

## Enzyminhibitoren

Deutsche Ausgabe: DOI: 10.1002/ange.201605011  
Internationale Ausgabe: DOI: 10.1002/anie.201605011

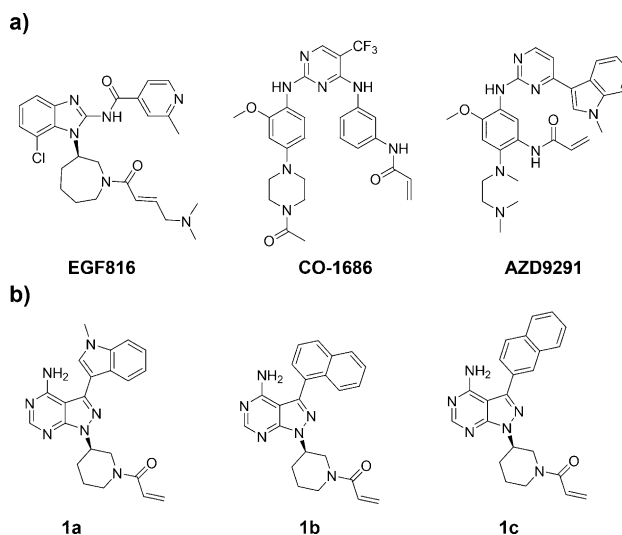
## Inhibition wirkstoffresistenter Mutationsvarianten der Rezeptortyrosinkinase EGFR

Julian Engel<sup>†</sup>, Christian Becker<sup>†</sup>, Jonas Lategahn, Marina Keul, Julia Ketzer, Thomas Mühlenberg, Laxmikanth Kollipara, Carsten Schultz-Fademrecht, René P. Zahedi, Sebastian Bauer und Daniel Rauh\*

**Abstract:** Die zielgerichtete Therapie erworbener Wirkstoffresistenz stellt die größte Herausforderung in der Behandlung von EGFR-abhängigem nicht-kleinzelligen Lungenkrebs (NSCLC) dar. Hier berichten wir über die strukturbasierte Entwicklung, Synthese und biologische Evaluierung einer neuen Klasse von kovalenten EGFR-Inhibitoren, die sich durch eine exzellente Inhibition wirkstoffresistenter, EGFR-mutierter Zellen auszeichnet. Röntgenkristallstrukturen in Kombination mit Bindungskinetiken führen zu einem tieferen Verständnis des Inhibitionsmechanismus in EGFR-T790M und liefern Erkenntnisse über Schlüsselaspekte für die effektive Inhibition der kürzlich entdeckten tertiären EGFR-C797S-Mutation.

Zielgerichtete Therapien haben die Behandlung von Krebspatienten grundlegend revolutioniert, verlieren jedoch häufig durch das Auftreten von Resistenzmutationen an Effektivität. Die EGFR-Inhibitoren der ersten Generation, Gefitinib und Erlotinib, erreichten objektive Ansprechraten von 50–80 % im EGFR-abhängigen nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC).<sup>[1]</sup> Während das mittlere progressionsfreie Überleben verdoppelt wurde, erfuhren über 80 % der Patienten innerhalb eines 18-monatigen Behandlungszeitraums eine Progression des Tumors. Durch Biopsien des resistenten Tumorgewebes wurde eine Punktmutation der Türsteher-Aminosäure (T790M) aufgedeckt.<sup>[2]</sup> Der Aus-

tausch des Threonins durch ein Methionin führt zur sterischen Abstoßung der Inhibitoren der ersten und zweiten Generation (Afatinib und Dacomitinib) und zu einer geringfügig veränderten Bindungsgeometrie, die in einem Verlust der inhibitorischen In-vitro- und In-vivo-Aktivität resultiert.<sup>[3]</sup> Die dritte Generation von EGFR-Inhibitoren (WZ4002, EGF816 (Nazartinib), AZD9291 (Osimertinib) und CO-1686 (Rociletinib)) wirkt ebenfalls kovalent und alkylt Cys797 am Rande der ATP-Bindungstasche, wobei diese im Gegensatz zur zweiten Inhibitorgeneration gezielt entwickelt wurden, um sterische Konflikte mit dem Türsteher (Met790) zu vermeiden (Abbildung 1 a).<sup>[4]</sup>



