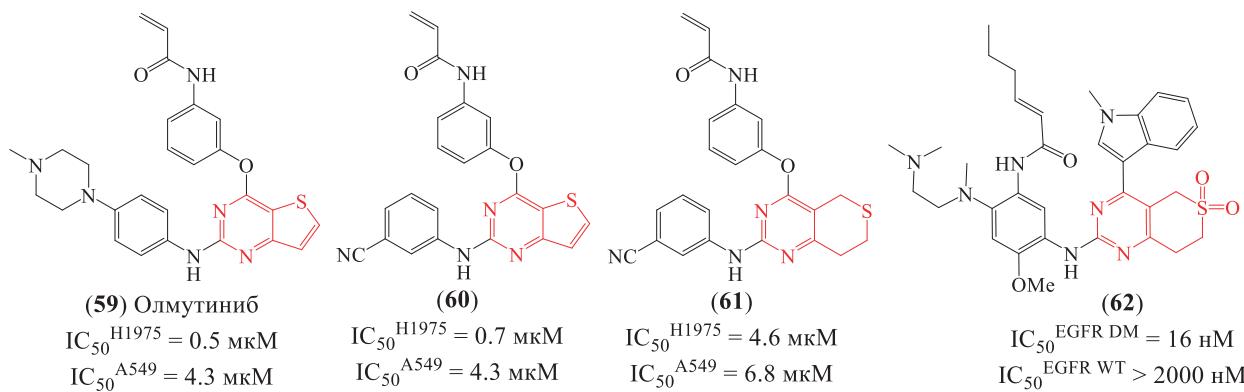


Рис. 8. Тиофено- и тиопиранопиримидиновые ингибиторы EGFR DM.

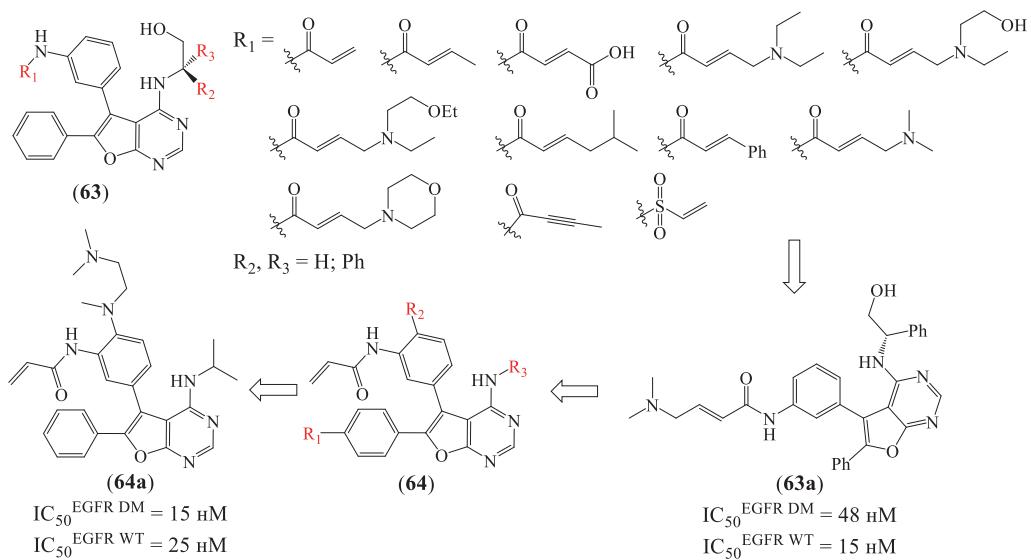


Схема 19. Фуранопиримидиновые ингибиторы EGFR DM.

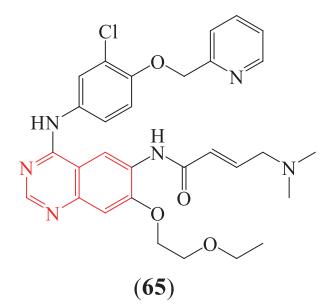
DBPR112) участвовал в клинических испытаниях (NCT03246854), которые в 2018 г. были прекращены на I фазе.

На следующем этапе была проведена оптимизация структуры соединения (64) (схема 19) путем подбора оптимальных алкильных заместителей R<sub>1</sub> и R<sub>3</sub>, а также солюбилизирующей группы R<sub>2</sub> методами *in silico*. Соединение (64a) показало наилучший баланс характеристик, включая 1.7-кратную киназную селективность *in vitro*, эффективное подавление роста опухоли H1975 *in vivo*, приемлемые параметры фармакокинетики и пероральную доступность 27% [114]. Доклинические исследования соединения (64a) продолжаются.

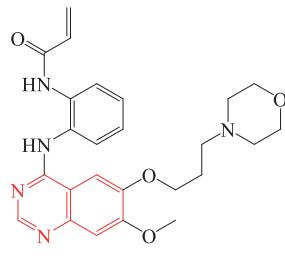
## 10. ИНГИБИТОРЫ С ХИНАЗОЛИНОВЫМ, ПИРИДО- И ПИРИДОПИРИМИДИНОВЫМИ ОСТОВАМИ

Несмотря на то, что хиназолиновый остаток характерен для ингибиторов EGFR первого и второго поколений, он также используется в разработке TKI третьего поколения [115, 116]. Ингибитор (65) (рис. 9) показал 4.7-кратную селективность *in vitro* в отношении клеток H1975

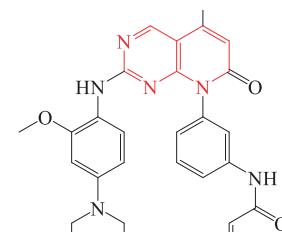
и был эффективен *in vivo* на уровне референса (12) [117]. Соединение (66) (рис. 9) ингибировало киназу EGFR DM с IC<sub>50</sub> = 4.3 нМ и 24-кратной селективностью, сопоставимой с референсным соединением (9) [118]. Однако в клеточных тестах соединение (66) показало уже микромолярную активность с 1.5-кратной селективностью, значительно уступая референсу. Пиридинопириимидиновый ингибитор (67) (рис. 9) был наиболее активным *in vitro* в своей серии TKI, превзойдя референсный осимертиниб по активности в 8.7 раз, а по селективности – в 10 раз [119]. Полученные данные PCA комплекса соединения (67) с EGFR<sup>T790M</sup> (PDB: 5GMP) позволили смоделировать и получить новую серию ингибиторов, среди которых наилучший баланс свойств, включая умеренные параметры фармакокинетики и пероральную биодоступность 16%, показал ингибитор (68) (рис. 9), сопоставимый *in vitro* с референсным соединением (12) [120]. Ингибитор (69) (рис. 9) в клеточных тестах был сопоставим с соединением (12), имея IC<sub>50</sub><sup>H1975</sup> = 45 нМ. Его киназная активность и селективность в 4.7 и 5 раз соответственно превосходили таковые для осимертиниба. В доклинических испытаниях



