

大环化策略在EGFR抑制剂研发领域的最新进展

陈士超, 周庆发*

中国药科大学理学院, 江苏 南京

收稿日期: 2026年3月2日; 录用日期: 2026年3月14日; 发布日期: 2026年5月14日

摘要

针对奥希替尼耐药(尤其是C797S突变)导致的治疗困境, 第四代EGFR抑制剂的研发重点已从“抑制突变”转向“在高ATP竞争环境中实现高效且选择性抑制”。大环化策略通过构象限制, 将分子预组织为活性构象, 降低结合熵损失, 提升对EGFR三重突变体的抑制效力与选择性。本文综述了BI-4020、4-吡啶基-2-苯胺基嘧啶和二氨基嘧啶三类大环抑制剂的设计逻辑与优化路径, 展示了大环化在解决“效力-选择性-细胞活性”协同优化中的关键作用, 并讨论了其面临的构象可预测性、成药性与合成复杂度等挑战。

关键词

大环化, EGFR抑制剂, 耐药性

Recent Advances in Macrocyclic Strategies for EGFR Inhibitor Development

Shichao Chen, Qingfa Zhou*

School of Science, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu

Received: March 2, 2026; accepted: March 14, 2026; published: May 14, 2026

Abstract

Addressing the therapeutic challenges posed by osimertinib resistance (particularly the C797S mutation), the development focus of fourth-generation EGFR inhibitors has shifted from “mutation inhibition” to “achieving potent and selective inhibition in high ATP-competitive environments.” Macrocyclic strategies pre-organize molecules into active conformations through conformational constraints, reducing binding entropy loss and enhancing inhibitory potency and selectivity against

*通讯作者。

文章引用: 陈士超, 周庆发. 大环化策略在 EGFR 抑制剂研发领域的最新进展[J]. 药物化学, 2026, 14(2): 127-138.
DOI: 10.12677/hjmce.2026.142013

triple-mutant EGFR. This review summarizes the design rationale and optimization pathways for three classes of macrocyclic inhibitors—BI-4020, 4-indolyl-2-anilino-pyrimidine, and diamino-pyrimidine. It demonstrates macrocyclization’s pivotal role in synergistically optimizing “potency-selectivity-cell activity” and discusses challenges including conformational predictability, drugability, and synthetic complexity.

Keywords

Macrocyclization, EGFR Inhibitor, Drug Resistance

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺癌仍然是全球癌症相关死亡的主要原因之一,2020年约有180万人死于肺癌[1]。从组织学分类看,非小细胞肺癌(NSCLC)约占全部病例的85%,其中EGFR激酶结构域的激活突变是重要致癌驱动因素之一[2]。在临床上,外显子19缺失(ex19del)和外显子21的L858R点突变最为常见。过去二十年来,三代EGFR酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)的相继获批,显著改变了携带这些突变患者的治疗格局[3]。

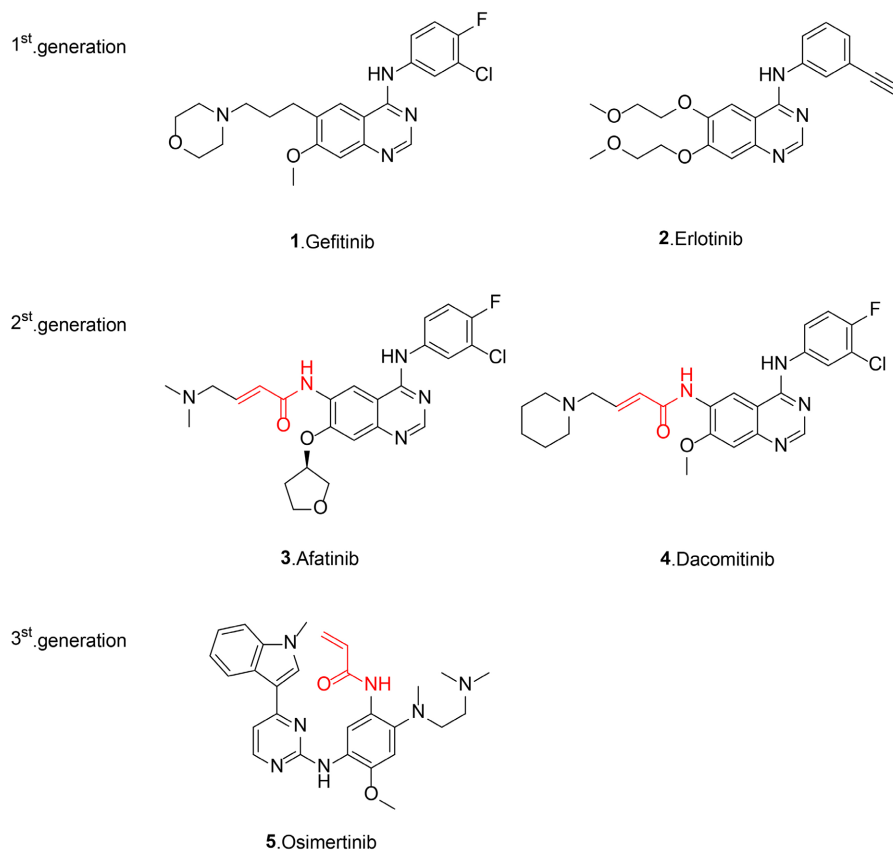


Figure 1. Small-molecule EGFR inhibitors approved by the U.S. FDA

图 1. 美国 FDA 批准的小分子 EGFR 抑制剂

第一代可逆性抑制剂吉非替尼 **1** 与厄洛替尼 **2** (见图 1) 通过与 ATP 竞争性结合激酶口袋确立了早期标准治疗方案[4]-[6]。然而, 获得性耐药往往在治疗后约 9~15 个月内出现, 其中最经典的机制是外显子 20 的“守门人” T790M 突变[7]-[9]。结构与动力学层面上, T790M 一方面对第一代抑制剂产生空间位阻, 另一方面显著提高受体对 ATP 的亲合力, 从而削弱可逆抑制剂的竞争能力[10]。为克服该问题, 第二代不可逆抑制剂(如阿法替尼 **3**、达可替尼 **4**)引入丙烯酰胺弹头(见图 1), 与 Cys797 的硫醇发生共价键合[11]。尽管其抑制能力更强, 但由于同时抑制野生型 EGFR (EGFR^{WT}) 引发剂量限制性毒性, 临床应用受到明显限制。第三代抑制剂奥希替尼 **5** (见图 1) 通过提高对突变体(尤其 T790M)的选择性并相对野生型保留选择性, 在疗效与安全之间取得更优平衡, 从而成为转移性 EGFR 突变 NSCLC 的关键治疗选择[12]-[14]。

