



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104814970 A

(43) 申请公布日 2015. 08. 05

(21) 申请号 201510102987. 2

(22) 申请日 2011. 10. 14

(30) 优先权数据

61/393, 291 2010. 10. 14 US

(62) 分案原申请数据

201180049813. 4 2011. 10. 14

(71) 申请人 阿里亚德医药股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 D. C. 达尔加诺 W. C. 莎士比亚

朱笑天 V. M. 里维拉 J. J. 米雷特

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 刘国军

(51) Int. Cl.

A61K 31/675(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

权利要求书8页 说明书29页

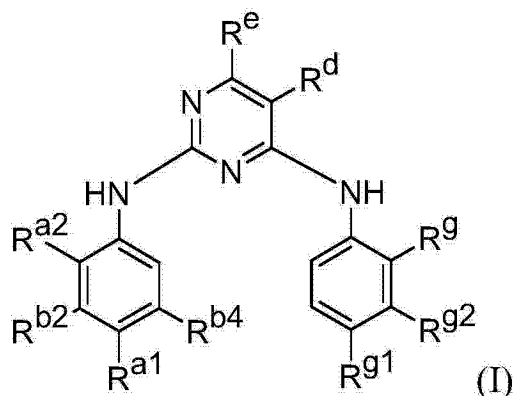
(54) 发明名称

抑制 EGFR 导致的癌症中细胞增殖的方法

(57) 摘要

本发明涉及通过给予患者式 (I) 化合物治疗具有 EGFR 导致的癌症的患者的方法, 所述癌症是或已成为酪氨酸激酶抑制剂如厄洛替尼和吉非替尼难治的。本发明还涉及治疗具有本文鉴定的 EGFR 突变的 EGFR 导致的癌症。

1. 一种用于治疗受试者中 EGFR 导致的癌症的方法,所述方法包括给予所述受试者治疗有效量的式 (I) 化合物,或其药学上可接受的盐:



其中

R^d 为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基或卤素;且 R^e 为 H 或 NH_2 ;或 R^d 和 R^e 与它们所连接的嘧啶环原子一起,形成含 1、2 或 3 个独立地选自 N、S 和 O 的杂原子的 5- 或 6- 元环,其中所述 5- 或 6- 元环被 R^h 取代;

R^h 为 H、 C_{1-4} 烷基或卤素;

R^{a2} 为 H、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基或 C_{3-6} 环烷基氧基;

R^g 为 $-P(O)(R^{3A})(R^{3B})$ 、 $-S(O)N(R^{3C})(R^{3D})$ 、 $-S(O)_2R^{3E}$ 、 $-OC(O)N(R^{3F})(R^{3G})$ 、 $-NR^{3H}C(O)OR^{3I}$ 、含 1、2、3 或 4 个 N 原子的 5 或 6 元杂环,或与 R^{g2} 结合形成 5- 至 7- 元杂环,其中每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{3C} 、 R^{3D} 、 R^{3E} 、 R^{3F} 、 R^{3G} 、 R^{3H} 和 R^{3I} 独立地选自 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基和杂烷基,或 R^{3A} 和 R^{3B} ,或 R^{3C} 和 R^{3D} ,或 R^{3F} 和 R^{3G} ,与它们所连接的原子一起,结合形成未取代的或取代的 5- 或 6- 元杂环;

R^{g2} 为 H、F、 C_{1-4} 烷基,或 R^{g2} 和 R^g 与它们所连接的原子一起形成含 1-3 个独立地选自 P、N、O 和 S 的杂原子的 5- 至 7- 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的;

R^{g1} 为 H、F 或者含 1 或 2 个 N 原子的 5 或 6 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的;

R^{b2} 为 H、F 或者含 1、2 或 3 个 N 或 O 原子的 5 或 6 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的;

R^{b4} 为 H、F、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基或 C_{3-6} 环烷基氧基、 $-OC(O)N(R^{5A})(R^{5B})$ 、 $-NR^{5C}C(O)OR^{5D}$;含 1、2 或 3 个 N 或 O 原子的 5 或 6 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的,或 R^{b4} 和 R^{a1} 与它们所连接的原子一起形成含 1、2 或 3 个 N 或 O 原子的 6 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的;

每个 R^{5A} 、 R^{5B} 、 R^{5C} 和 R^{5D} 独立地选自 H、烷基、烯基、炔基和杂烷基,或 R^{5A} 和 R^{5B} 与它们所连接的原子一起,结合形成 5- 或 6- 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的;

R^{a1} 与 R^{b4} 结合形成 6 元杂环,或者 R^{a1} 为 H、卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-R^1$ 、 $-OR^2$ 、 $-O-NR^1R^2$ 、 $-NR^1R^2$ 、 $-N-R^1-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-OR^2$ 、 $-C(O)YR^2$ 、 $-OC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(O)YR^2$ 、 $-SC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(=S)YR^2$ 、 $-OC(=S)YR^2$ 、 $-C(=S)YR^2$ 、 $-YC(=NR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-OR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-NR^1R^2)YR^2$ 、 $-YP(=O)(YR^1)(YR^2)$ 、 $-NR^1SO_2R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-SO_2NR^1R^2$ 、 $-NR^1SO_2NR^1R^2$ 或



每个 Y 独立地为键、-O-、-S- 或 -NR¹-；

每次出现时，R¹和 R²独立地为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基；

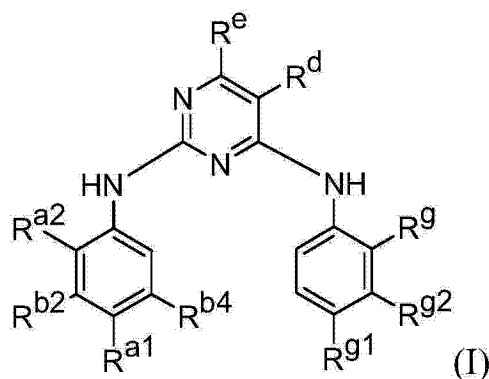
每个 X₁和 X₂独立地为 CH 或 N；和

R⁴为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基。

2. 一种用于治疗受试者中 EGFR 导致的癌症的方法：

a) 提供具有特征在于存在表皮生长因子受体激酶 (EGFR) 突变的癌症的受试者，和

b) 给予所述受试者治疗有效量的式 (I) 化合物，或其药学上可接受的盐：



其中

R^d为 H、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基或卤素；且 R^e为 H 或 NH₂；或 R^d和 R^e与它们所连接的嘧啶环原子一起，形成含 1、2 或 3 个独立地选自 N、S 和 O 的杂原子的 5- 或 6- 元环，其中所述 5- 或 6- 元环被 R^h取代；