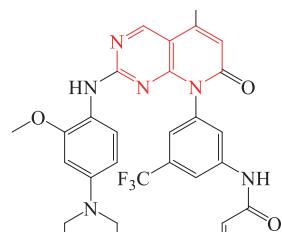
(65)  
IC<sub>50</sub><sup>H1975</sup> = 60.6 нМ  
IC<sub>50</sub><sup>A431</sup> = 288 нМ



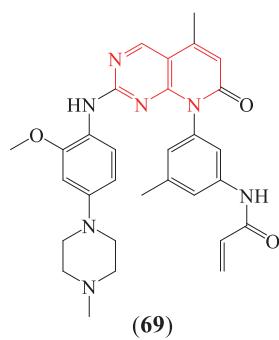
(66)  
IC<sub>50</sub><sup>H1975</sup> = 8.7 мкМ  
IC<sub>50</sub><sup>A431</sup> = 13.4 мкМ



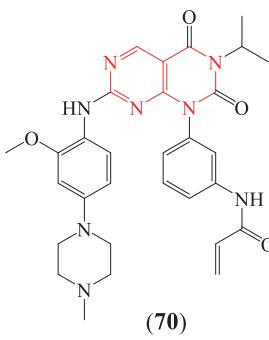
(67)  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR DM</sup> = 0.8 нМ  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR WT</sup> = 240 нМ



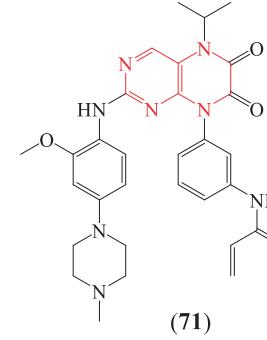
(68)  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR DM</sup> = 2.0 нМ  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR WT</sup> = 182 нМ



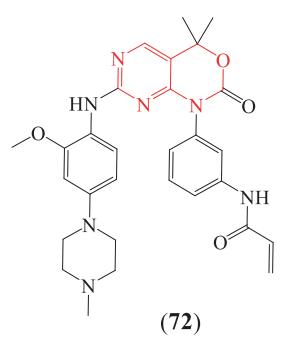
(69)  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR DM</sup> = 2.0 нМ  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR WT</sup> = 185 нМ



(70)  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR DM</sup> = 0.3 нМ  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR WT</sup> = 79 нМ



(71)  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR DM</sup> = 0.3 нМ  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR WT</sup> = 2.0 нМ



(72)  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR DM</sup> = 4.5 нМ  
IC<sub>50</sub><sup>EGFR WT</sup> = 156 нМ

Рис. 9. Ингибиторы EGFR DM с хиназолиновыми и модифицированными хиназолиновыми остатками.

соединения (69) были установлены противоопухолевая эффективность *in vivo*, слабое ингиби-  
рование FGFR1 и пероральная биодоступность 25% [121]. Модификацией хиназолинового остава был получен ингибитор (70) (рис. 9), который по киназной активности был в 67 раз более активен, чем референсный ингибитор (9), и в 19 раз более селективен. Селективность соединения (70) на клетках была 36-кратной с  $IC_{50}^{H1975} = 44$  нМ и с  $IC_{50}^{A431} = 1564$  нМ, что было сопоставимо с соединением (9) [122]. Последующая структурная оптимизация привела к получению серии птеридиндионовых ТКИ, из которых наиболее активный ингибитор (71) (рис. 9) в киназных тестах уступал по селективности соединению (9), тогда как в клеточных тестах превосходил референс по активности в 1.7 раз, а по селективности – в 20 раз [123]. Ингибитор (72) (рис. 9), полученный дальнейшей модификацией соединения (71), был сопоставим с роциллетинибом в киназных тестах, а в клеточных тестах уступал ему в 2 раза по активности и селективности [124].

Были получены и другие ряды ТКИ EGFR DM с хиназолиновым и модифицированными хиназолиновыми оставами, однако существенных преимуществ над существующими ингибиторами достигнуто не было [125–128].

## 11. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то что осимертиниб (12) стал эталоном лечения лекарственно-устойчивого НМРЛ, он не лишен недостатков, проявляющихся в ингибировании им и его метаболитами других киназ, влекущих за собой ряд побочных дозозависимых эффектов. Развитие методов *in silico*, а также накопленный опыт создания ТКИ EGFR DM на основе WZ4002 (8), роциллетиниба (9) и в большей степени осимертиниба (12) позволили выявить основные структурные факторы, ответственные за целевую активность и селективность. Было показано, что значительные отклонения от структурного шаблона соединения (12) приводят к критической утрате активности и селективности. Наиболее перспективными направлениями структурной модификации соединения (12) оказались *N*-метилиндолный фрагмент и *N,N,N'*-триметилэтилендиаминовая боковая группа. Модификация *N*-метилиндола ограничена стерическими факторами, поскольку группа ориенти-

руется внутрь активного сайта киназы. Боковая группа ориентируется в область растворителя и балансирует физико-химические свойства молекулы, что задает свой коридор для модификации. В настоящем обзоре приведен ряд работ, в которых данные направления были успешно реализованы с получением клинически одобренных ингибиторов EGFR DM. Также на основе представленных данных можно заключить, что несмотря на высокую степень исследованности и запатентованности пространства структурных аналогов (12), возможность разработки новых эффективных препаратов для лечения лекарственно-устойчивого НМРЛ по-прежнему остается, что сохраняет перспективы для преодоления монополии осимертиниба в данном сегменте национального здравоохранения.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований, выполненных авторами данной работы, с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследования.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы внесли равный вклад в написание этой статьи.

## ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году / Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. М: МНИОИ им. П.А. Герцена, филиал ФГБУ “НМИЦ радиологии” МЗ РФ, 2022. С. 28.
2. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. М: МНИОИ им. П.А. Герцена, филиал ФГБУ “НМИЦ радиологии” МЗ РФ, 2022. С. 5.
3. Chunhacha P., Chanvorachote P. // Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol. 2012. V. 4. P. 149–155. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23071872/>

4. Stamos J., Sliwkowski M., Eigenbrot C. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 46265–46272. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207135200>
5. Amelia T. // *Molecules*. 2022. V. 27. P. 819. <https://doi.org/10.3390/molecules27030819>
6. Yun C.-H., Boggon T., Li Y., Woo M., Greulich H., Meyerson M., Eck M. // *Cancer Cell*. 2007. V. 11. P. 217–227. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.12.017>
7. Sharma S., Bell D., Settleman J., Haber D. // *Nat. Rev. Cancer*. 2007. V. 7. P. 169–181. <https://doi.org/10.1038/nrc2088>
8. Castellanos E.H., Horn L. // *Curr. Treat. Options Oncol.* 2015. V. 16. P. 51. <https://doi.org/10.1007/s11864-015-0365-1>
9. Elzahabi H., Nossier E., Alasfoury R., El-Manawaty M., Sayed S., Elkaeed E., Metwaly A., Hagras M., Eissa I. // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2022. V. 37. P. 1053–1076. <https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2062752>
10. Karachaliou N., Fernandez-Bruno M., Bracht J., Rosell R. // *Transl. Cancer Res.* 2019. V. 8. P. S23–S47. <https://doi.org/10.21037/tcr.2018.10.06>
11. Ko B., Paucar D., Halmos B. // *Lung Cancer (Auckl)*. 2017. V. 8. P. 147–159. <https://doi.org/10.2147/lctt.s117944>
12. Eck M., Yun C.-H. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2010. V. 1804. P. 559–566. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.12.010>
13. Yver A. // *Ann. Oncol.* 2016. V. 27. P. 1165–1170. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw129>
14. Ward R., Goldberg F. // *Kinase Drug Discovery*. Royal Society of Chemistry, 1th ed., 2011. P. 332. <https://doi.org/10.1039/9781849733557>
15. Engelman J., Zejnullahu K., Gale C., Lifshits E., Gonzales A., Shimamura T., Zhao F., Vincent P., Naumov G., Bradner J., Althaus I., Gandhi L., Shapiro G., Nelson J., Heymach J., Meyerson M., Wong K., Jänne P. // *Cancer Res.* 2007. V. 67. P. 11924–11932. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-07-1885>
16. Li D., Ambrogio L., Shimamura T., Kubo S., Takahashi M., Chirieac L., Padera R., Shapiro G., Baum A., Himmelsbach F., Rettig W., Meyerson M., Solca F., Greulich H., Wong K. // *Oncogene*. 2008. V. 27. P. 4702–4711. <https://doi.org/10.1038/onc.2008.109>
17. Solca F., Dahl G., Zoephel A., Bader G., Sanderson M., Klein C., Kraemer O., Himmelsbach F., Haaksma E., Adolf G. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2012. V. 343. P. 342–350. <https://doi.org/10.1124/jpet.112.197756>
18. Katakami N., Atagi S., Goto K., Hida T., Horai T., Inoue A., Ichinose Y., Koboyashi K., Takeda K., Kura K., Nishio K., Seki Y., Ebisawa R., Shahidi M., Yamamoto N. // *J. Clin. Oncol.* 2013. V. 31. P. 3335–3341. <https://doi.org/10.1200/jco.2012.45.0981>
19. Kwak E., Sordella R., Bell D., Godin-Heymann N., Okimoto R., Brannigan B., Harris P., Driscoll D., Fidias P., Lynch T., Rabindran S., McGinnis J., Wissner A., Sharma S., Isselbacher K., Settleman J., Haber D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005. V. 102. P. 7665–7670. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502860102>
20. Sequist L., Besse B., Lynch T., Miller V., Wong K., Gitlitz B., Eaton K., Zacharchuk C., Freyman A., Powell C., Ananthakrishnan R., Quinn S., Soria J.-C. // *J. Clin. Oncol.* 2010. V. 28. P. 3076–3083. <https://doi.org/10.1200/jco.2009.27.9414>
21. Yun C.-H., Mengwasser K., Toms A., Woo M., Greulich H., Wong K.-K., Meyerson M., Eck M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008. V. 105. P. 2070–2075. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709662105>
22. Kalous O., Conklin D., Desai A., O'Brien N., Ginter C., Anderson L., Cohen D., Britten C., Taylor I., Christensen J., Slamon D., Finn R. // *Mol. Cancer Ther.* 2012. V. 11. P. 1978–1987. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-11-0730>
23. Yoshimura N., Kudoh S., Kimura T., Mitsuoka S., Matsuura K., Hirata K., Matsui K., Negoro S., Nakagawa K., Fukuoka M. // *Lung Cancer*. 2006. V. 51. P. 363–368. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2005.10.006>
24. Jänne P., Pawel J., Cohen R., Crino L., Butts C., Olson S., Eiseman I., Chiappori A., Yeap B., Lenehan P., Dasse K., Sheeran M., Bonomi P. // *J. Clin. Oncol.* 2007. V. 25. P. 3936–3944. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.11.1336>
25. Ghosh A., Samanta I., Mondal A., Liu W. // *Chem. Med. Chem.* 2019. V. 14. P. 889–906. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201900107>
26. Yu H., Riely G. // *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* 2013. V. 11. P. 161–169. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2013.0024>
27. Zhou W., Ercan D., Chen L., Yun C.-H., Li D., Capelletti M., Cortot A., Chirieac L., Iacob R., Padera R., Engen J., Wong K.-K., Eck M., Gray N., Jänne P. // *Nature*. 2009. V. 462. P. 1070–1074. <https://doi.org/10.1038/nature08622>
28. Sjin R., Lee K., Walter A., Dubrovskiy A., Sheets M., Martin T., Labenski M., Zhu Z., Tester R., Karp R., Medikonda A., Chaturvedi P., Ren Y., Haringsma H.,