尽管奥希替尼已成为转移性 NSCLC 的重要一线方案, 获得性耐药仍是持续挑战[15]。其中最具代表性的靶点耐药机制之一为 C797S 突变: Cys797 被非亲核性的 Ser 取代, 使第三代抑制剂依赖的共价锚定策略失效[16] [17]。因而, 后奥希替尼时代的药物设计往往需要回到“可逆结合”框架。但在细胞内高浓度 ATP 竞争环境下, 实现对三突变体(ex19del/T790M/C797S)持续的纳摩尔级功能抑制, 同时尽量避免对 EGFR^{WT} 的抑制以保留安全窗口, 在结构设计 with 多目标优化层面均极具挑战性。这也构成了“第四代” EGFR 抑制剂研发的核心未满足需求。

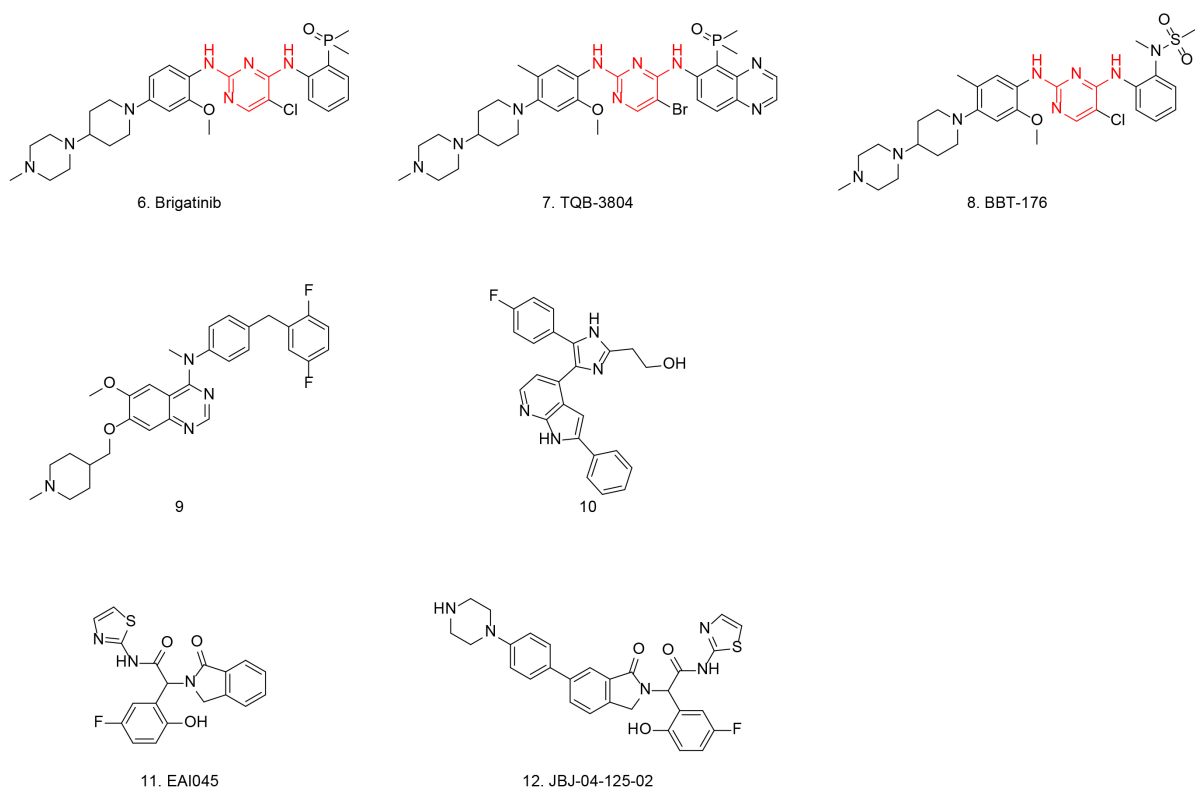


Figure 2. Chemical structures of representative fourth-generation EGFR inhibitors
图 2. 代表性第四代 EGFR 抑制剂的化学结构

在这一未满足需求驱动下, 开发选择性小分子 EGFR^{T790M/C797S} 抑制剂被视为克服新突变介导耐药的重要策略之一。目前已报道多类针对 EGFR^{T790M/C797S} 的抑制剂(见图 2)。其中包括可逆 ATP 竞争性抑制剂, 例如布加替尼 **6** 及其衍生物(如 TQB3804(**7**)与 BBT-176(**8**)) [18]-[20], 这类抑制剂通过与 EGFR 的

ATP 结合口袋竞争 ATP, 从而抑制 EGFR 的激酶活性。非共价 ATP 竞争性抑制剂设计的关键在于, 它们需要在细胞内高 ATP 浓度的竞争环境中仍能有效抑制 EGFR。针对 T790M、C797S 突变, 非共价 ATP 竞争性抑制剂能够通过优化分子结构来增强与突变体的结合亲和力, 克服 ATP 竞争带来的挑战。

此外还有多种不同化学类型的可逆分子框架, 如唑啉类分子 **9**、三取代咪唑衍生物 **10** [21] [22]。共价可逆抑制剂通过与 EGFR 特定氨基酸残基(如 Cys797)形成可逆性共价键, 增强对突变体(如 T790M、C797S)的抑制效果。这种设计策略能够较好地应对第三代抑制剂(如奥希替尼)失效的问题, 尤其是在 C797S 突变的存在下, 共价键可以稳定结合, 提高抑制效力。这类抑制剂的设计侧重于维持可逆性共价结合的特性, 使其在治疗耐药性时既能有效抑制突变体, 又不会对野生型 EGFR 造成过度抑制, 减少副作用。

同时, 研究也扩展至非经典设计路径, 包括以及靶向非 ATP 位点的变构抑制剂, 其基本原理是通过靶向 EGFR 的非 ATP 结合位点, 改变 EGFR 的构象, 从而抑制其活性。这些抑制剂并不直接竞争 ATP 结合, 而是通过改变 EGFR 的三维结构, 阻止其激酶活性的激活。这种策略可以有效克服由 T790M、C797S 等突变引起的耐药性, 且具有较好的选择性。变构抑制剂的优点是可以避免 ATP 竞争的直接干扰, 从而减少对野生型 EGFR 的抑制, 降低毒性(如 EAI045(**11**)、JBJ-04-125-02(**12**)) [23] [24]。这些进展表明, 针对 C797S 相关耐药的化学空间已出现多条可行探索路线, 但不同机制与骨架之间在细胞转化性与安全窗方面仍存在显著差异。

