新药创制是复杂的智力活动, 涉及科学研究、技术创造、产品开发和医疗效果等多维科技活动。每个药物都有自身的研发轨迹, 而构建化学结构是最重要的环节, 因为它涵盖了药效、药代、安全性和生物药剂学等性质。本栏目以药物化学视角, 对有代表性的药物的成功构建, 加以剖析和解读。

表皮生长因子受体 (EGFR) 基因突变, 往往导致非小细胞肺癌 (NSCLC) 发生。自2003年第一代靶向药物吉非替尼问世以来, 迄今已发展到第三代, 是对治疗中癌细胞不断发生变异的应对。从药物化学视角看, 第二代药物是在第一代结构的基础上“安装”共价结合基团, 成为不可逆抑制剂。然而治疗中道高一尺, 魔高一丈。癌细胞继续发生T790M以及外显子20插入突变, 导致第一/二代寡效。本刊于2026年第1期刊载了2015年AstraZeneca公司上市的奥希替尼, 属于针对L858R/T790M双突变的患者治疗的第三代首创药物, 是结构新颖的不可逆抑制剂。本文叙述的莫博替尼是武田与ARIAD公司共研的针对L858R/T790M/ex20ins三突变患者, 于2021年批准上市。在化学结构上莫博替尼仅比奥希替尼多一个酰基乙酯, 似如me-too, 其实是从通量筛选开始, 一步步演化成结构骨架酷似奥希替尼, 值得指出的是在特定位置引入了酯基, 疗效超越了前驱药物。 (编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0569

# 第三代EGFR抑制剂莫博替尼的研制

郭宗儒

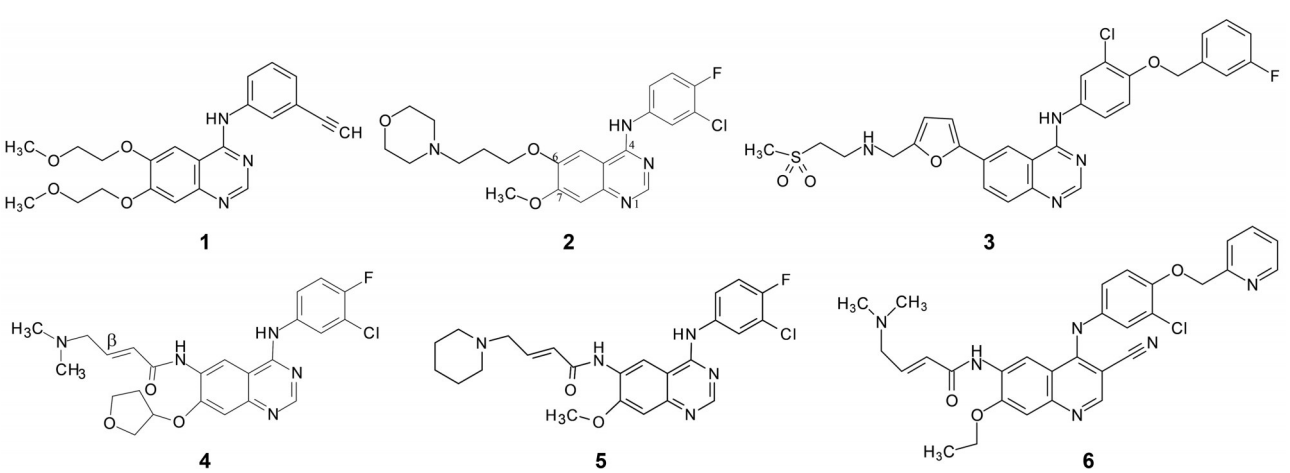
(中国医学科学院北京协和医学院, 药物研究所, 北京 100050)