- Etter J., Raponi M., Simmons A., Harding T., Niu D., Nacht M., Westlin W., Petter R., Allen A., Singh J. // Mol. Cancer Ther. 2014. V. 13. P. 1468–1479. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-13-0966>
29. Walter A., Sjin R., Haringsma H., Ohashi K., Sun J., Lee K., Dubrovskiy A., Labenski M., Zhu Z., Wang Z., Sheets M., Martin T., Karp R., Kalken D., Chaturvedi P., Niu D., Nacht M., Petter R., Westlin W., Lin K., Jaw-Tsai S., Raponi M., Dyke T., Etter J., Weaver Z., Pao W., Singh J., Simmons A., Harding T., Allen A. // Cancer Discov. 2013. V. 3. P. 1404–1415. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-13-0314>
30. Yan X.-E., Zhu S.-J., Liang L., Zhao P., Choi H., Yun C.-H. // Oncotarget. 2018. V. 9. P. 13652–13665. <https://doi.org/10.18632%2Foncotarget.18588>
31. Van Der Steen N., Caparello C., Rolfo C., Pauwels P., Peters G., Giovannetti E. // Onco Targets Ther. 2016. V. 9. P. 6065–6074. <https://doi.org/10.2147/ott.s97644>
32. Simmons A., Jaw-Tsai S., Haringsma H., Allen A., Harding T. // Cancer Res. 2015. V. 75. P. 793. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2015-793>
33. Dhangra K. // Ann. Oncol. 2016. V. 27. P. 1161–1164. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw140>
34. Finlay M.R., Anderton M., Ashton S., Ballard P., Bethel P., Box M., Bradbury R., Brown S., Butterworth S., Campbell A., Chorley C., Colclough N., Cross D., Currie G.S., Grist M., Hassall L., Hill G., James D., James M., Kemmitt P., Klinowska T., Lamont G., Lamont S., Martin N., McFarland H., Mellor M., Orme J., Perkins D., Perkins P., Richmond G., Smith P., Ward R., Waring M., Whittaker D., Wells S., Wrigley G. // J. Med. Chem. 2014. V. 57. P. 8249–8267. <https://doi.org/10.1021/jm500973a>
35. Cross D., Ashton S., Ghiorghiu S., Eberlein C., Neahan C., Spitzler P., Orme J., Finlay M.R., Ward R., Mellor M., Hughes G., Rahi A., Jacobs V., Brewer M., Ichihara E., Sun J., Jin H., Ballard P., Al-Kadhim K., Rowlinson R., Klinowska T., Richmond G., Cantarini M., Kim D.-W., Ranson M., Pao W. // Cancer Discov. 2014. V. 4. P. 1046–1061. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-14-0337>
36. Yan X.-E., Ayaz P., Zhu S.-J., Zhao P., Liang L., Zhang C., Wu Y.-C., Li J.-L., Choi H.-G., Huang X., Shan Y., Shaw D., Yun C.-H. // J. Med. Chem. 2020. V. 63. P. 8502–8511. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00891>
37. Mah R., Thomas J., Shafer C. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2014. V. 24. P. 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.10.003>
38. Jackson P., Widen J., Harki D., Brummond K. // J. Med. Chem. 2016. V. 60. P. 839–885. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00788>
39. Streleow J. // SLAS Discov. 2017. V. 22. P. 3–20. <https://doi.org/10.1177/1087057116671509>
40. Kuzmič P. // bioRxiv. 2020. P. 171207. <https://doi.org/10.1101/2020.06.25.171207>
41. Soria J.-C., Ohe Y., Vansteenkiste J., Reungwetwattana T., Chewaskulyong B., Lee K.-H., Dechaphunkul A., Imamura F., Nogami N., Kurata T., Okamoto I., Zhou C., Cho B., Cheng Y., Cho E.K., Voon P.J., Planchard D., Su W.-C., Gray J., Lee S.-M., Hodge R., Marotti M., Rukazekov Y., Ramalingam S. // N. Engl. J. Med. 2018. V. 378. P. 113–125. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1713137>
42. Xiao Q., Qu R., Gao D., Yan Q., Tong L., Zhang W., Ding J., Xie H., Li Y. // Bioorg. Med. Chem. 2016. V. 24. P. 2673–2680. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.04.032>
43. Zhou F., Zhang L., Jin Y., Liu W., Cheng P., He X., Xie J., Shen S., Lei J., Ji H., Hu Y., Liu Y., Cui Y., Lv Q., Lan J. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2017. V. 28. P. 1257–1261. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.12.009>
44. Yi Y., Wang L., Zhao D., Huang S., Wang C., Liu Z., Sun H., Liu K., Ma X., Li Y. // Chem. Biol. Drug. Des. 2018. V. 92. P. 1988–1997. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13370>
45. Shao J., Liu S., Liu X., Pan Y., Chen W. // Bioorg. Med. Chem. 2020. V. 28. P. 115680. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115680>
46. Fawwaz M., Mishiro K., Nishii R., Sawazaki I., Shiba K., Kinuya S., Ogawa K. // Molecules. 2020. V. 25. P. 2914. <https://doi.org/10.3390/molecules25122914>
47. Chen L., Fu W., Feng C., Qu R., Tong L., Zheng L., Fang B., Qiu Y., Hu J., Cai Y., Feng J., Xie H., Ding J., Liu Z., Liang G. // Eur. J. Med. Chem. 2017. V. 140. P. 510–527. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.08.061>
48. Gao H., Yang Z., Yang X., Rao Y. // Bioorg. Med. Chem. 2017. V. 25. P. 4553–4559. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.06.004>
49. Liu Q., Luo Y., Li Z., Chen C., Fang L. // Bioorg. Med. Chem. 2021. V. 36. P. 116094. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2021.116094>
50. Yu H., Wei M., Cui Y., Sun X., Tong Z., Sun G., Tan S., Ma J., Gao P., Liao J., Liu Z., Wang S., Xiu W. // Patent Application WO2016054987A1, published 14.04.2016.
51. Yang C.-H., Camidge D.N., Yang C.-T., Zhou J., Guo R., Chiu C.-H., Chang G.-C., Shiah H.-S., Chen Y., Wang C.-C., Berz D., Su W.-C., Yang N., Wang Z., Fang J., Chen J., Nikolinakos P., Lu Y., Pan H., Maniam A., Bazhenova L., Shirai K.,