需要指出的是, 多数可逆 ATP 竞争性 EGFR^{T790M/C797S} 抑制剂在耐药癌细胞中往往表现出相对有限的抗增殖活性[25]-[30]。这一现象具有明确的生物物理基础: T790M 突变会提高受体对 ATP 的结合亲和力, 叠加细胞内 ATP 浓度处于 mM 水平, 使可逆竞争性抑制剂在细胞环境下面临更强的底物竞争, 从而降低生化抑制向细胞通路抑制与增殖抑制的转化效率。由此, 第四代抑制剂的评价标准不应仅依赖生化 IC₅₀, 而需要更强调在高 ATP 竞争条件下的细胞靶点调控能力、突变体依赖性抗增殖效应及其与野生型 EGFR 抑制之间的窗口关系。

尽管存在上述挑战, 已有候选分子进入临床验证阶段。TQB3804(**7**)是布加替尼的类似物, 已进入临床试验, 基于其出色的临床前数据来评估其耐受性和患者的药代动力学特征。然而, 迄今为止尚未披露 TQB3804(**7**)的临床试验结果。Blueprint Medicines 披露的 BLU-945 (结构未公开)在奥希替尼耐药 NSCLC 模型中显示出较强的临床前体内抗肿瘤活性, 目前处于 I/II 期临床试验(NCT04862780) [31]。BBT-176 也已进入 I/II 期, 用于治疗携带 EGFR^{C797S} 突变且既往 EGFR-TKI 治疗后进展的 NSCLC 患者(NCT04820023) [32]。此外, 变构抑制剂在与 EGFR 抗体联合时, 已在 EGFR^{L858R/T790M/C797S} 三重突变模型中显示出较强的体外与体内抗肿瘤活性, 但其对临床更常见的 EGFR^{19del/T790M/C797S} 的作用相对受限, 被认为与外显子 19 缺失突变体缺乏相应变构空腔有关。上述事实提示, 针对 C797S 相关耐药的药物研发正在向临床推进, 但不同突变背景与作用机制之间可能需要差异化的分子设计与治疗策略。

总体而言, 后奥希替尼时代的关键难点正在从“能否抑制突变体”转向“能否在细胞高 ATP 竞争环境中实现可转化的功能抑制, 同时维持突变体/野生型选择性并获得可接受的开发属性”。

在此背景下, 大环化(macrocyclization)被越来越多地视为解决上述矛盾的重要药物化学策略。大多数小分子在溶液中以多种构象共存, 而与靶标结合时往往需要进入特定的生物活性构象; 若溶液中有效构象占比低, 则会在结合过程中付出显著的构象整理代价, 表现为焓/熵层面的能量惩罚。通过构象限制将分子“预组织化”为更接近生物活性构象的状态, 可在不必无限叠加极性相互作用的前提下提高有效结合概率, 增强功能效应。大环化正是实现构象限制与构象微调的有效手段之一: 在理想情况下, 它既能降低结合时的构象熵损失, 又能通过三维形状互补性更精细地区分突变体与野生型的口袋微环境, 从而为选择性与效力的协同优化提供结构基础[33]。

从实践角度看, 大环化通常依赖于线性先导物的结构信息(晶体学、NMR 或可靠建模), 尤其适用于先导物在结合态呈 U 形或 C 形构象、分子两端距离较短的情形; 此时通过闭环将关键片段锁定在更有利的空间投影, 往往能够显著改变分子整体性质, 而不仅是“线性骨架和连接体”的简单叠加。一般将含有至少 12 个原子的环结构定义为大环骨架, 大环策略作为改善激酶抑制剂药物特性的技术近年来受到广泛关注[33]。

大环体系能够将分子预先组织为特定的三维构象, 并可通过引入螺环或桥环单元进一步强化大环骨架。迄今为止, FDA 已批准三种小分子大环激酶抑制剂——lorlatinib、pacritinib 和 repotrectinib——这充分显示了该策略的重要临床应用潜力。与其线性类似物相比, 大环激酶抑制剂通常表现出更高的结合亲和力和, 并能够有效克服由激酶结构域点突变所介导的耐药机制[33][34]。此外, 大环化带来的构象刚性还有助于改善化合物的选择性特征[35], 其原因在于这种构象约束能够增强分子对激酶活性位点的精准识别, 并减少脱靶相互作用[36]。同时, 引入大环支架还可在一定程度上优化药代动力学性质, 例如提高细胞通透性和口服生物利用度[37]。不过, 也应当认识到, 大环化并非毫无代价的“万能钥匙”: 其构效关系往往对细微结构变化更为敏感, 合成与工艺放大难度也更高, 同时分子量和极性参数的增加还可能带来溶解度、清除率及口服暴露等方面的开发风险。因此, 在推进大环激酶抑制剂设计时, 除关注效力与选择性外, 还需同步开展理化性质与 DMPK 参数的系统性工程优化。

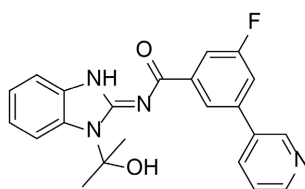
基于此, 本综述将围绕代表性大环 EGFR 抑制剂的研究, 系统梳理其设计逻辑、关键 SAR 拐点以及细胞与体内证据链, 并进一步讨论大环策略在选择性、理化性质与可制造性方面仍需解决的共性问题。

2. EGFR 的大环抑制剂

2.1. 先把 EGFRwt 放开, 再把效力做上去的 BI-4020

2019 年, Harald 等人的研究从临床需求反推下一代 EGFR-TKI 的目标产品特征: 应对最常见的激活突变 del19, 同时不受 T790M 与/或 C797S 的影响, 并降低对 EGFRwt 的抑制以避免皮疹、腹泻等 on-target 毒性, 同时在全激酶组范围保持高选择性[38]。

在化合物起点上, 作者并未从“强效但选择性不够”的分子强行改造, 而是先在内部“选择性激酶抑制剂库”中筛一个对 EGFR^{del19/T790M/C797S} 具有中等效力但高度选择性的氨基苯并咪唑命中物 **13**: 其对 EGFR^{L858R/T790M/C797S} 的 IC₅₀ 为 2100 nM, 对 EGFR^{del19/T790M/C797S} 的 IC₅₀ 为 250 nM, 且对 EGFR^{wt} 未见可测抑制(见图 3); 该库是由 1826 个针对全激酶组设计的“高度选择性抑制剂”组成。



13

Biochemical potency (BaF₃ cells)
p-EGFR C797S/T790M/del19 IC₅₀=790 nM
Anti-Proliferation Potency (BaF₃ cells)
EGFR del19/C797S/T790M IC₅₀=250 nM
EGFR L858R/C797S/T790M IC₅₀=2100 nM

Figure 3. Schematic diagram of the chemical structure of compound 13

图 3. 化合物 13 的化学结构示意图

后续优化的关键不是简单“加疏水、堆亲和力”，而是围绕结构假设逐步提升结合效率与构象预组织：在开放链系列中先完成必要的结构修饰以维持选择性窗口，随后通过“大环化实现完全刚性化”把分子构象空间压缩到更接近“活性构象”。文中给出了从 **14** 到 **15** 的直接证据：对开链分子 **14** 进行大环化得到 **15** 后，EGFR^{del19/T790M/C797S} 的 IC₅₀ 从 35 nM 提升至 27 nM。