**Abbildung 1.** a) Dritte Generation von EGFR-Inhibitoren. b) Neue Serie kovalenter Pyrazolopyrimidine.

Eine effektive Behandlung von Patienten mit diagnostizierter EGFR-T790M-Mutation mit Tyrosinkinaseinhibitoren ist jedoch durch neue Resistenzmutationen eingeschränkt.<sup>[5]</sup> Die kürzlich in der Kinasedomäne entdeckte Resistenzmutation C797S verhindert die Bildung einer kovalenten Bindung der Inhibitoren der dritten Generation, wodurch diese ihre Wirksamkeit verlieren. Dieses Problem verdeutlicht die Notwendigkeit einer neuen Klasse an Inhibitoren, die effektiv die wirkstoffresistenten EGFR-Varianten (L858R/T790M und L858R/T790M/C797S) inhibiert.

Wir berichten hier über die strukturbasierte Entwicklung, Synthese und biologische Evaluierung einer neuen Klasse kovalenter Pyrazolopyrimidine mit hoher Affinität zum Me-

[\*] M. Sc. J. Engel,<sup>[†]</sup> M. Sc. C. Becker,<sup>[†]</sup> M. Sc. J. Lategahn, M. Sc. M. Keul, Prof. Dr. D. Rauh  
Technische Universität Dortmund  
Fakultät für Chemie und Chemische Biologie  
Otto-Hahn-Straße 4a, 44227 Dortmund (Deutschland)  
E-Mail: daniel.rauh@tu-dortmund.de

J. Ketzer, Dr. T. Mühlenberg, Prof. Dr. S. Bauer  
Abteilung Medizinische Onkologie, Sarkom-Zentrum, Westdeutsches Tumorzentrum, Universität Duisburg-Essen, Innere Klinik Hufelandstraße 55, 45122 Essen (Deutschland)  
und  
Deutsches Konsortium für Translationale Krebsforschung (DKTK) 69120 Heidelberg (Deutschland)  
Dr. C. Schultz-Fademrecht  
Lead Discovery Center  
Otto-Hahn-Straße 15, 44227 Dortmund (Deutschland)  
M. Sc. L. Kollipara, Dr. R. P. Zahedi  
Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften – ISAS – e.V.  
Otto-Hahn-Straße 6b, 44227 Dortmund (Deutschland)

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind unter: <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201605011> zu finden.