R^h为 H、C₁₋₄烷基或卤素；

R^{a2}为 H、C₁₋₆烷氧基、C₃₋₆烯基氧基或 C₃₋₆环烷基氧基；

R^g为 -P(O)(R^{3A})(R^{3B})、-S(O)N(R^{3C})(R^{3D})、-S(O)₂R^{3E}、-OC(O)N(R^{3F})(R^{3G})、-NR^{3H}C(O)OR^{3I}、含 1、2、3 或 4 个 N 原子的 5 或 6 元杂环，或与 R^{g2}结合形成 5- 至 7- 元杂环，其中每个 R^{3A}、R^{3B}、R^{3C}、R^{3D}、R^{3E}、R^{3F}、R^{3G}、R^{3H}和 R^{3I}独立地选自 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基和杂烷基，或 R^{3A}和 R^{3B}，或 R^{3C}和 R^{3D}，或 R^{3F}和 R^{3G}，与它们所连接的原子一起，结合形成未取代的或取代的 5- 或 6- 元杂环；

R^{g2}为 H、F、C₁₋₄烷基，或 R^{g2}和 R^g与它们所连接的原子一起形成含 1-3 个独立地选自 P、N、O 和 S 的杂原子的 5- 至 7- 元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

R^{g1}为 H、F 或者含 1 或 2 个 N 原子的 5 或 6 元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

R^{b2}为 H、F 或者含 1、2 或 3 个 N 或 O 原子的 5 或 6 元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

R^{b4}为 H、F、C₁₋₆烷氧基、C₃₋₆烯基氧基或 C₃₋₆环烷基氧基、-OC(O)N(R^{5A})(R^{5B})、-NR^{5C}C(O)OR^{5D}；含 1、2 或 3 个 N 或 O 原子的 5 或 6 元杂环，所述杂环为未取代的或取代的，或 R^{b4}和 R^{a1}与它们所连接的原子一起形成含 1、2 或 3 个 N 或 O 原子的 6 元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

每个 R^{5A}、R^{5B}、R^{5C}和 R^{5D}独立地为 H、烷基、烯基、炔基或杂烷基；或 R^{5A}和 R^{5B}与它们所连接的原子一起，结合形成 5- 或 6- 元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

R^{a1}与 R^{b4}结合形成 6 元杂环，或者 R^{a1}为 H、卤素、-CN、-NO₂、-R¹、-OR²、-O-NR¹R²、-NR¹R²、-N

$R^1-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-OR^2$ 、 $-C(O)YR^2$ 、 $-OC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(=O)YR^2$ 、 $-SC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(=S)YR^2$ 、 $-OC(=S)YR^2$ 、 $-C(=S)YR^2$ 、 $-YC(=NR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-OR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-NR^1R^2)YR^2$ 、 $-YP(=O)(YR^1)(YR^2)$ 、 $-NR^1SO_2R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-SO_2NR^1R^2$ 、 $-NR^1SO_2NR^1R^2$ 或 $\text{---}X_1\text{---}X_2\text{---}R^4$;

每个 Y 独立地为键、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-NR^1-$;

每次出现时, R^1 和 R^2 独立地为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基;

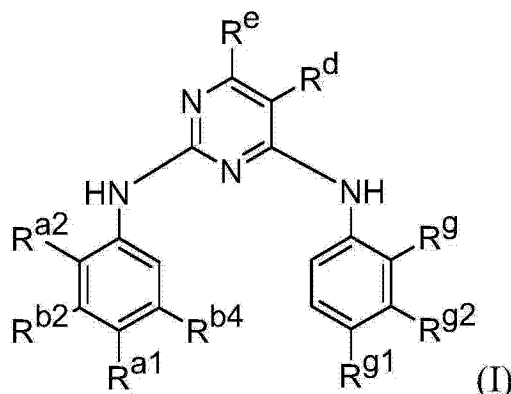
每个 X_1 和 X_2 独立地为 CH 或 N;和

R^4 为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基。

3. 权利要求 2 所述的方法, 其中所述 EGFR 导致的癌症的特征在于存在一个或多个选自以下的突变: (i) L858R、(ii) T790M、(iii) L858R 和 T790M 二者、(iv) delE746_A750, 以及 (v) e1E746_A750 和 T790M 二者。

4. 权利要求 1-3 中任一项所述的方法, 其中所述 EGFR 导致的癌症是非小细胞肺癌 (NSCLC); 胶质母细胞瘤; 胰腺癌; 头颈癌 (例如, 鳞状细胞癌); 乳腺癌; 结肠直肠癌; 上皮癌; 卵巢癌; 前列腺癌; 或腺癌。

5. 一种抑制表达 EGFR 突变株的细胞增殖的方法, 所述方法包括用式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐以足以抑制增殖的量接触所述细胞:



其中

R^d 为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基或卤素; 且 R^e 为 H 或 NH_2 ; 或 R^d 和 R^e 与它们所连接的嘧啶环原子一起, 形成含 1 或 2 个独立地选自 N、S 和 O 的杂原子的 5- 或 6- 元环, 其中所述 5- 或 6- 元环被 R^h 取代;

R^h 为 H、 C_{1-4} 烷基或卤素;

R^{a2} 为 H、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基或 C_{3-6} 环烷基氧基;