在大环骨架确立后，作者继续用“结构导向的小改动”扩大野生型保留选择性：例如通过恢复与 Lys745 相关的关键相互作用得到 **16**，EGFR^{del19/T790M/C797S} IC₅₀ 为 6 nM，但野生型保留选择性比值仅 45；后续在进入甲基手性中心以优化得到 **17**，使 EGFR^{del19/T790M/C797S} IC₅₀ 进一步到 1 nM，且野生型保留选择性比值为 1100。

最终优化体 BI-4020 体现为强效，野生型保留选择性，高激酶谱选择性和体内药效闭环。在激酶谱方面，作者用不同规模面板(30/238/394 激酶)评估并强调其高选择性；在 EGFR 酶抑制方面，EGFR^{WT} IC₅₀ 为 190 nM (见图 4)。

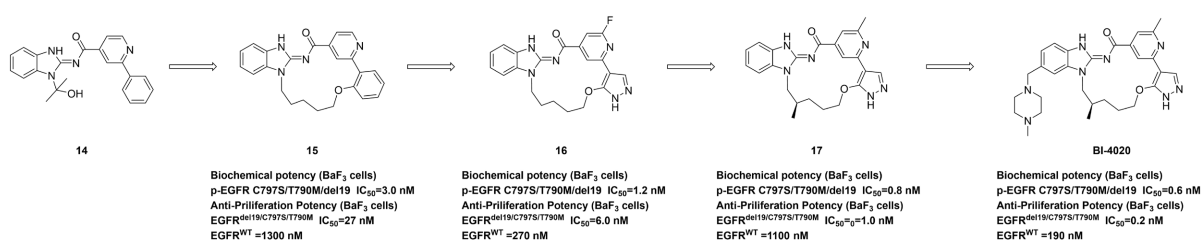


Figure 4. Schematic diagram of the chemical structure of compound 14-BI-4020

图 4. 化合物 14-BI-4020 的化学结构示意图

该工作解决的核心问题是：在“多突变体强效抑制”与“野生型保留选择性”之间给出可重复的化学路径，并将大环化从“可选修饰”提升为“关键成功因子”。作者在结论中也明确提出该类化合物将继续被深入画像与推进候选物筛选。

与之伴随的新问题与后续改进方向主要来自两类约束。其一是大环体系的可开发性，大环通常带来合成复杂度与构象敏感性，导致 SAR 可预测性下降，后续需要更系统的可制造性与大规模制备评估。

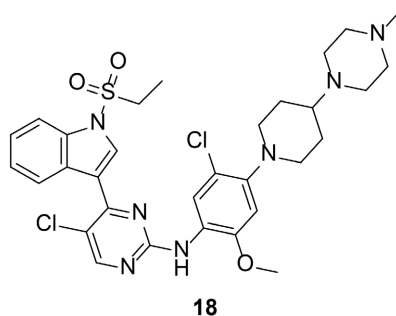
其二是耐药谱与联合治疗空间——该研究聚焦 T790M/C797S 复合突变的 ATP 口袋抑制，后续仍需在更广泛耐药背景下验证是否存在新的逃逸机制与组合策略需求

2.2. 以“杂合骨架和 Lys745 作用点和构象锁定”为主线的大环 4-吡啶基-2-苯胺基嘧啶体系：从生化强到细胞强，再追求选择性与可转化

2022 年，Chen 等人开展了以“结构杂交和构象约束”为核心的药物化学探索，设计了一系列构象受限的 4-吡啶基-2-苯胺基嘧啶衍生物作为新型突变选择性 EGFR 抑制剂[39]。

在分子设计上，以可逆 ATP 竞争型参考分子 **6** 的通用骨架为基础，引入来自奥希替尼 **5** 的吡啶基片段以增强对突变体选择性，并在吡啶 1 位引入磺酰基，期望与催化残基 Lys745 形成氢键以补偿失去 Ser/Cys797 共价键后的能量缺口；初步对接结果显示，杂交分子可采用与布格替尼 **6** 相似的结合方式进入 EGFR^{T790M} 口袋。

在早期未成环的线状分子系列中，虽然部分化合物在生化层面显示低纳摩尔抑制，但细胞表现并不理想：例如 **18** 在 Ba/F3-EGFR^{L858R/T790M/C797S} 的增殖 IC₅₀ 为 0.41 μM，同时对 Ba/F3 亲本细胞 IC₅₀ 为 1.32 μM (见图 5)；作者将这种“生化强、细胞弱”的偏差归因于细胞内 mM 级 ATP 竞争以及可能的细胞通透性不足，同时也提示部分化合物存在激酶谱选择性欠佳。



18

Ba/F3(L858R/C797S/T790M) IC_{50} = 410 nM
Ba/F3 parental IC_{50} = 1320 nM

Figure 5. Schematic diagram of the chemical structure of compound 18

图 5. 化合物 18 的化学结构示意图

因此, 研究进入“结构导向大环化”的阶段: 选择苯环 3 位与吡啶 5'/6'位作为成环连接点, 并将 1-甲基-4-(哌啶-4-基)哌嗪替换为较低碱性的吗啉以期改善通透性, 同时用不同碳数烷氧链控制大环构象(见图 6)。

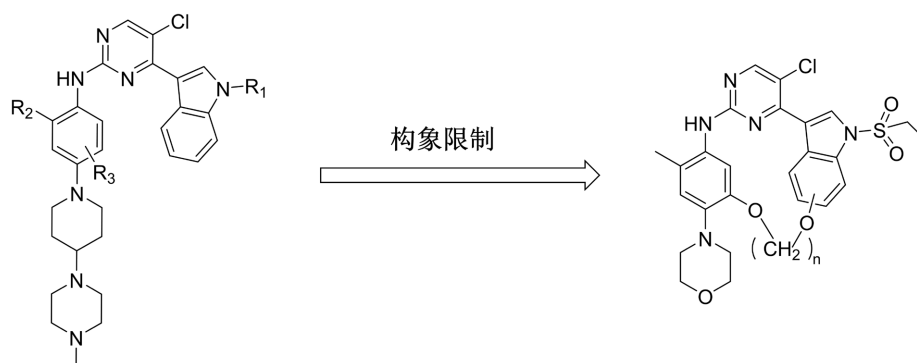


Figure 6. Design strategies for macrocyclic compounds

图 6. 大环化合物的设计策略

在这一策略下, 连接链长度对活性影响显著: 6 碳连接的 **19** 对 EGFR^{L858R/T790M/C797S} 的生化 IC_{50} 为 6.2 nM, 而 5/7/8 碳连接体活性下降 3~23 倍, 4 碳连接体几乎失活; **18c** 在 Ba/F3-EGFR^{L858R/T790M/C797S} 的增殖 IC_{50} 为 16 nM, 对 Ba/F3 亲本细胞约低 18 倍。共晶结构进一步确认: 2-氨基嘧啶与铰链区形成双齿氢键, 磺酸酯与 Lys745 形成两条氢键, 氯原子与 gatekeeper Met790 发生疏水/范德华作用, 且 20 元大环将分子锁定在“未翻转”构象(见图 7)。