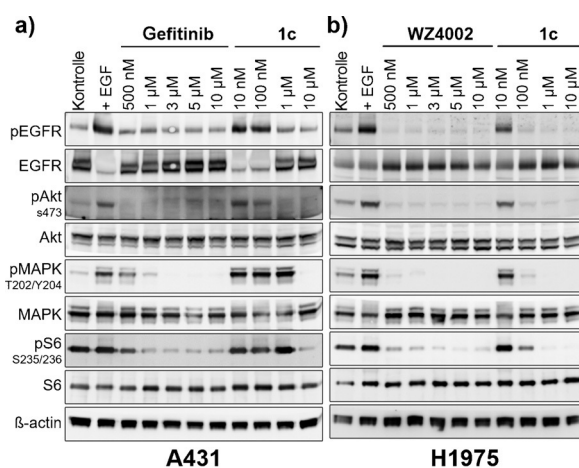
thionin-Türsteherrest zur spezifischen Adressierung der erworbenen Wirkstoffresistenzen in EGFR. Kristallstrukturen von repräsentativen Verbindungen dieser Serie im Komplex mit EGFR-T790M sowie kinetische Bindungsstudien lieferten nicht nur wertvolle Erkenntnisse über den Bindungsmodus der Verbindungen, sondern zeigten auch elementare Aspekte auf, um die kürzlich entdeckte C797S-Resistenzmutation zu adressieren. Wir fokussierten uns auf zwei Aspekte, die wir als entscheidend für die Entwicklung neuer EGFR-Inhibitoren mit Wirksamkeit gegen die T790M-Mutation erachteten. Wir zielten erstens darauf ab, einen kovalenten Inhibitor zu entwerfen, der mit einem hinsichtlich Geometrie und Orientierung optimierten Elektrophil zur Alkylierung von Cys797 versehen ist. Zweitens war es unser Ziel, eine sterische Interferenz mit dem Methionin-Türsteherrest zu vermeiden und gleichzeitig dessen hydrophoben Charakter für zusätzliche lipophile Wechselwirkungen zu nutzen, um Affinität sowie Selektivität für EGFR-T790M zu verbessern. Wir konzentrierten uns daher auf die 4-Aminopyrazolopyrimidin-Struktur, da diese ein bekanntes Element zur Bindung der Scharnierregion bietet und synthetisch gut zugänglich ist. Wir wählten als Michael-Akzeptor ein Acrylamid, das über einen 3-Piperidin-Substituenten eingebracht wurde (Abbildung 1b), wohingegen eine Derivatisierung an der C3-Position des Pyrazolopyrimidins erfolgte. Um mögliche positive Wechselwirkungen zwischen lipophilen Substituenten und Met790, bei gleichbleibendem Kontakt zur Scharnierregion, zu untersuchen, wurde eine neue allgemeine Syntheseroute für die Pyrazolopyrimidine **1a–c** etabliert (Abbildung S1). Wir evaluierten die inhibitorische Wirksamkeit der Verbindungen **1a–c** in der wirkstoffresistenten NSCLC-Zelllinie H1975 mit EGFR-L858R/T790M-Mutation und der Zelllinie A431 mit EGFR-Wildtyp (Tabelle 1). Die

**Tabelle 1:** Inhibition des Zellwachstums ( $GI_{50}$ ) von Referenzverbindungen und Pyrazolopyrimidinen.

Verbindung	$GI_{50}$ [ $\mu M$ ] für NSCLC-Zelllinien	
	A431 (WT)	H1975 (L858R/T790M)
<b>1a</b>	$8.9 \pm 5.7$	$0.21 \pm 0.07$
<b>1b</b>	$24 \pm 7.5$	$0.49 \pm 0.32$
<b>1c</b>	$3.6 \pm 1.5$	$0.14 \pm 0.06$
EGF816	$3.9 \pm 1.4$	$0.27 \pm 0.07$
CO-1686	$1.7 \pm 0.12$	$0.12 \pm 0.05$
AZD9291	$0.67 \pm 0.23$	$0.02 \pm 0.01$

gesamte Serie zeigte einen exzellenten inhibitorischen Effekt auf H1975-Zellen ( $0.21 \mu M$ ,  $0.49 \mu M$ , und  $0.14 \mu M$  für **1a**, **1b** und **1c**) mit einer geringeren Wirkung (26–49-fach) in A431-Zellen, was mit der in den aktivitätsbasierten Assays beobachteten Mutantenselektivität übereinstimmt. Des Weiteren charakterisierten wir **1a–c** sowie den EGFR-Inhibitor der dritten Generation WZ4002 als Referenzverbindung in zellulären Studien in A431- und H1975-Zellen in Hinblick auf deren Einfluss auf die Phosphorylierung von EGFR und weiterer Proteine in der nachgeschalteten Signalkaskade (Abbildung 2 und S1).

Die Behandlung der H1975-Zellen mit **1c** verursachte eine deutliche dosisabhängige Reduktion der Phosphorylie-



**Abbildung 2.** Western-Blot von **1c** in (a) A431 (EGFR-WT) und (b) H1975 (L858R/T790M) Zelllinien. Außer der Kontrolle wurden alle Zellen mit EGF ( $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ) stimuliert. Verbindung **1c** reduzierte die Phosphorylierung von EGFR und nachgeschalteter Proteine pAkt, pMAPK und pS6 in H1975-Zellen, zeigte aber keinen signifikanten Effekt in A431-Zellen.

rung von EGFR (Tyr1068), wohingegen der entsprechende Effekt in den A431-Zellen nur marginal war. Diese Beobachtungen stimmen mit den zuvor dargestellten Ergebnissen überein und stützen das bemerkenswerte mutantenselektive Inhibitionsprofil von **1c**.