R^g 为 $-P(O)(R^{3A})(R^{3B})$ 、 $-S(O)N(R^{3C})(R^{3D})$ 、 $-S(O)_2R^{3E}$ 、 $-OC(O)N(R^{3F})(R^{3G})$ 、 $-NR^{3H}C(O)OR^{3I}$ 、含 1、2、3 或 4 个 N 原子的 5 或 6 元杂环, 或与 R^{g2} 结合形成 5- 至 7- 元杂环, 其中每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{3C} 、 R^{3D} 、 R^{3E} 、 R^{3F} 、 R^{3G} 、 R^{3H} 和 R^{3I} 独立地选自 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基和杂烷基, 或 R^{3A} 和 R^{3B} , 或 R^{3C} 和 R^{3D} , 或 R^{3F} 和 R^{3G} , 与它们所连接的原子一起, 结合形成未取代的或取代的 5- 或 6- 元杂环;

R^{g2} 为 H、F、 C_{1-4} 烷基, 或 R^{g2} 和 R^g 与它们所连接的原子一起形成含 1-3 个独立地选自 P、N、O 和 S 的杂原子的 5- 至 7- 元杂环, 所述杂环为未取代的或取代的;

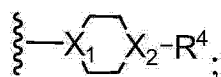
R^{g1} 为 H、F 或者含 1 或 2 个 N 原子的 5 或 6 元杂环, 所述杂环为未取代的或取代的;

R^{b2} 为 H、F 或者含 1、2 或 3 个 N 或 O 原子的 5 或 6 元杂环, 所述杂环为未取代的或取代的;

R^{b4} 为 H、F、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基或 C_{3-6} 环烷基氧基、 $-OC(O)N(R^{5A})(R^{5B})$ 、 $-NR^{5C}C(O)OR^{5D}$; 含 1、2 或 3 个 N 或 O 原子的 5 或 6 元杂环, 所述杂环为未取代的或取代的, 或 R^{b4} 和 R^{a1} 与它们所连接的原子一起形成含 1、2 或 3 个 N 或 O 原子的 6 元杂环, 所述杂环为未取代的或取代的;

每个 R^{5A} 、 R^{5B} 、 R^{5C} 和 R^{5D} 独立地为 H、烷基、烯基、炔基或杂烷基; 或 R^{5A} 和 R^{5B} 与它们所连接的原子一起, 结合形成 5- 或 6- 元杂环, 所述杂环为未取代的或取代的;

R^{a1} 与 R^{b4} 结合形成 6 元杂环, 或者 R^{a1} 为 H、卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-R^1$ 、 $-OR^2$ 、 $-O-NR^1R^2$ 、 $-NR^1R^2$ 、 $-N-R^1-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-OR^2$ 、 $-C(O)YR^2$ 、 $-OC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(O)YR^2$ 、 $-SC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(=S)YR^2$ 、 $-OC(=S)YR^2$ 、 $-C(=S)YR^2$ 、 $-YC(=NR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-OR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-NR^1R^2)YR^2$ 、 $-YP(=O)(YR^1)(YR^2)$ 、 $-NR^1SO_2R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-SO_2NR^1R^2$ 、 $-NR^1SO_2NR^1R^2$ 或



每个 Y 独立地为键、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-NR^1-$;

每次出现时, R^1 和 R^2 独立地为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基;

每个 X_1 和 X_2 独立地为 CH 或 N; 和

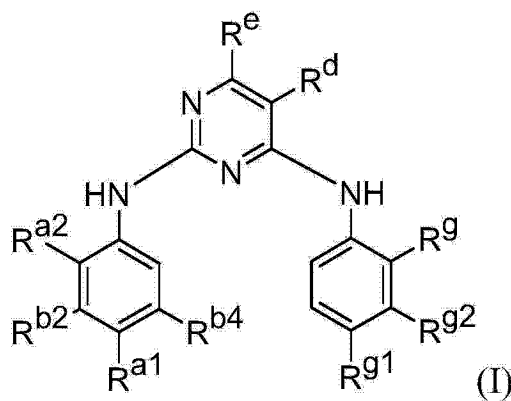
R^4 为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基。

6. 权利要求 5 所述的方法, 其中 EGFR 突变株的特征在于在表皮生长因子受体激酶 (EGFR) 中存在一个或多个选自以下的突变: (i) L858R、(ii) T790M、(iii) L858R 和 T790M 二者、(iv) delE746_A750, 以及 (v) delE746_A750 和 T790M 二者。

7. 权利要求 5 或 6 所述的方法, 其中所述细胞是癌细胞。

8. 权利要求 1-3 所述的方法, 其中所述癌细胞为来源于非小细胞肺癌 (NSCLS); 胶质母细胞瘤; 胰腺癌; 头颈癌 (例如, 鳞状细胞癌); 乳腺癌; 结肠直肠癌; 上皮癌; 卵巢癌; 前列腺癌; 或腺癌; 的细胞。

9. 一种治疗受试者中厄洛替尼或吉非替尼或其药学上可接受的盐难治的 EGFR 导致的癌症的方法, 所述方法包括以足以治疗癌症的量给予受试者式 I 化合物, 或其药学上可接受的盐:



其中

R^d 为H、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基或卤素；且 R^e 为H或 NH_2 ；或 R^d 和 R^e 与它们所连接的嘧啶环原子一起，形成含1、2或3个独立地选自N、S和O的杂原子的5-或6-元环，其中所述5-或6-元环被 R^h 取代；

R^h 为H、 C_{1-4} 烷基或卤素；

R^{a2} 为H、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基或 C_{3-6} 环烷基氧基；

R^g 为 $-P(O)(R^{3A})(R^{3B})$ 、 $-S(O)N(R^{3C})(R^{3D})$ 、 $-S(O)_2R^{3E}$ 、 $-OC(O)N(R^{3F})(R^{3G})$ 、 $-NR^{3H}C(O)OR^{3I}$ 、含1、2、3或4个N原子的5或6元杂环，或与 R^{g2} 结合形成5-至7-元杂环，其中每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{3C} 、 R^{3D} 、 R^{3E} 、 R^{3F} 、 R^{3G} 、 R^{3H} 和 R^{3I} 独立地选自H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基和杂烷基，或 R^{3A} 和 R^{3B} ，或 R^{3C} 和 R^{3D} ，或 R^{3F} 和 R^{3G} ，与它们所连接的原子一起，结合形成未取代的或取代的5-或6-元杂环；