在更进一步的迭代中, 大环体系里出现了可在细胞层面体现优势的候选物: **18j** 对 EGFR^{19del/T790M/C797S} 与 EGFR^{L858R/T790M/C797S} 的生化 IC_{50} 分别为 15.8 nM 与 23.6 nM; 对 Ba/F3-EGFR^{L858R/T790M/C797S} 与 Ba/F3-EGFR^{19del/T790M/C797S} 的增殖 IC_{50} 分别为 0.036 μ M 与 0.052 μ M, 并在 PC-9-OR (EGFR^{19del/T790M/C797S}) 中给出 0.644 μ M 的增殖抑制; 同时对 A431 (EGFR^{wild type}) 与亲本 Ba/F3 的抑制更弱, 体现一定的选择性(见图 7)。

该工作解决的问题在于: 在“可逆抑制和细胞 ATP 竞争”这一现实条件下, 用“大环锁构象和 Lys745 作用点”将一类在生化层面有效但细胞层面不足分子, 推进到具有明确细胞抑制信号的阶段。与之相应出现的新问题也较清晰: 其一, PC-9-OR 仍停留在亚微摩尔水平, 距离体内用药强度与暴露效

应关系仍有提升空间；其二，作者已指出早期分子存在选择性与通透性问题，提示后续需要在激酶谱选择性、细胞暴露与 DMPK 上继续做系统优化与体内验证。

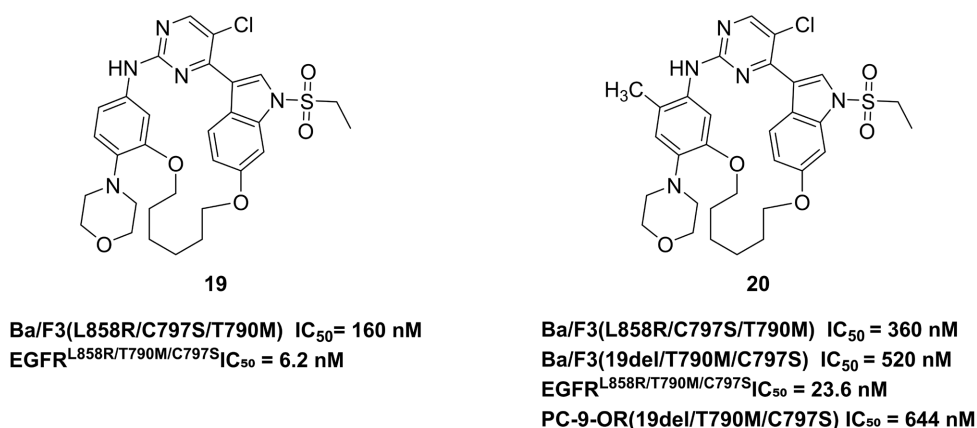


Figure 7. Schematic diagrams of the chemical structures of compounds 19 and 20
图 7. 化合物 19, 20 的化学结构示意图

2.3. 基于“锁定奥希替尼翻转构象”的二氨基嘧啶大环：在保持突变体选择性的同时显著提高细胞活性

2024 年, Hu 等人明确指出: 尽管已有若干第四代候选(包括大环 BI-4020 等)显示前临床潜力, 但目前针对携带 T790M/C797S 复合突变(特别是三突变背景)的 NSCLC 仍缺乏已获批的小分子治疗[40]。

其分子设计起点来自对奥希替尼关键片段构象的认识: 既往研究显示奥希替尼的甲基吡啶在结合 EGFR^{T790M} 时可呈“翻转”与“未翻转”两种构象, “翻转”构象通过与 Met790 更充分相互作用而贡献突变体选择性; 而在 EGFR^{wt} 结合时该片段会翻转 180° 呈“未翻转”。因此, 该研究采用“大环构象约束”将甲基吡啶的“翻转”构象刚性化, 以期在维持 T790M 选择性的同时获得对 T790M/C797S 的高效抑制。

在实施层面, 作者首先设计了带不同长度酰胺连接链的大环分子, 并在生化 ELISA 体系中同时评估 EGFR^{wt} 与多种耐药相关突变体。初筛中, 4 碳连接的 **21** 对 EGFR^{19del/T790M/C797S} 的 IC₅₀ 为 130.4 nM (见图 8), 且表现出一定的野生型保留选择性; 作者据此认为大环策略在该体系中有效, 并将后续优化重点放在进一步提升抑制效力, 同时结合已有共晶信息强调磷酸氧基团与 Lys745 的氢键作用可能对 C797S 突变体抑制至关重要。

随后一轮优化得到生化层面极强的候选分子, 例如 **22** 对 EGFR^{L858R/T790M}、EGFR^{L858R/T790M/C797S}、EGFR^{19del/T790M/C797S} 的 IC₅₀ 分别为 2.0、28.5、1.6 nM (见图 8), 并对特定疏水口袋的取代体体积敏感性提出解释。然而, 作者同时给出了关键“反例”: 尽管 **22** 在生化层面强效, 但在转染 Ba/F3 细胞中几乎都缺乏显著的“靶标差异化”增殖抑制(IC₅₀ > 1 μM), 并将原因归结为细胞内 ATP 竞争与可能的细胞通透性不足, 强调需要进一步结构优化以获得在癌细胞中对 C797S 突变体的强效与选择性抑制。

在结构导向迭代后, 代表性化合物 **23** 实现了从“生化强但细胞弱”到“细胞强且具选择性窗”的跨越: 其对 EGFR^{19del/T790M/C797S} 与 EGFR^{L858R/T790M/C797S} 的生化 IC₅₀ 分别为 2.3 nM 与 12.5 nM; 对 Ba/F3-EGFR^{19del/T790M/C797S} 与 Ba/F3-EGFR^{L858R/T790M/C797S} 的增殖 IC₅₀ 分别为 41 nM 与 52 nM; 在 PC-9-OR (EGFR^{19del/T790M/C797S}) 中增殖 IC₅₀ 为 56 nM, 并显示对亲本 Ba/F3 与 A431 的选择性(见图 8)。此外, 摘要明确其在 Ba/F3-EGFR^{19del/T790M/C797S} 异种移植瘤模型中具有抗肿瘤疗效。