Zudem zeigte **1c** einen Einfluss auf nachgeschaltete Phosphorylierungen in der EGFR-Signalkaskade und reduzierte den Anteil an pAkt, pMAPK und pS6 in H1975-Zellen. Zusätzlich bestimmten wir die inhibitorische Aktivität von **1a–c** in einem aktivitätsbasierten Assay für EGFR-Wildtyp (WT), die Aktivierungsmutante (L858R) sowie für die beiden wirkstoffresistenten Mutanten (L858R/T790M und L858R/T790M/C797S) (Tabelle 2). Die drei kovalenten Pyrazolopyrimidine zeigten eine hohe Potenz gegen die EGFR-Mutanten L858R und L858R/T790M mit  $IC_{50}$ -Werten im einstelligen nanomolaren Bereich, wobei der  $IC_{50}$ -Wert von **1c** (2-Naphthyl-Substituent) bemerkenswerterweise sogar im sub-nanomolaren Bereich lag. Alle getesteten Pyrazolopyrimidine zeigten zusätzlich eine ausgeprägte Mutantenselektivität mit geringerer Inhibition des Wildtyps (bis zu 31-fach). Beachtenswert ist die hohe Potenz ( $88 \text{ nm}$ ) von **1c** gegen die zweite erworbene Resistenz EGFR-L858R/T790M/C797S. Diese Ergebnisse weisen auf die kovalente Inhibition als Ursache für die sub-nanomolare Aktivität hin, da die Punktmutation des Cysteins zu einem Serin (C797S) eine kovalente Modifikation verhindert. Irreversible Inhibitoren verfügen aufgrund der Fähigkeit, eine kovalente Bindung zu bilden, über einzigartige Bindungseigenschaften. Im Zuge einer vollständigen Charakterisierung der Pyrazolopyrimidine wurden deren Bindungskinetiken untersucht. Zur Bestimmung von Geschwindigkeit und Effizienz der Bildung einer kovalenten Bindung von **1a–c** (und der Referenzverbindungen) ermittelten wir die entsprechenden  $K_i$ - und  $k_{\text{inact}}$ -Parameter für EGFR-WT, -L858R, -L858R/T790M und -L858R/T790M/C797S durch einen zeitaufgelösten aktivitätsbasierten Assay (Tabelle 2).<sup>[6]</sup> Die Verbindungen **1a–c**

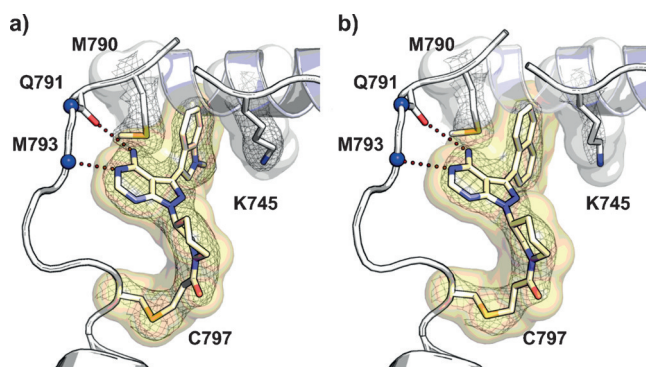
**Tabelle 2:** Halbmaximale inhibitorische Konzentration ( $IC_{50}$ ) und kinetische Parameter  $K_i$ ,  $k_{inact}$  und  $k_{inact}/K_i$  für Referenzverbindungen und Pyrazolopyrimidine **1a–c**, in EGFR-WT, -L858R, -L858R/T790M und -L858R/T790M/C797S.