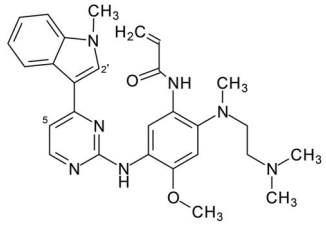
## 1 引言

表皮生长因子受体 (EGFR) 对维持正常细胞功能非常重要, EGFR的激酶域一旦发生突变, 引起功能失调, 导致非小细胞肺癌 (NSCLC) 发生。NSCLC患者90%发生外显子21 L858R点突变和外显子19缺失 (ex19del)。第一代治疗NSCLC的EGFR激酶抑制剂是厄洛替尼 (**1**, erlotinib)、吉非替尼 (**2**, gefitinib) 和拉帕替尼 (**3**, lapatinib) 等, 为可逆性抑制剂。第二代阿法替尼 (**4**, afatinib) 和达可替尼 (**5**, dacomitinib) 是在**2**的结构基础上, 于喹唑啉环6-位连接了含有丙烯酰氨片段的迈克尔亲电基团, 后者与激酶的Cys797发生共价结合, 成为不可逆抑制剂, 治疗效果强于第一代抑制剂。第二代的奈拉替尼 (**6**, neratinib) 在一定意义上是**3**的骨架迁越 (喹唑啉换成3-氰基喹啉) 的药物, 也是含有迈克尔基团的不可逆抑制剂。

## 2 靶标结构特征

EGFR的细胞内酪氨酸激酶由N端和C端两个结构域组成, 活性位点在N/C两个结构域的夹缝之间, 是ATP (也是激酶抑制剂) 结合之处。图1显示了活性位点和突变的残基: ① T790处于ATP结合腔, 作为重要





**7**

的门户残基常常发生突变为M790; ② C螺旋通过在N端结构域和中间裂隙之间的切换来调节激酶功能; ③ 裂隙处的L858R也常常发生突变, 导致耐药性; ④ 活性位点裂隙边缘的C797是激酶结构域中的半胱氨酸, 是药物–靶标形成共价结合之所在 (Truong TH, Ung PMU, Palde PB, et al. Molecular basis for redox activation of epidermal growth factor receptor kinase. Cell Chem Biol, 2016, 23: 837–848)。

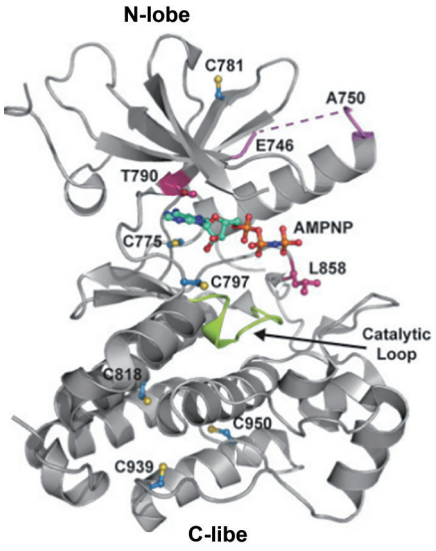



**Figure 1** Structure of the binding site of EGFR

## 3 研制过程

**3.1 活性评价** 评价化合物活性用4个指标: ① EGFR外显子ex20ins插入是指在激酶域序列762～774之间插入1～7个氨基酸, 武田的目标是发现对各种插入的突变体都可发生不可逆抑制。在苗头发现阶段设定的靶标是D770_N771insNPG (简称NPG), 用表达NPG的Ba/F3细胞生长的抑制作用作为评价初始苗头的指标; ② 对表达有插入外显子V769_D770insASV的Ba/F3细胞生长的抑制 (简称ASV); ③ 表达Del-T790M双突变的Ba/F3细胞生长的抑制, 用$IC_{50}$表示化合物对这4种细胞系的活性; ④ 评价化合物对表达野生型EGFR蛋白的磷酸化的A431细胞的抑制活性 (p-EGFR), 作为脱靶作用的指标, 此时$IC_{50}$值越大越安全。