R^{g2} 为H、F、 C_{1-4} 烷基，或 R^{g2} 和 R^g 与它们所连接的原子一起形成含1-3个独立地选自P、N、O和S的杂原子的5-至7-元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

R^{b1} 为H、F或者含1或2个N原子的5或6元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

R^{b2} 为H、F或者含1、2或3个N或O原子的5或6元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

R^{b4} 为H、F、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基或 C_{3-6} 环烷基氧基、 $-OC(O)N(R^{5A})(R^{5B})$ 、 $-NR^{5C}C(O)OR^{5D}$ ；含1、2或3个N或O原子的5或6元杂环，所述杂环为未取代的或取代的，或 R^{b4} 和 R^{a1} 与它们所连接的原子一起形成含1、2或3个N或O原子的6元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

每个 R^{5A} 、 R^{5B} 、 R^{5C} 和 R^{5D} 独立地为H、烷基、烯基、炔基或杂烷基；或 R^{5A} 和 R^{5B} 与它们所连接的原子一起，结合形成5-或6-元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

R^{a1} 与 R^{b4} 结合形成6元杂环，或者 R^{a1} 为H、卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-R^1$ 、 $-OR^2$ 、 $-O-NR^1R^2$ 、 $-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-OR^2$ 、 $-C(O)YR^2$ 、 $-OC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(O)YR^2$ 、 $-SC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(=S)YR^2$ 、 $-OC(=S)YR^2$ 、 $-C(=S)YR^2$ 、 $-YC(=NR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-OR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-NR^1R^2)YR^2$ 、 $-YP(=O)(YR^1)(YR^2)$ 、 $-NR^1SO_2R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-SO_2NR^1R^2$ 、 $-NR^1SO_2NR^1R^2$ 或



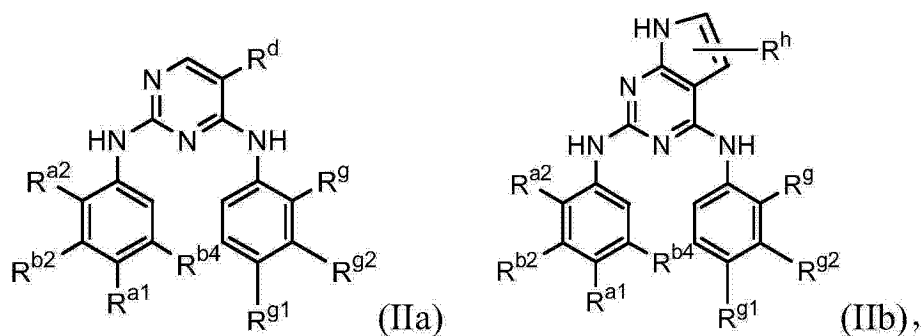
每个Y独立地为键、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-NR^1-$ ；

每次出现时， R^1 和 R^2 独立地为H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基；

每个 X_1 和 X_2 独立地为CH或N；和

R^4 为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基。

10. 权利要求1-9中任一项所述的方法，其中式(I)化合物表示为式(IIa)或式(IIb)，或其药学上可接受的盐；



其中 R^{a1} ; R^{a2} ; R^{b2} ; R^{b4} ; R^g ; R^{g1} ; R^{g2} ; R^d ; 和 R^h 如式 (I) 中所定义。

11. 权利要求 10 所述的方法, 其中 R^{g1} 、 R^{g2} 、 R^{b2} 和 R^{b4} 为 H 或 F。

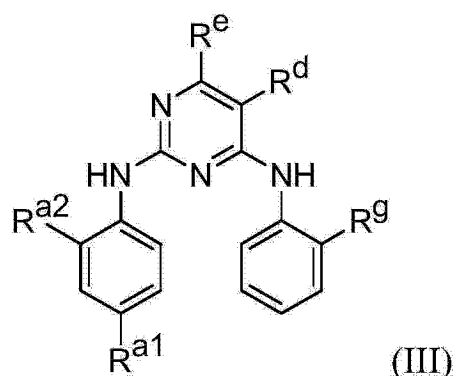
12. 权利要求 10 所述的方法, 其中 R^d 为 Cl、F 或 CF_3 。

13. 权利要求 10 所述的方法, 其中 R^{a1} 为甲氧基。

14. 权利要求 10 所述的方法, 其中 R^g 为 $-P(O)(R^{3A})(R^{3B})$ 或 $-S(O)_2R^{3E}$, 其中 R^{3A} ; R^{3B} ; 和 R^{3E} 如式 (I) 中所定义。

15. 权利要求 10 所述的方法, 其中 R^{a1} 为含一个或两个 N 或 O 原子的 5 或 6 元杂环, 并且所述杂环为未取代的或被烷基基团取代。

16. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法, 其中式 (I) 化合物表示为式 (III) 或其药学上可接受的盐:



其中

R^{a2} 为烷氧基;

R^g 为 $-P(O)(R^{3A})(R^{3B})$; $-S(O)N(R^{3C})(R^{3D})$; 或 $-S(O)_2R^{3E}$;

每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{3C} 、 R^{3D} 和 R^{3E} 独立地为 H 或 C_{1-7} 烷基, 或 R^{3A} 和 R^{3B} , 或 R^{3C} 和 R^{3D} , 与它们所连接的原子一起, 结合形成未取代的或取代的 5- 或 6- 元杂环;

R^d 为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基或卤素; 且 R^e 为 H 或 NH_2 ; 或 R^d 和 R^e 与它们所连接的嘧啶环原子一起形成含 1 或 2 个独立地选自 N、S 或 O 的杂原子的 5- 或 6- 元环, 其中所述 5- 或 6- 元环被 R^h 取代;

R^h 为 H、 C_{1-4} 烷基或卤素;

R^{a1} 为卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-R^1$ 、 $-OR^2$ 、 $-O-NR^1R^2$ 、 $-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-OR^2$ 、 $-C(O)YR^2$ 、 $-OC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(O)YR^2$ 、 $-SC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(=S)YR^2$ 、 $-OC(=S)YR^2$ 、 $-C(=S)YR^2$ 、 $-YC(=NR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-OR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-NR^1R^2)YR^2$ 、 $-YP(=O)(YR^1)(YR^2)$ 、 $-NR^1SO_2R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-SO_2NR^1R^2$ 、 $-NR^1SO_2NR^1R^2$ 或