Verbindung	EGFR	$IC_{50}$ [nM]	$K_i$ [nM]	$k_{inact}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]	$k_{inact}/K_i$ [ $\mu\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ]
<b>1a</b>	WT	$35 \pm 14$	$25 \pm 7.2$	$0.11 \pm 0.03$	$0.08 \pm 0.02$
	L858R	$3.8 \pm 2.8$	$19 \pm 3.1$	$0.17 \pm 0.08$	$0.14 \pm 0.07$
	L858R/T790M	$2.5 \pm 1.4$	$16 \pm 5.2$	$0.29 \pm 0.02$	$0.36 \pm 0.09$
	L858R/T790M/C797S	$838 \pm 85$	$1008 \pm 372$	–	–
<b>1b</b>	WT	$58 \pm 13$	$47 \pm 5.8$	$0.13 \pm 0.05$	$0.05 \pm 0.04$
	L858R	$1.0 \pm 0.3$	$44 \pm 6.5$	$0.25 \pm 0.06$	$0.10 \pm 0.06$
	L858R/T790M	$1.9 \pm 0.8$	$58 \pm 3.3$	$0.31 \pm 0.04$	$0.09 \pm 0.02$
	L858R/T790M/C797S	$7900 \pm 3700$	$1068 \pm 432$	–	–
<b>1c</b>	WT	$16 \pm 5.6$	$15 \pm 3.2$	$0.19 \pm 0.12$	$0.21 \pm 0.05$
	L858R	$1.1 \pm 0.6$	$1.6 \pm 0.4$	$0.14 \pm 0.01$	$1.60 \pm 0.53$
	L858R/T790M	$< 1$	$1.5 \pm 0.8$	$0.17 \pm 0.02$	$3.42 \pm 1.44$
	L858R/T790M/C797S	$88 \pm 16$	$49 \pm 14$	–	–
EGF816	WT	$1.9 \pm 0.2$	$25 \pm 7.8$	$0.31 \pm 0.06$	$0.23 \pm 0.13$
	L858R	$< 1$	$10 \pm 2.7$	$0.22 \pm 0.02$	$0.38 \pm 0.08$
	L858R/T790M	$< 1$	$7.7 \pm 2.3$	$0.15 \pm 0.04$	$0.38 \pm 0.10$
	L858R/T790M/C797S	$196 \pm 21$	$433 \pm 151$	–	–
CO-1686	WT	$2 \pm 0.5$	$74 \pm 7.1$	$0.18 \pm 0.01$	$0.04 \pm 0.01$
	L858R	$2 \pm 0.2$	$1.8 \pm 0.2$	$0.18 \pm 0.05$	$1.67 \pm 0.32$
	L858R/T790M	$3 \pm 0.6$	$1.7 \pm 0.1$	$0.29 \pm 0.05$	$2.95 \pm 0.66$
	L858R/T790M/C797S	$69 \pm 13$	$76 \pm 40$	–	–
AZD9291	WT	$2 \pm 0.2$	$14 \pm 2.3$	$0.43 \pm 0.11$	$0.52 \pm 0.05$
	L858R	$1 \pm 0.5$	$1.6 \pm 0.3$	$0.30 \pm 0.01$	$3.24 \pm 0.46$
	L858R/T790M	$< 1$	$1.5 \pm 0.1$	$0.33 \pm 0.06$	$3.75 \pm 0.39$
	L858R/T790M/C797S	$77 \pm 22$	$25 \pm 9.6$	–	–