- Jahanzeb M., Willis M., Masood N., Chowhan N., Hsia T.-C., Jian H., Lu S. // *J. Thorac. Oncol.* 2020. V. 15. P. 1907–1918.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.09.001>
52. Lu S., Wang Q., Zhang G., Dong X., Yang C.-T., Song Y., Chang G.-C., Lu Y., Pan H., Chiu C.-H., Wang Z., Feng J., Zhou J., Xu X., Guo R., Chen J., Yang H., Chen Y., Yu Z., Shiah H.-S., Wang C.-C., Yang N., Fang J., Wang P., Wang K., Hu Y., He J., Wang Z., Shi J., Chen S., Wu Q., Sun C., Li C., Wei H., Cheng Y., Su W.-C., Hsia T.-C., Cui J., Sun Y., Ou S.-H., Zhu V., Yang J. // *J. Thorac. Oncol.* 2022. V. 17. P. 411–422.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.10.024>
53. Jiang Y. // Patent CN105085489A, published 25.11.2015.
54. Blair H. // *Drugs*. 2023. V. 83. P. 1433–1437.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-023-01946-w>
55. Peng J., Costanzo M., Greco M., Green M., Wilde V., Zhang D. // Patent Application WO2016094821A2, published 16.06.2016.
56. Shi Y., Zhao Y., Yang S., Zhou J., Zhang L., Chen G., Fang J., Zhu B., Li X., Shu Y., Shi J., Zheng R., Wang D., Yu H., Huang J., Zhuang Z., Wu G., Zhang L., Guo Z., Greco M., Li X., Zhang Y. // *J. Thorac. Oncol.* 2022. V. 17. P. 708–717.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtho.2022.01.015>
57. Yang S., Wu S., Zhao Y., Chen G., Zhu B., Li X., Wang K., Shi J., Cang S., Yao W., Fan Y., Fang J., Zhang L., Zhou J., Wu L., Zheng R., Huang M., Pan Y., Yang Z., Sun M., Yu H., Wang D., Huang J., Wang L., Shu Y., Chen Z., Liu C., Li J., Liu J., Sun S., Guo Y., Meng Z., Liu Z., Han Z., Wu G., Lu H., Ma R., Hu S., Zhao G., Zhang L., Liu Z., Xie C., Zhong D., Zhao H., Bi M., Yi S., Guo S., Yi T., Li W., Lin Y., Chen Z., Zhuang Z., Guo Z., Greco M., Wang T., Zhou A., Shi Y. // *Lung Cancer*. 2023. V. 180. P. 107194.  
<https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2023.107194>
58. Talele T. // *J. Med. Chem.* 2016. V. 59. P. 8712–8756.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00472>
59. Li J., An B., Song X., Zhang Q., Chen C., Wei S., Fan R., Li X., Zou Y. // *Eur. J. Med. Chem.* 2020. V. 212. P. 113019.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.113019>
60. An B., Pan T., Hu J., Pang Y., Huang L., Chan A., Li X., Yan J. // *Eur. J. Med. Chem.* 2019. V. 183. P. 111709.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111709>
61. Gant T. // *J. Med. Chem.* 2013. V. 57. P. 3595–3611.  
<https://doi.org/10.1021/jm4007998>
62. Di Martino R., Maxwell B., Pirali T. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2023. V. 22. P. 562–584.  
<https://doi.org/10.1038/s41573-023-00703-8>
63. Meng Y., Yu B., Huang H., Peng Y., Li E., Yao Y., Song C., Yu W., Zhu K., Wang K., Yi D., Du J., Chang J. // *J. Med. Chem.* 2021. V. 64. P. 925–937.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c02005>
64. Zhou P., Chen G., Gao M., Wu J. // *Bioorg. Med. Chem.* 2018. V. 26. P. 6135–6145.  
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.10.018>
65. Zhang H., Wu W., Feng C., Liu Z., Bai E., Wang X., Lei M., Cheng H., Feng H., Shi J., Wang J., Zhang Z., Jin T., Chen S., Hu S., Zhu Y. // *Eur. J. Med. Chem.* 2017. V. 135. P. 12–23.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.04.036>
66. Bouffard E., Zaro B., Dix M., Cravatt B., Wong C.-H. // *Tetrahedron Lett.* 2021. V. 74. P. 153178.  
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2021.153178>
67. Wang Y., Zhang X., Zhao L., Wang X., Han L., Dai X. // Patent Application WO2017088746A1, published 01.06.2017.
68. Han L., Zhang X., Wang Z., Zhang X., Zhao L., Fu W., Liang X., Zhang Z., Wang Y. // *Front. Pharmacol.* 2021. V. 12. P. 665253.  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2021.665253>
69. Yan Q., Chen Y., Tang B., Xiao Q., Qu R., Tong L., Liu J., Ding J., Chen Y., Ding N., Tan W., Xie H., Li Y. // *Eur. J. Med. Chem.* 2018. V. 152. P. 298–306.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.04.052>
70. Zhang T., Qu R., Chan S., Lai M., Tong L., Feng F., Chen H., Song T., Song P., Bai G., Liu Y., Wang Y., Li Y., Su Y., Shen Y., Sun Y., Chen Y., Geng M., Ding K., Ding J., Xie H. // *Mol. Cancer*. 2020. V. 19. P. 90.  
<https://doi.org/10.1186/s12943-020-01202-9>
71. Shi Y., Li B., Wu L., Pan Y., Pan Z., Liu Y., Fan Y., Ji Y., Fang J., Shi Q., Shi J., Gao H., Hu Y., Wang X., He Z., Ma R., Zhang Y., Jiang D., Bai Y., Zhang Y., Huang L., Zhou T., Liu H., Wang D., Wen Q., Chen G., Zang A., Wang X., Zhang X., Hu J., Yang R., Zhang G., Gu K., Wang L., Wang Q., Wei Z., Li Z., Lu H., Zhang H., Chen H., Song T. // *J. Thorac. Oncol.* 2022. V. 17. P. 1205–1215.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtho.2022.05.011>
72. Yang Z., Yang H., Ai Y., Zhang L., Li Z., Wan S., Xu X., Zhang H., Wu S., Zhang J., Zhang T. // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2020. V. 152. P. 105463.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105463>
73. Rho J.K., Lee I.Y., Choi Y.J., Choi C.-M., Hur J.-Y., Koh J.S., Lee J., Suh B.-C., Song H.-J., Salgaonkar P., Lee J., Lee J., Jung D.S., Kim S.-Y., Woo D.-C., Baek I.-J., Lee J.-Y., Ha C.H., Sung Y.H., Kim J.K., Kim W.S., Song J.S., Kim C.H., Bivona T., Lee J.C. // *Cancer Res.* 2017. V. 77. P. 1200–1211.  
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-16-2432>