**3.2 初筛与苗头化合物** 武田公司初筛是用已有针对EGFR的化合物库, 结果没有发现对NPG模型有活性的化合物。遂转向筛选不可逆抑制剂, 发现阿法替尼 (**4**) 抑制NPG细胞$IC_{50}$为36 nmol·L$^{-1}$, 但抑制野生型EGFR磷酸化活性更强, $IC_{50}$为3.5 nmol·L$^{-1}$, 因而是不可取的。然而发现奥希替尼 (**7**) 抑制NGP活性为53 nmol·L$^{-1}$, 抑制外显子20 V769_D770insASV活性158 nmol·L$^{-1}$, 而抑制A431细胞磷酸化的脱靶作用为300 nmol·L$^{-1}$, 说明**7**有一定的选择性, 因而确定奥希替尼为研制L858R/T790M/ex20ins三突变EGFR抑制剂的苗头化合物。

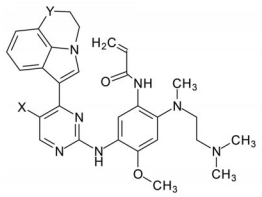
**3.3 吲哚环的环化** 奥希替尼体内代谢位点是N-去甲基化, 研制新的分子为增加代谢稳定性, 将吲哚环氮原子成环, 同时还提高疏水性, 以期提高活性, 探索了两种三环系, 一种是氮杂吲哚 (吡唑并吡啶), 合成的化合物结构与活性以及药代列于表1。

表1的构效关系分析如下: ① **8a**和**8b**稠合的饱和环, 由于与P-环套的Phe723的靠近提升了范德华作用力, 但抑制NPG和对野生EGFR的选择性与**7**大致相同; ② 嘧啶5-位加氯原子, **8c**和**8d**的活性比**7**提高了2～4倍, 与**10**的活性相近 (**10**是研制**7**的重要节点化合物); ③ **9a**和**8b**并合的吗啉环, 5-Cl取代的**9b**活性比**9a** (5-H) 降低10倍, 是因为氯原子的位阻, 使两个环的两面角扭动, 远离了与酶结合所需的构象; ④ 含氧的脂环比碳环的活性略高, 但抑制野生型细胞的生长增高了1倍即脱靶作用也增加; ⑤ 5-位无取代基的所有三环化合物的大鼠药代都优于奥希替尼。

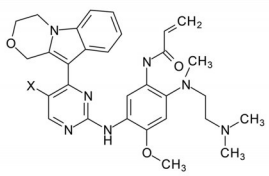
**3.4 嘧啶5-位取代基的变换** 固定三环稠合母核的骨架, 变换嘧啶5-位取代基, 代表性的化合物结构与活性列于表2。

分析构效关系如下: ① 5-氰基 (**11a**) 的活性显著高于**8a**, 也强于其电子等排体5-乙炔基, 是因为氰基N原子与Thr854的羟基和Cys775的巯基形成了氢键网络, 如图2虚线所示; ② 化合物**11c**～**11g**的5-位取代基是酰基C=O直接连结于嘧啶环上, 其中4个化合物的细胞活性非常强, 唯一例外的是极性强的酰氨化合物**11g**, $IC_{50}$低于甲酯基**11d**大约6倍; ③ 虽然这些化合物对NPG和ASV细胞活性强于野生型2～3倍, 但选择性与**8a**差不多, 所以没有显示优势; ④ 一些5-酯基取代的化合物的大鼠药代动力学性质尚可, 值得进一步优化; ⑤ 5-噁唑、吡唑和噁二唑等芳杂环可认为是酯基的环状等排物, 对突变靶标活性和/或大鼠药代性质大都相近于**11d**, 但选择性差强人意, 例如**11i**、**11k**～**11m**等化合物。

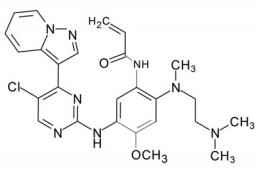
**Table 1** Tricycles and pyrazolopyridine modification to address N-$CH_3$ stability