zeigten exzellente Bindungsaffinitäten zur EGFR-Mutante mit Methionin-Türsteherrest (L858R/T790M) und insgesamt keine Affinitätsverluste im Vergleich zum Wildtyp. Besonders **1c** wies eine extrem hohe Affinität mit  $K_i$ -Werten im niedrigen nanomolaren Bereich ( $1.5 \text{ nM}$ ) auf und hatte in Kombination mit der Geschwindigkeit der Bindungsbildung das beste Inhibitionsprofil der Serie bezüglich EGFR-L858R/T790M ( $k_{inact}/K_i = 3.42 \mu\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), was wiederum konform mit den inhibitorischen Aktivitäten der Verbindungen war. Außerdem zeigte **1c** eine hohe Affinität ( $K_i$ -Wert =  $49 \text{ nM}$ ) für die wirkstoffresistente EGFR-C797S-Mutante, der das Cystein zur kovalenten Adressierung fehlt, wodurch sich die hohe Potenz von **1c** gegen diese EGFR-Mutante erklärt. Dagegen zeigen die Pyrazolopyrimidine **1a** und **1b** keinen signifikanten Effekt gegen EGFR-L858R/T790M/C797S mit einer etwa 20-fach geringeren Affinität ( $K_i = 1008 \text{ nM}$  bzw.  $1068 \text{ nM}$ ) im Vergleich zu **1c**. Jedoch haben **1a** und **1b** eine hohe Geschwindigkeit für die Bildung der kovalenten Bindung ( $k_{inact}$ ) in EGFR-L858R/T790M ( $0.29 \text{ min}^{-1}$  bzw.  $0.31 \text{ min}^{-1}$ ), was die schwächere Bindungsaffinität kompensiert und deren Wirksamkeit gegen die T790M-Mutation erklärt. Die Ergebnisse der kinetischen Untersuchungen offenbaren die Grundlage für die starke Wirkung der Verbindungen gegen EGFR-T790M und stellen die essentielle Bedeutung einer hohen Affinität zum Met790 heraus, um die erworbene EGFR-C797S-Resistenzmutation zu adressieren. Diese Beobachtungen bekräftigen den Wert und das Potenzial dieser neuen Serie. Zur pharmakokinetischen Charakterisierung der Pyrazolopyrimidine bestimmten wir die zelluläre Absorption von **1a** und **1c** in einem artifiziellen Membranpermeationsassay (PAMPA) und im Caco-2-Zellassay, in dem das Influx/Efflux-Verhältnis in Caco-2-Zellen beobachtet wird (Tabelle S1). **1a** und **1c** zeigten hohe Zellpermeation bei pH 7.4 (PAMPA, Flux 66 % bzw. 73 %) sowie ausreichende zelluläre Absorption (Verhältnis Zellpenetration zu Efflux: 1:1 für **1a** und 4:1 für **1c**). Das Selektivitätsprofil der Pyrazolopyrimidin-Serie wurde mit der SelectScreen®-Profilierung (Life Technologies) exemplarisch für **1a** bei einer Konzentration von  $1 \mu\text{M}$  gegen 100 Kinasen (einschließlich ausgewählter Mutanten; Abbildung S2) durchgeführt. Verbindung **1a** inhibierte die Kinaseaktivität des EGFR-Wildtyps und Mutanten (L861Q, L858R, T790M und L858R/T790M) zu über 90 %, während einige wenige andere Kinasen, die ebenfalls ein zum EGFR-Cys797 korrespondierendes Cystein aufweisen (BLK, TXK, BMX, BTK, und ErbB-4), zu etwa 80 % inhibiert wurden. So zeigte **1a** ein exzellentes Selektivitätsprofil, insbesondere in Bezug auf EGFR und dessen Mutanten.

Um die kovalente Bindung zu bestätigen und ein detailliertes Verständnis des Bindungsmodus in EGFR zu erhalten, wurden **1a** und **1b** in der EGFR-Kinasedomäne mit der Türstehermutante T790M kokristallisiert. Die Kristallstrukturen belegen deutlich die Bildung einer kovalenten Bindung beider Inhibitoren mit Cys797 am Rande der ATP-Bindetasche (Abbildung 3). Neben zwei direkten Wasserstoffbrücken zum Peptidrückgrat der Scharnierregion (Gln791 und