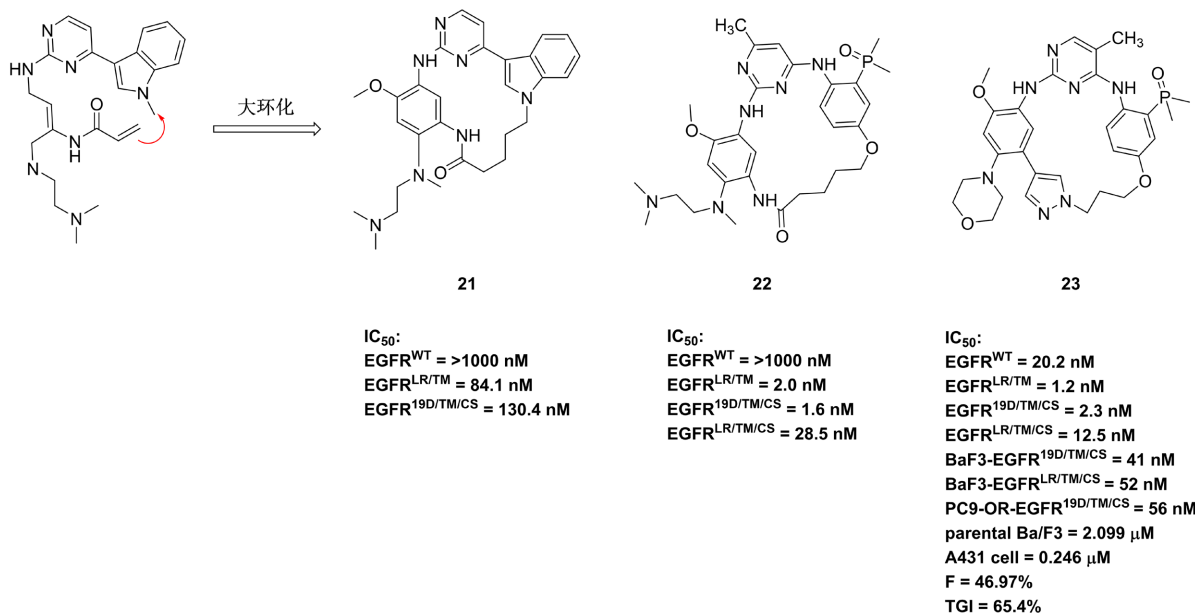


Figure 8. Schematic diagrams of the chemical structures of compounds 21, 22, and 23
图 8. 化合物 21, 22, 23 的化学结构示意图

这项研究解决的问题在于：在奥希替尼构象选择性明确的基础上，用大环化把“选择性构象”从可变状态变成结构内刚性属性，并在保留突变体效力的同时显著提升细胞层面活性与体内药效可见性。其带来的新问题与后续改进方向也由作者数据自然引出：前期强效生化抑制并不必然转化为细胞强效，提示该类可逆大环抑制剂仍需在“ATP 竞争、细胞暴露、选择性谱与 DMPK”之间进行更系统的多目标优化与机制验证。

3. 讨论

三项研究在科学问题上高度一致：面对 T790M/C797S 等复杂耐药组合，单纯依赖“堆活性”的分子往往会牺牲野生型保留选择性或激酶谱选择性；而仅追求选择性又可能因效力不足而难以建立体内暴露-药效关系。大环化在这里被反复证明是一种可操作的“能量学与构象工程”手段：通过降低构象熵损失、预组织化结合构象、并在关键口袋(如 Met790 相互作用区、Lys745 相互作用区)强化定向作用，从而在多突变体上获得更稳定的抑制性能。

差异化贡献体现在“从哪里开始做大环”与“大环为哪个瓶颈服务”。BI-4020 的路径强调先在选择性库中找到野生型保留选择性的正确起点，再用大环化完成“完全刚性化”以把效力拉到可转化水平，并形成强有力的体内回归证据。另一个大环 4-吡啶基-2-苯胺基嘧啶体系则展示了“生化强但细胞弱”如何通过结构解析与大环锁构象得到改善，并明确指出 ATP 竞争与通透性是可逆抑制剂跨越细胞门槛的关键变量。二氨基嘧啶大环体系进一步把“奥希替尼选择性构象来源”转化为可设计规则，通过锁定翻转构象与结构导向迭代获得纳摩尔级细胞活性与体内疗效线索。

4. 未来展望

EGFR 大环抑制剂的研究已证明，大环化能够在突变体选择性与效力之间提供新的结构自由度，但其进一步走向临床仍面临多重可预见的挑战，这些挑战往往在化合物由“命中物/先导物”迈向“候选药物”的过程中被放大。

(1) 构象预测与计算设计挑战

大环体系的 SAR 对微小结构变化高度敏感, 环张力与构象熵的耦合导致从溶液低能构象向结合构象的可预测性降低。传统“加基团 - 测活性”的线性迭代效率有限, 而现有计算模拟对接和评分方法在大环体系中仍不够可靠。未来需要发展高质量、可迁移的构象采样与自由能评估方法, 并结合实验结构信息(共晶、HDX、NMR 或系统性构象探针)建立“构象 - 活性 - 选择性”可验证链条。同时, AI 驱动的生成策略应将构象约束作为硬指标, 通过分子动力学、自由能计算及实验回证评估模型在不同骨架和靶点上的泛化能力, 以提高大环分子设计的可靠性和可重复性。

(2) 合成复杂性与关键关环反应

大环合成仍是快速迭代和放大生产的主要瓶颈。高效的关环策略、模块化片段拼接以及可并行构建单元设计, 是确保在合理周期内完成足够 SAR 探索的关键。代表性的关环策略包括烷氧链闭环、酰胺连接及桥环/螺环形成反应。例如, 对于二氨基嘧啶大环体系, 可通过如下路线实现关键闭环:

先合成线性前体, 保证关键作用位点(如 Lys745)与核心骨架保持空间对接。通过酰胺化或烷氧链闭环形成大环骨架, 同时引入螺环/桥环以增强构象刚性。后续在闭环上进行官能团修饰(磺酰基、甲基化等)优化选择性和通透性。

此类策略在 BI-4020 和 4-吡啶基-2-苯胺基嘧啶体系中已被证明可有效提高构象刚性并改善细胞活性。同时, 早期进行可制造性(CMC)评估有助于避免工艺不可行导致的项目返工。

(3) 成药性与体内转化性优化

大环化通常伴随分子量和 TPSA 的增加, 这可能导致溶解度下降、代谢清除加快和口服生物利用度降低, 从而削弱体内功效。即便体外获得理想的突变体选择性窗, 也可能因体内自由药物浓度不足以覆盖 IC₅₀ 而限制疗效。后续优化应尽早纳入“体内暴露 - 靶点占用 - 药效”决策链, 通过精细调控连接链长度、极性基团和可离子化位点, 在维持选择性与构象刚性的同时改善 PK 性能。结合构象约束与药代学数据的系统优化, 将有助于实现大环抑制剂在细胞和体内的可转化活性。