**8a−8d**



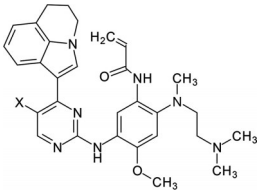
**9a**, **9b**

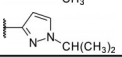


**10**

| Compd. | X | Y | Ba/F3 cells viability $IC_{50}$/nmol·$L^{-1}$ | | A431 cells p-EGFR | Rat oral PK | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | NPG | ASV | $IC_{50}$/nmol·$L^{-1}$ | $C_{max}$/ng·$mL^{-1}$ | AUC/h·ng·$mL^{-1}$ |
| **7** | – | – | 53 | 158 | 300 | 98 | 1 538 |
| **8a** | H | $CH_2$ | 53 | 197 | 405 | 126 | 456 |
| **8b** | H | O | 52 | 137 | 210 | 207 | 2 685 |
| **8c** | Cl | $CH_3$ | 22 | 58 | 71 | – | – |
| **8d** | Cl | O | 15 | 35 | 36 | – | – |
| **9a** | H | – | 53 | 112 | 288 | 248 | 2 666 |
| **9b** | Cl | – | 754 | 1 025 | 2 969 | – | – |
| **10** | – | – | 32 | 59 | 95 | – | – |

**Table 2** Tricycle compounds with varied 5-substituents



| Compd. | X | Ba/F3 cells viability $IC_{50}$/nmol·$L^{-1}$ | | A431 cells p-EGFR | Rat oral PK | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | NPG | ASV | $IC_{50}$/nmol·$L^{-1}$ | $C_{max}$/ng·$mL^{-1}$ | AUC/h·ng·$mL^{-1}$ |
| **8a** | H | 54 | 197 | 405 | 126 | 466 |
| **11a** | CN | 3.99 | 9.38 | 35 | 13 | 58 |
| **11b** | C≡C | 9.8 | 25 | 42 | – | – |
| **11c** | $C(O)C_2H_5$ | 4.95 | 17.3 | 23 | – | – |
| **11d** | $CO_2CH_3$ | 6.57 | 22.1 | 40 | 170 | 1 916 |
| **11e** | $CO_2C_2H_5$ | 6.43 | 15 | 32 | 110 | 1 483 |
| **11f** | $CO_2C_3H_{7\text{-}i}$ | 6.57 | 12.4 | 39 | – | – |
| **11g** | $C(O)NHCH_3$ | 37.6 | 136 | 147 | – | – |
| **11h** |  | 9 | 29 | 49 | 86 | 1 141 |
| **11i** |  | 6.2 | 13 | 15 | 38 | 427 |
| **11j** |  | 11 | 38 | 49 | – | – |
| **11k** |  | 11 | 28 | 23 | 320 | 2 951 |
| **11l** |  | – | 16 | 15 | 90 | 853 |
| **11m** |  | 13 | 16 | 15 | 163 | 2 017 |

**3.5 探索含有5-酯基的双环骨架** 5-酯基对ex20ins突变的活性贡献(NPG、ASV细胞)引起研制者对双环母核的关注,因为奥希替尼毕竟进行过广泛的SAR研究,因而研制轨道又回到含有N-甲基吲哚的骨架上,即使甲基吲哚在体内代谢去甲基化(如同奥希替尼),也希望加入5-酯基的双环系列药效与药代的效果优异,所以值得探索。因而合成了表3的化合物。

以前述的**11d**和**11e**为参比物,分析表3的构效关系如下:① **12a**和**12b**保持了对突变细胞的活性和选择性,而且尽管有发生N-去甲基的可能,但药代性质有所改善;② 异丙酯基化合物**12c**不仅提升了活性强度和选择性,还改善了小鼠的口服生物利用度(数据省略)。但环丁基(**12d**)和异丁基(**12e**)化合物的活性减弱;③ 吲哚N-烷基化的变化表明,乙基(**12b**)与异丙基(**12c**)化合物相似,再增大烷基尺寸出现活性、选择性和药代问题;④ N-酰化提高了活性(羰基与Thr854