**Abbildung 3.** Kristallstruktur der Pyrazolopyrimidine in Komplex mit EGFR-T790M. Diagramme der experimentellen Elektronendichte von EGFR-T790M-1a bei 2.5 Å (PDB-Code: 5J9Z) (a) und EGFR-T790M-1b bei 2.8 Å (PDB-Code: 5J9Y) (b) Auflösung ( $2F_o - F_c$ -Karte konturiert bei  $1\sigma$ ). Wasserstoffbrücken des Inhibitors mit der Scharnierregion (weiß) sind als rot gepunktete Linie dargestellt. Die Strukturelemente der N-terminalen Subdomäne und der  $\alpha$ C-Helix sind in weiß bzw. blau-weiß gezeigt. Das lipophile Methylindol (**1a**) und der 1-Naphthylrest (**1b**) an C3 des Pyrazolopyrimidins zeigen in Richtung der hydrophoben Tasche und sind zwischen dem Methionin-Türsteher (M790) und der Alkyl-Seitenkette von K745 eingeschlossen.

Met793) sorgt die 3-Piperidinyl-*N*-Acrylamid-Struktur für eine optimale Bindungsgeometrie zu Cys797. Die 4-substituierte Aminofunktion bildet eine Wasserstoffbrücke mit dem Carbonyl-Rest im Peptidrückgrat von Gln791. Das Stickstoffatom N6 des Pyrazolopyrimidins fungiert als Wasserstoffbrückendonator und stellt den Kontakt zum Peptidrückgrat von Met793 her. Die Komplexstruktur mit **1a** weist bemerkenswerterweise eine direkte Wechselwirkung des Methylindols mit Met790 sowie der benachbarten Alkyl-Seitenkette des konservierten, katalytischen Lys745 auf. Die erhöhte Affinität von **1a** zu EGFR-T790M gegenüber dem Wildtyp könnte auf die lipophile Wechselwirkung des Methylindols mit Met790 und Lys745 zurückzuführen sein. Die Naphthyl-Gruppe von **1b** nimmt erstaunlicherweise eine identische Orientierung zu Met790 und Lys745 ein und liefert so ebenfalls vorteilhafte lipophile Wechselwirkungen. Diese strukturellen Beobachtungen erbringen eine schlüssige Erklärung für die hohe Potenz der Pyrazolopyrimidine gegen die T790M-Mutanten und stützen unsere Schlussfolgerung, dass die gezielte Adressierung des hydrophoben Bereichs, einschließlich Met790, mit lipophilen Substituenten einen starken Einfluss auf die Affinität und Mutantenselektivität haben kann, da Wechselwirkungen mit dem polaren Thr790 im EGFR-WT nicht begünstigt sind. Lipophile Substituenten an C3 der Pyrazolopyrimidine sind unverzichtbar für eine gesteigerte Mutantenselektivität, sofern diese nicht mit dem raumfordernden Türsteher Met790 interferieren. Massenspektren von EGFR-T790M nach Behandlung mit **1a** und **1b** belegten zusätzlich die kovalente Bindung durch eine eindeutige Massenzunahme des EGFR-Inhibitor-Komplexes um 401 Da und 398 Da im Vergleich zu einer mit DMSO behandelten Kontrolle (Abbildung S3). Diese Beobachtungen und eine weitere Analyse über Tandem-Massenspektrometrie belegten die konsistente Bildung eines EGFR-Inhibitor-

Komplexes in einem 1:1-Verhältnis durch eine einzelne und spezifische Alkylierung des Cys797 (Abbildung S4 und S5).

Zusammenfassend haben wir eine neue Klasse von mutantenselektiven kovalenten EGFR-Inhibitoren entwickelt, die sich durch einen exzellenten inhibitorischen Effekt auf die wirkstoffresistente Zelllinie H1975 auszeichnet und großes Potenzial bei der gezielten Adressierung der neu erworbenen Resistenzmutation C797S in EGFR hat. Weitere Entwicklungen dieser Inhibitoren bieten eine einzigartige Möglichkeit, sämtliche in der Klinik relevante onkogene Mutanten von EGFR mit ein und demselben Wirkstoff zu behandeln. Röntgenstrukturanalysen der Inhibitoren in Komplex mit EGFR-T790M in Kombination mit Kinetik-Experimenten aller klinisch relevanten EGFR-Mutanten führten zu einem tieferen Verständnis der Inhibition von wirkstoffresistentem EGFR und lieferten Schlüsselaspekte für die spezifische Adressierung von EGFR-C797S. Die Entdeckung dieser Klasse von Inhibitoren könnte die Entwicklung einer vierten Generation von EGFR-Inhibitoren fördern, die gezielt die erworbenen Resistenzen T790M und C797S adressieren, und einen weiteren Durchbruch in der Behandlung von EGFR-abhängigen NSCLC-Patienten mit erworbener Wirkstoffresistenz ermöglichen.