74. *Yun J., Hong M.H., Kim S.-Y., Park S.-W., Kim S., Yun M.R., Kang H.N., Pyo K.H., Lee S.S., Koh J.S., Song H.-J., Kim D.K., Lee Y.S., Oh S.-W., Choi S., Kim H.R., Cho B.C.* // *Clin. Cancer Res.* 2019. V. 25. P. 2575–2587.  
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-18-2906>
75. *Dhillon S.* // *Drugs.* 2021. V. 81. P. 1107–1113.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-021-01533-x>
76. *Yang H., Yan R., Jiang Y., Yang Z., Zhang X., Zhou M., Wu X., Zhang T., Zhang J.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2020. V. 187. P. 111966.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111966>
77. *Günther M., Lategahn J., Juchum M., Döring E., Keul M., Engel J., Tumbrink H., Rauh D., Laufer S.* // *J. Med. Chem.* 2017. V. 60. P. 5613–5637.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00316>
78. *Yang T., Zhang W., Cao S., Sun S., Cai X., Xu L., Li P., Zheng Z., Li S.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2022. V. 228. P. 113984.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113984>
79. *Luo H., Zhou H., Wang S., Wu Y.* // Patent US10072002B2, published 11.09.2018.
80. *Deeks E.* // *Drugs.* 2021. V. 81. P. 1775–1780.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-021-01588-w>
81. *Shi Y., Zhang S., Hu X., Feng J., Ma Z., Zhou J., Yang N., Wu L., Liao W., Zhong D., Han X., Wang Z., Zhang X., Qin S., Ying K., Feng J., Fang J., Liu L., Jiang Y.* // *J. Thorac. Oncol.* 2020. V. 15. P. 1015–1026.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.01.010>
82. *Li Y., Chang Y., Fu J., Ding R., Zhang L., Liang T., Liu Y., Liu Y., Hu J.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2021. V. 226. P. 113845.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113845>
83. *Zhao B., Xiao Z., Qi J., Luo R., Lan Z., Zhang Y., Hu X., Tang Q., Zheng P., Xu S., Zhu W.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2018. V. 163. P. 367–380.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.11.069>
84. *Abbas A., Xing B., Loh T.* // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014. V. 53. P. 7491–7494.  
<https://doi.org/10.1002/anie.201403121>
85. *Chen D., Guo D., Yan Z., Zhao Y.* // *Med. Chem. Comm.* 2017. V. 9. P. 244–253.  
<https://doi.org/10.1039/C7MD00571G>
86. *Zhao Z., Bourne P.* // *Pharmaceuticals.* 2022. V. 15. P. 1322.  
<https://doi.org/10.3390/ph15111322>
87. *Chen Y., Wu J., Wang A., Qi Z., Jiang T., Chen C., Zou F., Hu C., Wang W., Wu H., Hu Z., Wang W., Wang B., Wang L., Ren T., Zhang S., Liu Q., Liu J.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2017. V. 139. P. 674–697.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.08.035>
88. *Jang J., Son J.B., To C., Bahcall M., Kim S.Y., Kang S.Y., Mushajiang M., Lee Y., Jänne P., Choi H.G., Gray N.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2017. V. 136. P. 497–510.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.04.079>
89. *Fan Y., Li W., Nie W., Yao H., Ren Y., Wang M., Nie H., Gu C., Liu J., An B.* // *Molecules.* 2023. V. 28. P. 2006.  
<https://doi.org/10.3390/molecules28052006>
90. *Li Z., Zou H., Zhu W., Shen C., Wang R., Liu W., Chen X., Tsui H., Yang Z., Zhang X.* // Patent Application WO2019149164A1, published 08.08.2019.
91. *Dhillon S.* // *Drugs.* 2023. V. 83. P. 1629–1634.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-023-01959-5>
92. *Cheng H., Nair S., Murray B., Almaden C., Bailey S., Baxi S., Behenna D., Cho-Schultz S., Dalvie D., Dinh D., Edwards M., Feng J.L., Ferre R., Gajiwala K., Hemkens M., Jackson-Fisher A., Jalaie M., Johnson T., Kania R., Kephart S., Lafontaine J., Lunney B., Liu K., Liu Z., Matthews J., Nagata A., Niessen S., Ornelas M., Orr S., Pairish M., Planken S., Ren S., Richter D., Ryan K., Sach N., Shen H., Smeal T., Solowiej J., Sutton S., Tran K., Tseng E., Vernier W., Walls M., Wang S., Weinrich S., Xin S., Xu H., Yin M.-J., Zientek M., Zhou R., Kath J.* // *J. Med. Chem.* 2016. V. 59. P. 2005–2024.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01633>
93. *Xu X., Wang X., Mao L., Zhao L., Xi B.* // Patent US9586965B2, published 07.03.2017.
94. *Xu X., Mao L., Xu W., Tang W., Zhang X., Xi B., Xu R., Fang X., Liu J., Fang C., Zhao L., Wang X., Jiang J., Hu P., Zhao H., Zhang L.* // *Mol. Cancer Ther.* 2016. V. 15. P. 2586–2597.  
<https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-16-0281>
95. *Xia Z., Huang R., Zhou X., Chai Y., Chen H., Ma L., Yu Q., Li Y., Li W., He Y.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2021. V. 224. P. 113711.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113711>
96. *Tomassi S., Lategahn J., Engel J., Keul M., Tumbrink H., Ketzer J., Mühlenberg T., Baumann M., Schultz-Fademrecht C., Bauer S., Rauh D.* // *J. Med. Chem.* 2017. V. 60. P. 2361–2372.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01626>
97. *Lategahn J., Keul M., Klövekorn P., Tumbrink H., Niggenaber J., Müller M., Hodson L., Fläbhoff M., Hardick J., Grabe T., Engel J., Schultz-Fademrecht C., Baumann M., Ketzer J., Mühlenberg T., Hiller W., Günther G., Unger A., Müller H., Heimsoeth A., Golz C., Blank-Landeshammer B., Kollipara L., Zahedi R., Strohmann C., Hengstler J., Otterlo W., Bauer S., Rauh D.* // *Chem. Sci.* 2019. V. 10. P. 10789–10801.  
<https://doi.org/10.1039/C9SC03445E>