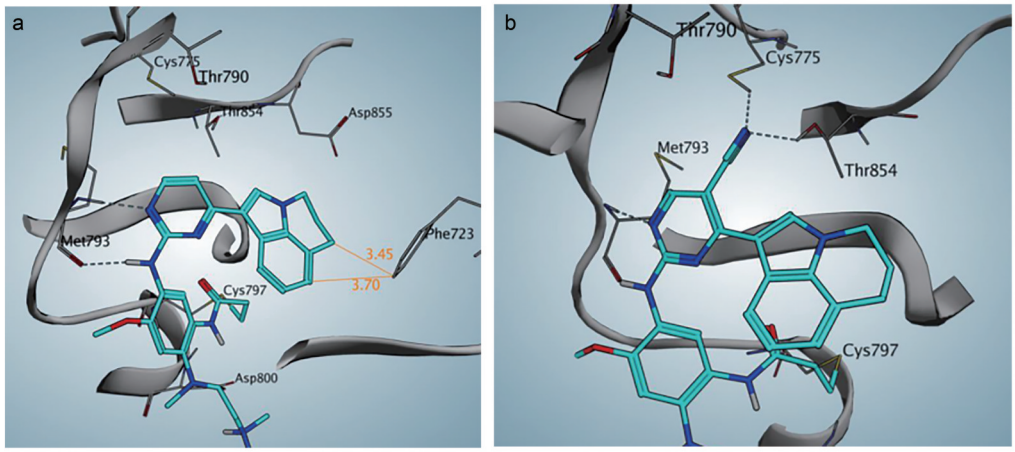
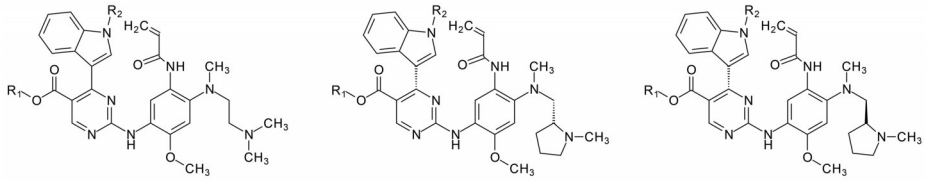



**Figure 2** a: Binding model of WT EGFR in complex with **8a**; b: Binding model of WT EGFR in complex with **11a**

**Table 3** SAR of indole-containing compounds with varied 5-esters




| Compd. | $R_1$ | $R_2$ | Ba/F3 cells viability $IC_{50}$/nmol·L$^{-1}$ | | A431 cells p-EGFR $IC_{50}$/nmol·L$^{-1}$ | Rat oral PK | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | NPG | ASV | | $C_{max}$/ng·mL$^{-1}$ | AUC/h·ng·mL$^{-1}$ |
| **12a** | Me | Me | 8 | 28 | 20 | 207 | 2 300 |
| **12b** | Et | Me | 6 | 13 | 19 | 113 | 1 537 |
| **12c** | *i*-Pr | Me | 4 | 11 | 31 | 143 | 1 783 |
| **12d** | *c*-Bu | Me | 9 | 38 | 84 | – | – |
| **12e** | *i*-Bu | Me | 14 | 43 | 142 | – | – |
| **12f** | *i*-Pr | Et | 5 | 7 | 24 | 149 | 1 920 |
| **12g** | *i*-Pr | *c*-Pr | 23 | 30 | 224 | – | – |
| **12h** | *i*-Pr | C(O)Me | 3 | 4 | 79 | 16 | 30 |
| **12i** | *i*-Pr | Me | 6 | 12 | 43 | 40 | 329 |
| **12j** | *i*-Pr | Me | 8 | 14 | 57 | 107 | 1 392 |