(4) 耐药性与联合策略

EGFR 耐药谱仍在持续演化。即便针对 T790M/C797S 的 ATP 口袋抑制剂已取得一定进展, 临床上仍可能出现旁路激活、表型转化等耐药机制。因此, 未来的研发路径应将耐药预警实验(如饱和突变筛选)与联合治疗策略相结合, 例如与抗 EGFR 抗体、变构抑制剂或其他关键信号通路抑制剂联用; 同时, 在前临床模型的选择上, 应尽可能纳入更贴近临床异质性的研究体系, 以提升前临床结果向临床疗效转化的可预测性。

总体而言, EGFR 大环激酶抑制剂的下一阶段发展, 需要在构象设计、合成策略、成药性优化和耐药应对四个关键维度实现系统协同。随着药物化学、计算辅助设计以及高效合成方法的持续进步, 开发兼具高生物活性、高选择性和优良药代动力学特征的大环化合物, 将变得更加可行。

参考文献

- [1] Sharma, S.V., Bell, D.W., Settleman, J. and Haber, D.A. (2007) Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Lung Cancer. *Nature Reviews Cancer*, **7**, 169-181. <https://doi.org/10.1038/nrc2088>
- [2] Gridelli, C., Rossi, A., Carbone, D.P., Guarize, J., Karachaliou, N., Mok, T., *et al.* (2015) Non-Small-Cell Lung Cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, **1**, Article No. 15009. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.9>
- [3] Roskoski Jr, R. (2019) Small Molecule Inhibitors Targeting the EGFR/ErbB Family of Protein-Tyrosine Kinases in Human Cancers. *Pharmacological Research*, **139**, 395-411. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.11.014>
- [4] Paez, J.G., Jänne, P.A., Lee, J.C., Tracy, S., Greulich, H., Gabriel, S., *et al.* (2004) EGFR Mutations in Lung Cancer: Correlation with Clinical Response to Gefitinib Therapy. *Science*, **304**, 1497-1500. <https://doi.org/10.1126/science.1099314>

- [5] Shepherd, F.A., Rodrigues Pereira, J., Ciuleanu, T., Tan, E.H., Hirsh, V., Thongprasert, S., *et al.* (2005) Erlotinib in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*, **353**, 123-132. <https://doi.org/10.1056/nejmoa050753>
- [6] Lynch, T.J., Bell, D.W., Sordella, R., Gurubhagavatula, S., Okimoto, R.A., Brannigan, B.W., *et al.* (2004) Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib. *New England Journal of Medicine*, **350**, 2129-2139. <https://doi.org/10.1056/nejmoa040938>
- [7] Sequist, L.V., Waltman, B.A., Dias-Santagata, D., Digumarthy, S., Turke, A.B., Fidias, P., *et al.* (2011) Genotypic and Histological Evolution of Lung Cancers Acquiring Resistance to EGFR Inhibitors. *Science Translational Medicine*, **3**, 75ra26. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3002003>
- [8] Westover, D., Zugazagoitia, J., Cho, B.C., Lovly, C.M. and Paz-Ares, L. (2018) Mechanisms of Acquired Resistance to First- and Second-Generation EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors. *Annals of Oncology*, **29**, i10-i19. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx703>
- [9] Yu, H.A., Arcila, M.E., Rekhtman, N., Sima, C.S., Zakowski, M.F., Pao, W., *et al.* (2013) Analysis of Tumor Specimens at the Time of Acquired Resistance to EGFR-TKI Therapy in 155 Patients with EGFR-Mutant Lung Cancers. *Clinical Cancer Research*, **19**, 2240-2247. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-12-2246>
- [10] Yun, C., Mengwasser, K.E., Toms, A.V., Woo, M.S., Greulich, H., Wong, K., *et al.* (2008) The T790M Mutation in EGFR Kinase Causes Drug Resistance by Increasing the Affinity for ATP. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**, 2070-2075. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709662105>
- [11] Greig, S.L. (2016) Osimertinib: First Global Approval. *Drugs*, **76**, 263-273. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0533-4>
- [12] Roskoski Jr, R. (2023) Small Molecule Protein Kinase Inhibitors Approved by Regulatory Agencies Outside of the United States. *Pharmacological Research*, **194**, Article 106847. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106847>
- [13] Finlay, M.R.V., Anderton, M., Ashton, S., Ballard, P., Bethel, P.A., Box, M.R., *et al.* (2014) Discovery of a Potent and Selective EGFR Inhibitor (AZD9291) of Both Sensitizing and T790M Resistance Mutations That Spares the Wild Type Form of the Receptor. *Journal of Medicinal Chemistry*, **57**, 8249-8267. <https://doi.org/10.1021/jm500973a>
- [14] Soria, J.C., Ohe, Y., Vansteenkiste, J., Reungwetwattana, T., Chewaskulyong, B., Lee, K.H., *et al.* (2018) Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*, **378**, 113-125. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1713137>
- [15] Ramalingam, S.S., Vansteenkiste, J., Planchard, D., Cho, B.C., Gray, J.E., Ohe, Y., *et al.* (2020) Overall Survival with Osimertinib in Untreated, EGFR-Mutated Advanced NSCLC. *New England Journal of Medicine*, **382**, 41-50. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1913662>
- [16] Passaro, A., Jänne, P.A., Mok, T. and Peters, S. (2021) Overcoming Therapy Resistance in EGFR-Mutant Lung Cancer. *Nature Cancer*, **2**, 377-391. <https://doi.org/10.1038/s43018-021-00195-8>
- [17] Leonetti, A., Sharma, S., Minari, R., Perego, P., Giovannetti, E. and Tiseo, M. (2019) Resistance Mechanisms to Osimertinib in EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer. *British Journal of Cancer*, **121**, 725-737. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0573-8>
- [18] Uchibori, K., Inase, N., Araki, M., Kamada, M., Sato, S., Okuno, Y., *et al.* (2017) Brigatinib Combined with Anti-EGFR Antibody Overcomes Osimertinib Resistance in EGFR-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer. *Nature Communications*, **8**, Article No. 14768. <https://doi.org/10.1038/ncomms14768>
- [19] Wu, L., Liu, X., Ding, C., Chen, S., *et al.* (2020) Aryl-Phosphorus-Oxygen Compound as EGFR Kinase Inhibitor. U.S. Patent 20,200,207,768 A1.
- [20] Finlay, M.R.V., Barton, P., Bickerton, S., Bista, M., Colclough, N., Cross, D.A.E., *et al.* (2021) Potent and Selective Inhibitors of the Epidermal Growth Factor Receptor to Overcome C797S-Mediated Resistance. *Journal of Medicinal Chemistry*, **64**, 13704-13718. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01055>
- [21] Park, H., Jung, H.C., Mah, S. and Hong, S. (2017) Discovery of EGF Receptor Inhibitors That Are Selective for the D746-750/T790M/C797S Mutant through Structure-Based De Novo Design. *Angewandte Chemie International Edition*, **56**, 7634-7638. <https://doi.org/10.1002/anie.201703389>
- [22] Juchum, M., Günther, M., Döring, E., Sievers-Engler, A., Lämmerhofer, M. and Laufer, S. (2017) Trisubstituted Imidazoles with a Rigidized Hinge Binding Motif Act as Single Digit Nm Inhibitors of Clinically Relevant EGFR L858R/T790M and L858R/T790M/C797S Mutants: An Example of Target Hopping. *Journal of Medicinal Chemistry*, **60**, 4636-4656. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00178>
- [23] Jia, Y., Yun, C.H., Park, E., Ercan, D., Manuia, M., Juarez, J., *et al.* (2016) Overcoming EGFR(T790M) and EGFR(C797S) Resistance with Mutant-Selective Allosteric Inhibitors. *Nature*, **534**, 129-132. <https://doi.org/10.1038/nature17960>
- [24] To, C., Jang, J., Chen, T., Park, E., Mushajiang, M., De Clercq, D.J.H., *et al.* (2019) Single and Dual Targeting of Mutant EGFR with an Allosteric Inhibitor. *Cancer Discovery*, **9**, 926-943. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-18-0903>