98. Thress K., Paweletz C., Felip E., Cho B., Stetson D., Dougherty B., Lai Z., Markovets A., Vivancos A., Kuang Y., Ercan D., Matthews S., Cantarini M., Barrett J., Jänne P., Oxnard G. // *Nat. Med.* 2015. V. 21. P. 560–562.  
<https://doi.org/10.1038/nm.3854>
99. Lategahn J., Tumbrink H., Schultz-Fademrecht C., Heimsoeth A., Werr L., Niggenaber J., Keul M., Parmaksiz F., Baumann M., Menninger S., Zent E., Landel I., Weisner J., Jeyakumar K., Heyden L., Russ N., Müller F., Lorenz C., Brägelmann J., Spille I., Grabe T., Müller M., Heuckmann J., Klebl B., Nussbaumer P., Sos M., Rauh D. // *J. Med. Chem.* 2022. V. 65. P. 6643–6655.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c02080>
100. Günther M., Laux J., Laufer S. // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2018. V. 128. P. 91–96.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.11.021>
101. Planken S., Behenna D., Nair S., Johnson T., Nagata A., Almaden C., Bailey S., Ballard E., Bernier L., Cheng H., Cho-Schultz S., Dalvie D., Deal J., Dinh D., Edwards M., Ferre R., Gajiwala K., Hemkens M., Kania R., Kath J., Matthews J., Murray B., Niessen S., Orr S., Pairish M., Sach N., Shen H., Shi M., Solowiej J., Tran K., Tseng E., Vicini P., Wang Y., Weinrich S., Zhou R., Zientek M., Liu L., Luo Y., Xin S., Zhang C., Lafontaine J. // *J. Med. Chem.* 2017. V. 60. P. 3002–3019.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01894>
102. Hu J., Han Y., Wang J., Liu Y., Zhao Y., Liu Y., Gong P. // *Bioorg. Med. Chem.* 2018. V. 26. P. 1810–1822.  
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.02.029>
103. Hu C., Wang A., Wu H., Qi Z., Li X., Yan X., Chen C., Yu K., Zou F., Wang W., Wang W., Wu J., Liu J., Wang B., Wang L., Ren T., Zhang S., Yun C., Liu J., Liu Q. // *Oncotarget.* 2017. V. 8. P. 18359–18372.  
<https://doi.org/10.18632%2Foncotarget.15443>
104. Wang A., Li X., Wu H., Zou F., Yan X.-E., Chen C., Hu C., Yu K., Wang W., Zhao P., Wu J., Qi Z., Wang W., Wang B., Wang L., Ren T., Zhang S., Yun C.-H., Liu J., Liu Q. // *J. Med. Chem.* 2017. V. 60. P. 2944–2962.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01907>
105. Cha M.-Y., Kang S.-J., Kim M.-R., Lee J.-Y., Jeon J.-Y., Jo M.-G., Kwak E.-J., Lee K.-O., Ha T.-H., Suh K.-H., Kim M.-S. // Patent Application US20130116213A1, published 09.05.2013.
106. Kim E. // *Drugs.* 2016. V. 76. P. 1153–1157.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-016-0606-z>
107. Park K., Jänne P., Kim D.-W., Han J.-Y., Wu M.-F., Lee J.-S., Kang J.-H., Lee D.H., Cho B.C., Yu C.-J., Pang Y.K., Felip E., Kim H., Baek E., Noh Y.S. // *Cancer.* 2021. V. 127. P. 1407–1416.  
<https://doi.org/10.1002/cncr.33385>
108. Xiao Z., Zhou Z., Chu C., Zhang Q., Zhou L., Yang Z., Li X., Yu L., Zheng P., Xu S., Zhu W. // *Eur. J. Med. Chem.* 2020. V. 203. P. 112511.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112511>
109. Xiao Z., Chu C., Zhou L., Zhou Z., Zhang Q., Yang F., Yang Z., Zheng P., Xu S., Zhu W. // *Bioorg. Med. Chem.* 2020. V. 28. P. 115669.  
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115669>
110. Zhao B., Zhao C., Hu X., Xu S., Lan Z., Guo Y., Yang Z., Zhu W., Zheng P. // *Eur. J. Med. Chem.* 2019. V. 185. P. 111809.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111809>
111. Coumar M.S., Chu C.Y., Lin C.W., Shiao H.Y., Ho Y.L., Reddy R., Lin W.H., Chen C.H., Peng Y.H., Leou J.S., Lien T.W., Huang C.T., Fang M.Y., Wu S.H., Wu J.S., Chittimalla S.K., Song J.S., Hsu J.T., Wu S.Y., Liao C.C., Chao Y.S., Hsieh H.P. // *J. Med. Chem.* 2010. V. 53. P. 4980–4988.  
<https://doi.org/10.1021/jm1000198>
112. Peng Y.-H., Shiao H.-Y., Tu C.-H., Liu P.-M., Hsu J., Amancha P.K., Wu J.-S., Coumar M.S., Chen C.-H., Wang S.-Y., Lin W.-H., Sun H.-Y., Chao Y.-S., Lyu P.-C., Hsieh H.-P., Wu S.-Y. // *J. Med. Chem.* 2013. V. 56. P. 3889–3903.  
<https://doi.org/10.1021/jm400072p>
113. Lin S.-Y., Hsu Y.C., Peng Y.-H., Ke Y.-Y., Lin W.-H., Sun H.-Y., Shiao H.-Y., Kuo F.-M., Chen P.-Y., Lien T.-W., Chen C.-H., Chu C.-Y., Wang S.-Y., Yeh K.-C., Chen C.-P., Hsu T.-A., Wu S.-Y., Yeh T.-K., Chen C.-T., Hsieh H.-P. // *J. Med. Chem.* 2019. V. 62. P. 10108–10123.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00722>
114. Li M.-C., Coumar M., Lin S.-Y., Lin Y.-S., Huang G.-L., Chen C.-H., Lien T.-W., Wu Y.-W., Chen Y.-T., Chen C.-P., Huang Y.-C., Yeh K.-C., Yang C.-M., Kalita B., Pan S.-L., Hsu T.-A., Yeh T.-K., Chen C.-T., Hsieh H.-P. // *J. Med. Chem.* 2023. V. 66. P. 2566–2588.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01434>
115. Das D., Xie L., Wang J., Xu X., Zhang Z., Shi J., Le X., Hong J. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2018. V. 29. P. 591–596.  
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.12.056>
116. Das D., Hong, J. // *Eur. J. Med. Chem.* 2019. V. 170. P. 55–72.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.004>
117. Das D., Xie L., Wang J., Shi J., Hong J. // *Bioorg. Chem.* 2020. V. 99. P. 103790.  
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103790>
118. Liu Z., Wang L., Feng M., Yi Y., Zhang W., Liu W., Li L., Liu Z., Li Y., Ma X. // *Bioorg. Chem.* 2018. V. 77. P. 593–599.  
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.01.035>
119. Xu T., Peng T., Ren X., Zhang L., Yu L., Luo J., Zhang Z., Tu Z., Tong L., Huang Z., Lu X., Geng M., Xie H., Ding J., Ding K. // *MedChemComm.* 2015. V. 6. P. 1693–1697.  
<https://doi.org/10.1039/C5MD00208G>
120. Yu L., Huang M., Xu T., Tong L., Yan X., Zhang Z., Xu Y., Yun C., Xie H., Ding K., Lu X. // *Eur. J. Med. Chem.* 2017. V. 126. P. 1107–1117.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.12.006>