的羟基发生氢键结合), 也提高了对野生型的选择性, 但大鼠药代损失严重; ⑤ 考察进入溶剂相的碱性侧链对新类型化合物的影响, 在众多环状胺化物中**12i**和**12j**两个对映体的活性和选择性都不错, 但*R*构型的口服利用度显著低于*S*构性, 提示助溶侧链可能影响吸收和/或代谢。

综上, SAR提示在奥希替尼的5-位引入异丙酯基(**12c**), 在对三突变EGFR的抑制强度、对野生型的选择性、实验动物的初步药代性质等, 显示出是最优化的分子。

## 4 候选物的确定和莫博替尼的上市

进一步评价化合物**12c**对患者EGFR发生突变的细胞的抑制活性, 如前所述, Ba/F3细胞外显子19缺失和L858R突变, 二次突变的del-T790M和L858R-T790M, $IC_{50}$值分别为2.7、3.3、6.3和21.3 nmol·L$^{-1}$。最常见的外显子20插入表达NPH、SVD和ASV的细胞活性$IC_{50}$值分别为18.1、22.5和11 nmol·L$^{-1}$, 对野生EGFR的A431细胞的$IC_{50}$值34.5 nmol·L$^{-1}$, 而对未转染的Ba/F3祖细胞$IC_{50}$值3 946 nmol·L$^{-1}$, 提示具有较高选择性 (Huang WS, Li F, Gong Y, et al. Discovery of mobocertinib, a potent, oral inhibitor of EGFR exon 20 insertion mutations in non-small cell lung cancer. Bioorg Med Chem Lett, 2023, 80: 129084)。经临床前和临床试验表明, **12c**对具有EGFR包括外显子20插入的多突变基因的局部晚期或转移性NSCLC成人患者有显著疗效, 定名为莫博替尼 (mobocertinib), 于2021年FDA批准上市, 我国于2023年上市 (Wang J, Lam D, Yang J, et al. Discovery of mobocertinib, a new irreversible tyrosine kinase inhibitor indicated for the treatment of non-small-cell lung cancer harboring EGFR exon 20 insertion muta-

tions. Med Chem Res, 2022, 31: 1647−1662)。

## 5 莫博替尼的结合模式

莫博替尼与三双突变EGFR激酶复合物晶体衍射显示 (图3), 嘧啶环的N1和桥连的NH与Met793骨架发生氢键相连, 酰基异丙酯的羰基氧与Thr-790形成氢键, 迈克尔基团与Cys797发生共价加成, 助溶的氨基侧链位于溶剂通道处。这些与奥希替尼的结合模式相同。不同的是莫博替尼的5-异丙酯基进入一个新的腔穴, 而奥希替尼无此结合, 可认为是作用于外显子20插入突变的有效抑制剂之所在。

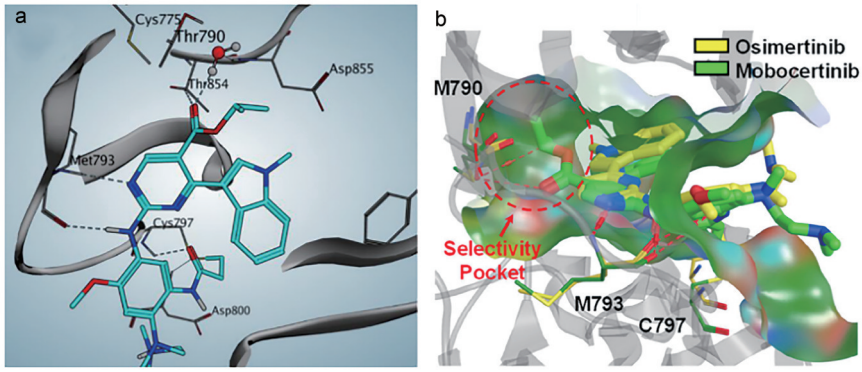



**Figure 3** a: NPG EGFR/ V948R in complex with mobocertinib; b: The overlap of binding mode of osimertinib (yellow) and mobocertinib (green) with EGFR kinase binding site