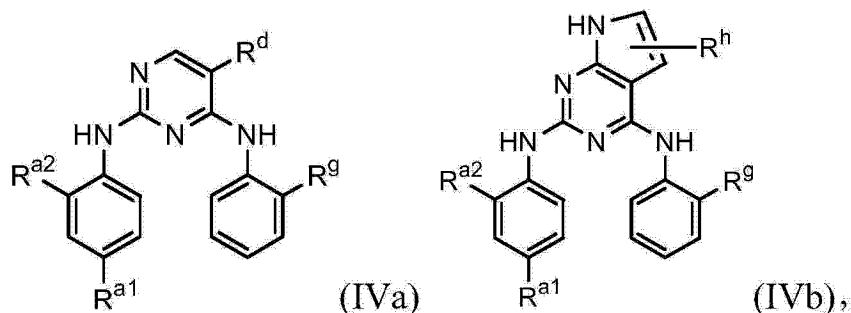
每个 Y 独立地为键、-O-、-S- 或 -NR¹-;

每次出现时, R¹和 R²独立地为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基;

每个 X₁和 X₂独立地选自 CH 和 N;和

R⁴选自烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基和杂芳基。

17. 权利要求 16 所述的方法,其中式 (III) 化合物表示为式 (IVa) 或式 (IVb) 或其药学上可接受的盐:

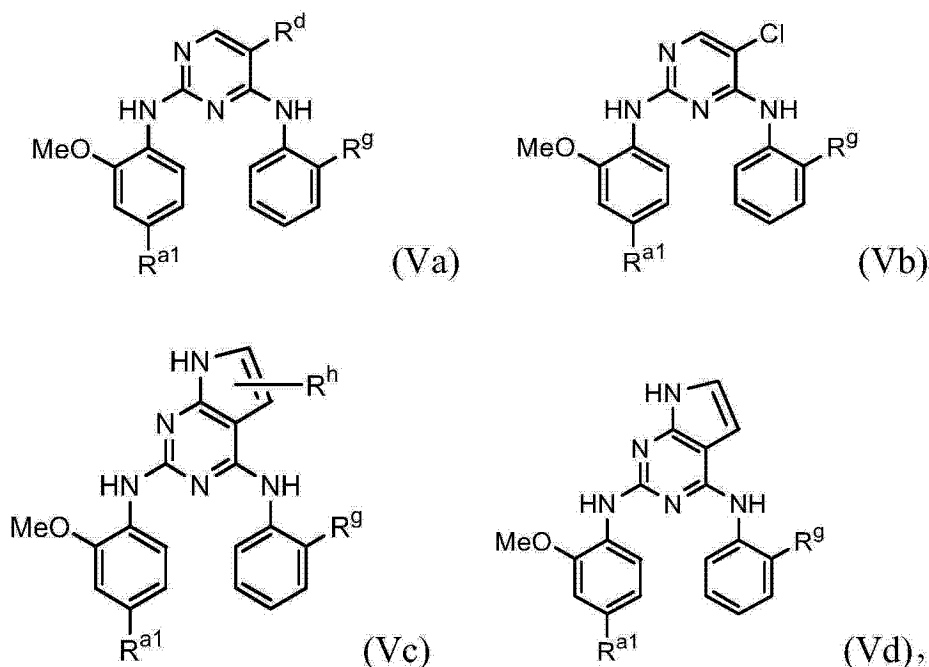


其中 R^{a2};R^g;R^d;R^h;和 R^{a1}如式 (III) 中所定义。

18. 权利要求 16 所述的方法,其中 R^{a2}为甲氧基、乙氧基或丙氧基基团。

19. 权利要求 17 所述的方法,其中 R^d为 Cl、F、CF₃或环丙基。

20. 权利要求 16 所述的方法,其中式 (III) 化合物表示为任一式 (Va)-(Vd) 或其药学上可接受的盐:



其中 R^g;R^d;R^h;和 R^{a1}如式 (III) 中所定义。

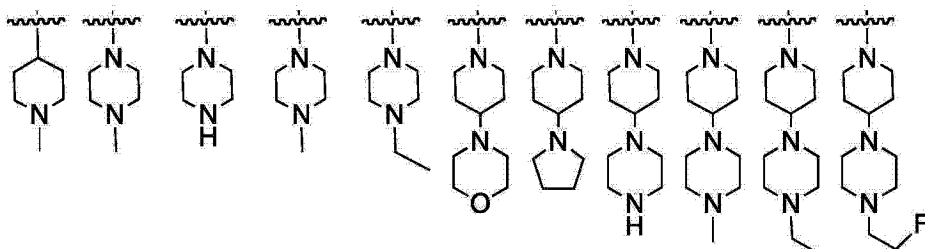
21. 权利要求 20 所述的方法,其中 R^g为 -P(O)(CH₃)₂或 -S(O)₂(CH(CH₃)₂)。

22. 权利要求 20 所述的方法,其中 R^{a1}为:

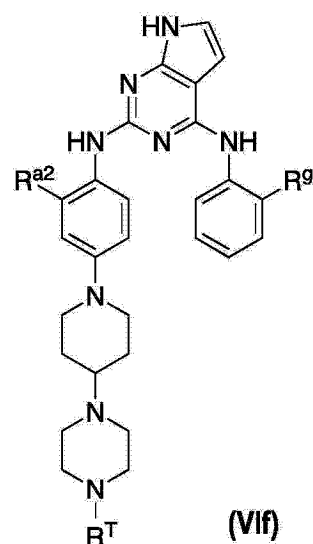
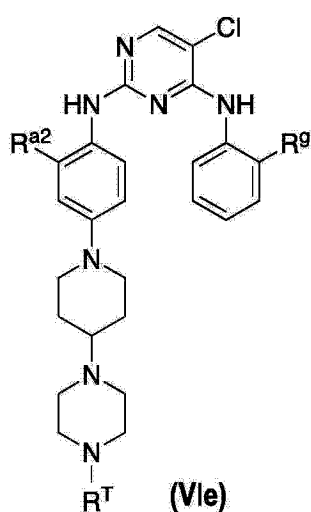
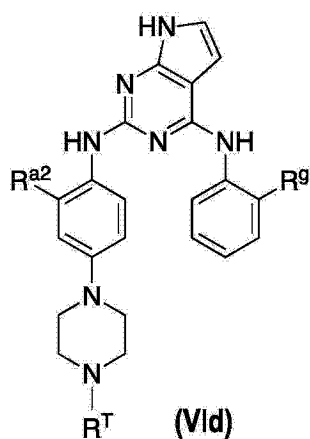
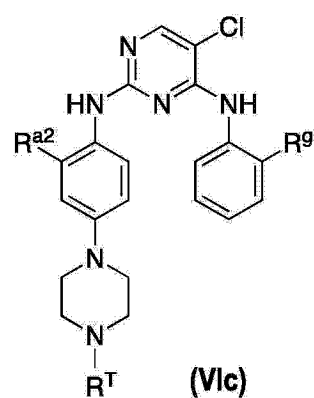
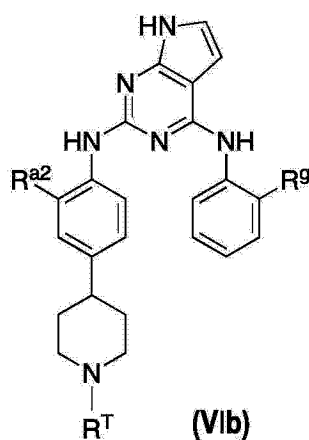
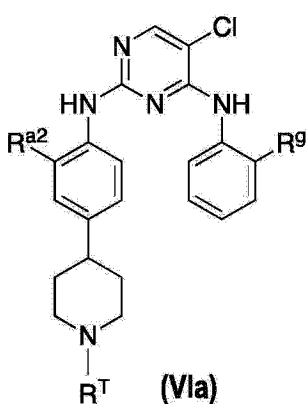


其中 X_1 、 X_2 和 R^4 如式 (III) 中所定义。

23. 权利要求 22 所述的方法, 其中 R^{a1} 选自任一下述基团:



24. 权利要求 16 所述的方法, 其中式 (III) 化合物表示为任一式 (VIa)-(VI f) 或其药学上可接受的盐:



其中

R^{a2} 为甲氧基、乙氧基或丙氧基基团;

R^g 为 $-P(O)(CH_3)_2$ 、 $-P(O)(CH_2CH_3)_2$ 或 $-S(O)_2(CH(CH_3)_2)_2$; 和,

R^T 为 H、酰基或 C_1 - C_4 烷基, 其可以是取代的或未取代的。

抑制 EGFR 导致的癌症中细胞增殖的方法

[0001] 本申请是中国发明专利申请(申请日:2011年10月14日;申请号:201180049813.4(国际申请号:PCT/US2011/056457);发明名称:抑制 EGFR 导致的癌症中细胞增殖的方法)的分案申请。

[0002] 发明背景

[0003] 本发明涉及用于抑制细胞增殖和治疗一些癌症的药物组合物和方法。

[0004] 促使癌细胞增殖的特定基因损伤(例如引起某些酪氨酸激酶激活的那些损伤)使一些癌症对于抑制激酶的治疗剂高度敏感。然而,这类制剂的疗效往往受限于靶激酶结构域的突变的发展,该突变通过减少抑制剂结合来赋予抗性。

[0005] 例如,ABL 激酶抑制剂伊马替尼已经彻底改变了慢性粒细胞白血病(CML)患者的治疗,所述患者的疾病由激活的 BCR-ABL 融合癌蛋白所导致。然而,随着时间的推移,ABL 激酶结构域的突变的发展在相当比例的患者中赋予抗性。第二代 ABL 抑制剂达沙替尼和尼罗替尼由于是更有效的 ABL 抑制剂,因而表现出卓越的疗效,并能够克服大部分伊马替尼所表现出的基于突变的抗性。

[0006] 已确认出更多的表皮生长因子受体(EGFR)的近期基因损伤,显示出对第一代抑制剂的敏感性和对基于突变的抗性的易感性的相似模式。EGFR 的激活突变已在 10%-20% 的 NSCLC 患者中确认,并且 EGFR 激酶抑制剂吉非替尼和厄洛替尼在这些患者中已证明具有活性。

[0007] EGFR 的激活突变可表现为激酶结构域的小缺失或点突变的形式,已在科学文献中详尽地分类和描述。参见例如,Sharma, Nat. Rev. Cancer 7:169(2007)(以氨基酸 747 的框内缺失为特征的外显子 19 的突变,占突变的 45%,外显子 21 的突变导致 L858R 置换,占突变的 40%-45%,余下的 10% 的突变涉及外显子 18 和 20);Sordella 等人, Science 305:1163(2004);和 Mulloy 等人, Cancer Res. 67:2325(2007)。

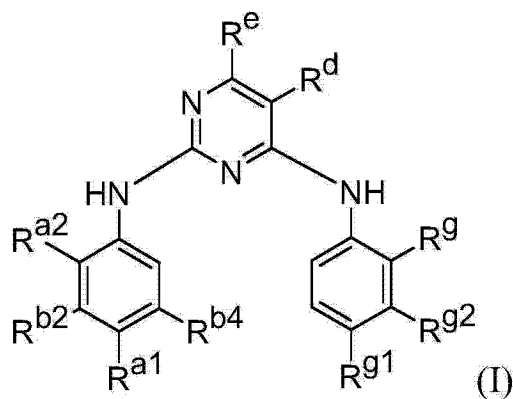
[0008] 然而,吉非替尼和厄洛替尼的临床疗效最终受限于抗性的发展,例如 EGFR 激酶结构域门卫残基(gatekeeper residue)(T790M)的突变,其发生在 50% 的患者中。

[0009] 明确需要抑制具有 EGFR 突变(如 T790M)的细胞的新方法,所述突变对当前的 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂(“TKI”)产品赋予抗性。治疗与这种突变相关的癌症的新疗法将具有深远的利益。