## Danksagung

Diese Arbeit wurde durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (NGFNPlus und e:Med) (Fördernummern BMBF 01GS08104, 01ZX1303C) und durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) finanziert. L.K. und R.P.Z. bedanken sich für finanzielle Unterstützung durch das Ministerium für Innovation, Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen, die Senatsverwaltung für Wirtschaft, Technologie und Forschung des Landes Berlin und das Bundesministerium für Bildung und Forschung.

**Stichwörter:** Krebs · Medizinalchemie ·

Strukturbasiertes Wirkstoffdesign · Wirkstoffentwicklung · Wirkstoffresistenz

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 10909–10912  
*Angew. Chem.* **2016**, 128, 11069–11073

- [1] a) M. Maemondo et al., *N. Engl. J. Med.* **2010**, 362, 2380–2388; b) T. S. Mok et al., *N. Engl. J. Med.* **2009**, 361, 947–957; c) J. G. Paz et al., *Science* **2004**, 304, 1497–1500; d) W. Pao et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, 101, 13306–13311; e) R. Rosell et al., *Lancet Oncol.* **2012**, 13, 239–246; f) R. Sordella, D. W. Bell, D. A. Haber, J. Settleman, *Science* **2004**, 305, 1163–1167.
- [2] a) S. Kobayashi et al., *N. Engl. J. Med.* **2005**, 352, 786–792; b) W. Pao, V. A. Miller, K. A. Politi, G. J. Riely, R. Somwar, M. F. Zakowski, M. G. Kris, H. Varmus, *PLoS Med.* **2005**, 2, e73; c) L. V. Sequist et al., *Sci. Transl. Med.* **2011**, 3, 75ra26.
- [3] a) S. Klüter et al., *ChemBioChem* **2010**, 11, 2557–2566; b) A. Michalczyk, S. Klüter, H. B. Rode, J. R. Simard, C. Grütter, M. Rabiller, D. Rauh, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 3482–3488; c) M. L. Sos et al., *Cancer Res.* **2010**, 70, 868–874; d) J. Engel, J. Lategahn, D. Rauh, *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, 7, 2–5.
- [4] a) P. A. Jänne et al., *N. Engl. J. Med.* **2015**, 372, 1689–1699; b) L. V. Sequist et al., *N. Engl. J. Med.* **2015**, 372, 1700–1709; c) Y.

- Jia et al., *Cancer Res.* **2016**, 76, 1591–1602; d) R. A. Copeland, D. L. Pompliano, T. D. Meek, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2006**, 5, 730–739; e) J. M. Heuckmann, D. Rauh, R. K. Thomas, *J. Clin. Oncol.* **2012**, 30, 3417–3420; f) J. Singh, R. C. Petter, T. A. Baillie, A. Whitty, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2011**, 10, 307–317.
- [5] K. S. Thress et al., *Nat. Med.* **2015**, 21, 560–562.
- [6] a) J. Engel et al., *J. Med. Chem.* **2015**, 58, 6844–6863; b) B. F. Krippendorff, R. Neuhaus, P. Lienau, A. Reichel, W. Huisinga, *J. Biomol. Screening* **2009**, 14, 913–923; c) J. Weisner et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 10313–10316; *Angew. Chem.* **2015**, 127, 10452–10456.
- Eingegangen am 3. Juni 2016  
Online veröffentlicht am 5. August 2016
-