- [25] Günther, M., Juchum, M., Kelter, G., Fiebig, H. and Laufer, S. (2016) Lung Cancer: EGFR Inhibitors with Low Nanomolar Activity against a Therapy-Resistant L858R/T790M/C797S Mutant. *Angewandte Chemie International Edition*, **55**, 10890-10894. <https://doi.org/10.1002/anie.201603736>
- [26] Günther, M., Lategahn, J., Juchum, M., Döring, E., Keul, M., Engel, J., *et al.* (2017) Trisubstituted Pyridinylimidazoles as Potent Inhibitors of the Clinically Resistant L858R/T790M/C797S EGFR Mutant: Targeting of Both Hydrophobic Regions and the Phosphate Binding Site. *Journal of Medicinal Chemistry*, **60**, 5613-5637. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00316>
- [27] Engel, J., Becker, C., Lategahn, J., Keul, M., Ketzer, J., Mühlenberg, T., *et al.* (2016) Insight into the Inhibition of Drug-Resistant Mutants of the Receptor Tyrosine Kinase EGFR. *Angewandte Chemie International Edition*, **55**, 10909-10912. <https://doi.org/10.1002/anie.201605011>
- [28] Lategahn, J., Keul, M., Klövekorn, P., Tumbrink, H.L., Niggenaber, J., Müller, M.P., *et al.* (2019) Inhibition of Osimertinib-Resistant Epidermal Growth Factor Receptor EGFR-T790M/C797S. *Chemical Science*, **10**, 10789-10801. <https://doi.org/10.1039/c9sc03445e>
- [29] Wittlinger, F., Heppner, D.E., To, C., Günther, M., Shin, B.H., Rana, J.K., *et al.* (2022) Design of a “Two-in-One” Mutant-Selective Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitor That Spans the Orthosteric and Allosteric Sites. *Journal of Medicinal Chemistry*, **65**, 1370-1383. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00848>
- [30] Li, Q., Zhang, T., Li, S., Tong, L., Li, J., Su, Z., *et al.* (2019) Discovery of Potent and Noncovalent Reversible EGFR Kinase Inhibitors of EGFR1858R/T790M/C797S. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, **10**, 869-873. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.8b00564>
- [31] Lim, S.M., Park, C.W., Zhang, Z., Woessner, R., Dineen, T., Stevison, F., *et al.* (2021) BLU-945, a Fourth-Generation, Potent and Highly Selective Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI) with Intracranial Activity, Demonstrates Robust *in Vivo* Antitumor Activity in Models of Osimertinib-Resistant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *Cancer Research*, **81**, Article No. 1467. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2021-1467>
- [32] Lim, S.M., Kim, D., Jung, J.E., Lee, G., Ryou, J., Kang, S., *et al.* (2021) A Phase I/II, Open-Label Study of BBT-176, a Triple Mutation Targeting EGFR TKI, in Patients with NSCLC Who Progressed after Prior EGFR TKI Therapy. *Annals of Oncology*, **32**, S1035. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.08.1966>
- [33] Yu, X. and Sun, D. (2013) Macrocyclic Drugs and Synthetic Methodologies toward Macrocycles. *Molecules*, **18**, 6230-6268. <https://doi.org/10.3390/molecules18066230>
- [34] Xing, K., Li, S., Li, J., Liu, D., Huang, M. and Zhao, L. (2025) Application of a Macrocyclization Strategy in Kinase Inhibitor Development. *Acta Materia Medica*, **4**, 1-35. <https://doi.org/10.15212/amm-2024-0070>
- [35] Viarengo-Baker, L.A. and Whitty, A. (2025) Macrocycles for Conventionally Druggable Targets: Lessons from Macrocyclic Kinase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, **68**, 15260-15284. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.4c02886>
- [36] Amrhein, J.A., Knapp, S. and Hanke, T. (2021) Synthetic Opportunities and Challenges for Macrocyclic Kinase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, **64**, 7991-8009. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00217>
- [37] Zhang, C., Liu, F., Zhang, Y. and Song, C. (2024) Macrocycles and Macrocyclization in Anticancer Drug Discovery: Important Pieces of the Puzzle. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **268**, Article 116234. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2024.116234>
- [38] Engelhardt, H., Böse, D., Petronczki, M., Scharn, D., Bader, G., Baum, A., *et al.* (2019) Start Selective and Rigidify: The Discovery Path toward a Next Generation of EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, **62**, 10272-10293. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01169>
- [39] Chen, H., Lai, M., Zhang, T., Chen, Y., Tong, L., Zhu, S., *et al.* (2022) Conformational Constrained 4-(1-Sulfonyl-3-Indolyl)-2-Phenylaminopyrimidine Derivatives as New Fourth-Generation Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitors Targeting T790M/C797S Mutations. *Journal of Medicinal Chemistry*, **65**, 6840-6858. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00168>
- [40] Hu, S., Tong, L., Qin, Q., Wen, J., Li, Y., Feng, F., *et al.* (2024) Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Diaminopyrimidine Macrocycles as Fourth Generation Reversible EGFR Inhibitors That Overcome Clinical Resistance to Osimertinib Mediated by C797S Mutation. *Journal of Medicinal Chemistry*, **67**, 20531-20558. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.4c01975>