[0010] 发明概述

[0011] 本发明的特征在于一类具有下式(I)结构的化合物:

[0012]



[0013] 其中

[0014] R^d 为H、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基或卤素；且 R^e 为H或 NH_2 ；或 R^d 和 R^e 与它们所连接的嘧啶环原子一起，形成含1、2或3个独立地选自N、S和O的杂原子的5-或6-元环，其中所述5-或6-元环被 R^h 取代；

[0015] R^h 为H、 C_{1-4} 烷基或卤素；

[0016] R^{a2} 为H、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基或 C_{3-6} 环烷基氧基；

[0017] R^g 为 $-P(O)(R^{3A})(R^{3B})$ 、 $-S(O)N(R^{3C})(R^{3D})$ 、 $-S(O)_2R^{3E}$ 、 $-OC(O)N(R^{3F})(R^{3G})$ 、 $-NR^{3H}C(O)OR^{3I}$ 、含1、2、3或4个N原子的5或6元杂环，或与 R^{g2} 结合形成5-至7-元杂环，其中每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{3C} 、 R^{3D} 、 R^{3E} 、 R^{3F} 、 R^{3G} 、 R^{3H} 和 R^{3I} 独立地选自H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基和杂烷基，或 R^{3A} 和 R^{3B} ，或 R^{3C} 和 R^{3D} ，或 R^{3F} 和 R^{3G} ，与它们所连接的原子一起，结合形成未取代的或取代的5-或6-元杂环；

[0018] R^{g2} 为H、F、 C_{1-4} 烷基，或 R^{g2} 和 R^g 与它们所连接的原子一起形成含1-3个独立地选自P、N、O和S的杂原子的5-至7-元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

[0019] R^{g1} 为H、F或者含1或2个N原子的5或6元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

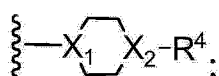
[0020] R^{b2} 为H、F或者含1、2或3个N或O原子的5或6元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

[0021] R^{b4} 为H、F、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基或 C_{3-6} 环烷基氧基、 $-OC(O)N(R^{5A})(R^{5B})$ 、 $-NR^{5C}C(O)OR^{5D}$ ；含1、2或3个N或O原子的5或6元杂环，所述杂环为未取代的或取代的，或 R^{b4} 和 R^{a1} 与它们所连接的原子一起形成含1、2或3个N或O原子的6元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

[0022] 每个 R^{5A} 、 R^{5B} 、 R^{5C} 和 R^{5D} 独立地选自H、烷基、烯基、炔基和杂烷基，或 R^{5A} 和 R^{5B} 与它们所连接的原子一起，结合形成5-或6-元杂环，所述杂环为未取代的或取代的；

[0023] R^{a1} 与 R^{b4} 结合形成6元杂环，或者 R^{a1} 为H、卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-R^1$ 、 $-OR^2$ 、 $-O-NR^1R^2$ 、 $-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-OR^2$ 、 $-C(O)YR^2$ 、 $-OC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(O)YR^2$ 、 $-SC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(=S)YR^2$ 、 $-OC(=S)YR^2$ 、 $-C(=S)YR^2$ 、 $-YC(=NR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-OR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-NR^1R^2)YR^2$ 、 $-YP(=O)(YR^1)(YR^2)$ 、 $-NR^1SO_2R^2$ 、 $-S(O)_rR^2$ 、 $-SO_2NR^1R^2$ 、 $-NR^1SO_2NR^1R^2$ 或

[0024]



[0025] 每个Y独立地为键、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-NR^1-$ ；

[0026] 每次出现时, R^1 和 R^2 独立地选自 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基和杂芳基;

[0027] 每个 X_1 和 X_2 独立地选自 CH 和 N; 和

[0028] R^4 选自烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基和杂芳基。在具体的实施方案中, R^4 部分携带一个或多个如下面进一步讨论的取代基。

[0029] 在具体的实施方案中, R^d 还可以是环丙基。

[0030] 当前特别感兴趣的用于实施本发明方法的化合物的一个亚类为式 (I) 的那些化合物, 其中 R^{a2} 为 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基或 C_{3-6} 环烷基氧基, 且 R^g 为 $-P(O)(R^{3A})(R^{3B})$ 、 $-S(O)N(R^{3C})(R^{3D})$ 、 $-S(O)_2R^{3E}$, 以及这类化合物的药学上可接受的盐。

[0031] 式 (I) 的化合物、它的亚类和它的各种实施方案 (如下面进一步详细讨论) 为 EGFR 突变株的有效抑制剂, 包括 (a) 带有活性突变如 L858R 或 delE746_A750、(b) 带有赋予抗性的突变如 T790M 和 (c) 带有两种类型的突变的 EGFR 蛋白。这是重要的, 因为虽然以 EGFR 活性突变为特征的癌症可以使用厄洛替尼或吉非替尼治疗, 但如果 EGFR 具有抗性突变, 不论是单独的或与 (另外的) 激活突变结合, 则情况却不同。现有的 EGFR 抑制剂如厄洛替尼和吉非替尼无法有效地抑制耐药的 EGFR 突变株或与它们相关的癌症, 使得病人极度缺乏治疗选择。因为本文所公开的化合物可抑制以前的 TKI 不能抑制的类型, 故有兴趣将它们作为新的治疗选择。

[0032] 此外, 特别有意义的是, 与野生型 EGFR 相比, 式 (I) 化合物可优先抑制突变型 EGFR, 特别是当该优先性为至少 10 倍, 甚至 100 倍, 并且在 500 倍或更多倍时最有意义。这一优先抑制可用常规方法容易地测定, 如用于测定化合物对野生型和突变型 EGFR 的相对 IC50 值的生化方法, 其通过测量用各种 EGFR 形式转化的细胞的相对生长抑制效果, 等等。相比于野生型 EGFR, 对突变型 EGFR 的优先抑制有助于降低风险。

[0033] 因此, 本发明提供了通过给予受试者治疗有效量的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐在所述受试者中治疗 EGFR 导致的癌症的方法。所述方法对于以下受试者尤其重要, 其具有厄洛替尼或吉非替尼难治的癌症, 或具有以存在 T790M EGFR 突变或其他与厄洛替尼或吉非替尼抵抗有关的突变 (单独或与激活突变相结合) 为特征的癌症。