121. *Zhang Z., Zou J., Yu L., Luo J., Li Y., Tu Z., Ren X., Wei H., Song L., Lu X., Ding K.* // *Cancer Med.* 2018. V. 7. P. 1430–1439.  
<https://doi.org/10.1002/cam4.1392>
122. *Hao Y., Lyu J., Qu R., Tong Y., Sun D., Feng F., Tong L., Yang T., Zhao Z., Zhu L., Ding J., Xu Y., Xie H., Li H.* // *J. Med. Chem.* 2018. V. 61. P. 5609–5622.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00346>
123. *Hao Y., Wang X., Zhang T., Sun D., Tong Y., Xu Y., Chen H., Tong L., Zhu L., Zhao Z., Chen Z., Ding J., Xie H., Xu Y., Li H.* // *J. Med. Chem.* 2016. V. 59. P. 7111–7124.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00403>
124. *Hao Y., Lyu J., Qu R., Sun D., Zhao Z., Chen Z., Ding J., Xie H., Xu Y., Li H.* // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 3830.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-04184-9>
125. *Wurz R., Petrus L., Ashton K., Brown J., Chen J.J., Herberich B., Hong F.-T., Hu-Harrington E., Nguyen T., St. Jean, D., Jr., Tadesse S., Bauer D., Kubryk M.*
126. *Zhan J., Cooke K., Mitchell P., Andrews K., Hsieh F., Hickman D., Kalyanaraman N., Wu T., Reid D., Lobenhofer E., Andrews D., Everds N., Guzman R., Parsons A., Hedley S., Tedrow J., Thiel O., Potter M., Radinsky R., Beltran P., Tasker A.* // *ACS Med. Chem. Lett.* 2015. V. 6. P. 987–992.  
<https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.5b00193>
127. *Pawara R., Ahmad I., Nayak D., Wagh S., Wadkar A., Ansari A., Belamkar S., Surana S., Kundu C., Patil C., Patel H.* // *Bioorg. Chem.* 2021. V. 115. P. 105234.  
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105234>
128. *Amaral D., Lategahn J., Fokoue H., Silva E., Sant'Anna C., Rauh D., Barreiro E., Laufer S., Lima L.* // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 14.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-36846-7>
129. *Zhang H., Wang J., Zhao H.-Y., Yang X.-Y., Lei H., Xin M., Cao Y.-X., Zhang S.-Q.* // *Bioorg. Med. Chem.* 2018. V. 26. P. 3619–3633.  
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.05.039>

## Covalent Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Inhibitors in Targeted Therapy of Drug-Resistant Non-small Cell Lung Cancer

A. B. Shvetsov\*,# and A. V. Semenov\*

# Phone: +7 (917) 996-41-38; e-mail: shvetsov.1984@list.ru

\* National Research Ogarev Mordovia State University, ul. Bolshevistskaya 68, Saransk, 430005 Russia

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is the main subtype of lung cancer and is a common cause of cancer-related mortality worldwide. Mutations in the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene play a leading role in the pathogenesis of NSCLC, causing its pathological activity. The first generation of EGFR inhibitors, acting reversibly, effectively block the effects of EGFR with activating mutations by benefiting from competition with adenosine triphosphate for binding to the kinase. However, after several months of treatment, a secondary T790M mutation often occurs, causing resistance to subsequent therapy with these drugs. Effective inhibition of EGFR with the T790M mutation was possible due to second-generation inhibitors acting via a covalent mechanism. However, the second generation of covalent inhibitors has received limited use in therapy due to insufficient selectivity for EGFR T790M and a narrow therapeutic window. The discovery of covalent pyrimidine-based inhibitors has led to the emergence of a number of effective and safer third-generation drugs for the treatment of NSCLC with the EGFR T790M mutation. This review contains a brief description of first- and second-generation EGFR inhibitors and a detailed discussion of the main stages in the development of third-generation inhibitors. The main emphasis is placed on the identified “structure–activity” patterns. Data are provided on inhibitors that have received the status of approved drugs for the treatment of NSCLC. Promising directions for the development of novel EGFR inhibitors are indicated.

**Keywords:** non-small cell lung cancer, epidermal growth factor receptor, double mutation, covalent inhibitors, inhibitory activity, pyrimidines, molecular modeling