[0034] 本发明还提供了在受试者中治疗 EGFR 导致的癌症的方法, 包括以下步骤: (a) 提供具有特征在于存在表皮生长因子受体激酶 (EGFR) 突变的癌症的受试者, 和 (b) 给予所述受试者治疗有效量的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐。例如, EGFR 导致的癌症可以以存在一个或多个突变为特征, 选自: (i) L858R、(ii) T790M、(iii) L858R 和 T790M 二者、(iv) delE746_A750、(v) delE746_A750 和 T790M 二者, 以及本文所述的任何其他 EGFR 突变。

[0035] 在上述方法中, EGFR 导致的癌症可以是非小细胞肺癌 (NSCLS); 胶质母细胞瘤; 胰腺癌; 头颈癌 (例如, 鳞状细胞癌); 乳腺癌; 结肠直肠癌; 上皮癌; 卵巢癌; 前列腺癌; 腺癌, 或任何 EGFR 导致的癌症。

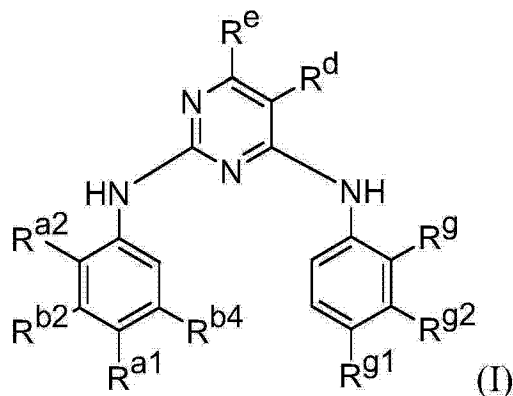
[0036] 在一个相关的方面中, 本发明的特征在于抑制表达 EGFR 突变株的细胞增殖的方法, 所述方法包括: 使式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐以足以抑制增殖的量接触所述细胞。例如, 所述细胞可以以存在一个或多个 EGFR 突变为特征, 选自: (i) L858R、(ii) T790M、(iii) L858R 和 T790M 二者、(iv) delE746_A750、(v) delE746_A750 和 T790M 二者, 以及本文所述的任何其他 EGFR 突变。在具体的实施方案中, 所述细胞为癌症细胞 (例如, 来

源于非小细胞肺癌 (NSCLS) ;胶质母细胞瘤 ;胰腺癌 ;头颈癌 (例如,鳞状细胞癌) ;乳腺癌 ;结肠直肠癌 ;上皮癌 ;卵巢癌 ;前列腺癌 ;腺癌,或本文所述的任何其他表达 EGFR 的癌症的细胞)。

[0037] 本发明的特征还在于通过给予受试者足以治疗癌症的量的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐在受试者中治疗第一激酶 (选自厄洛替尼、吉非替尼及其药学上可接受的盐) 抑制剂难治的 EGFR 导致的癌症的方法。

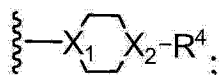
[0038] 在上述任何抑制细胞增殖或治疗具有 EGFR 导致的癌症的患者的方法中,式 (I) 化合物用下式描述 :

[0039]



[0040] 在式 (I) 中, R^d 为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基或卤素 ;且 R^e 为 H 或 NH_2 ;或 R^d 和 R^e 与它们所连接的嘧啶环原子一起,形成含 1,2 或 3 个独立地选自 N、S 和 O 的杂原子的 5- 或 6- 元环,其中所述 5- 或 6- 元环被 R^h 取代 ; R^h 为 H、 C_{1-4} 烷基或卤素 ; R^{a2} 为 H、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基或 C_{3-6} 环烷基氧基 ; R^g 为 $-P(O)(R^{3A})(R^{3B})$ 、 $-S(O)N(R^{3C})(R^{3D})$ 、 $-S(O)_2R^{3E}$ 、 $-OC(O)N(R^{3F})(R^{3G})$ 、 $-NR^{3H}C(O)OR^{3I}$ 、含 1,2,3 或 4 个 N 原子的 5 或 6 元杂环,或与 R^{g2} 结合形成 5- 至 7- 元杂环 ;每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{3C} 、 R^{3D} 、 R^{3E} 、 R^{3F} 、 R^{3G} 、 R^{3H} 和 R^{3I} 独立地选自 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基和杂烷基,或者 R^{3A} 和 R^{3B} ,或 R^{3C} 和 R^{3D} ,或 R^{3F} 和 R^{3G} ,与它们所连接的原子一起,结合形成未取代的或取代的 5- 或 6- 元杂环 ; R^{g2} 为 H、F、 C_{1-4} 烷基,或者 R^{g2} 和 R^g 与它们所连接的原子一起形成含 1-3 个独立地选自 P、N、O 和 S 的杂原子的 5- 至 7- 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的 ; R^{g1} 为 H、F 或者含 1 或 2 个 N 原子的 5 或 6 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的 ; R^{b2} 为 H、F,或者为含 1,2 或 3 个 N 或 O 原子的 5 或 6 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的 ; R^{b4} 为 H、F、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 烯基氧基、或 C_{3-6} 环烷基氧基、 $-OC(O)N(R^{5A})(R^{5B})$ 、或 $-NR^{5C}C(O)OR^{5D}$;含 1,2 或 3 个 N 或 O 原子的 5 或 6 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的,或者 R^{b4} 和 R^{a1} 与它们所连接的原子一起形成含 1,2 或 3 个 N 或 O 原子的 6 元杂环,所述杂环为未取代的或取代的 ;每个 R^{5A} 、 R^{5B} 、 R^{5C} 和 R^{5D} 独立地选自 H、烷基、烯基、炔基和杂烷基,或 R^{5A} 和 R^{5B} 与它们所连接的原子一起,结合形成未取代的或取代的 5- 或 6- 元杂环 ; R^{a1} 与 R^{b4} 结合形成 6 元杂环,或 R^{a1} 为 H、卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-R^1$ 、 $-OR^2$ 、 $-O-NR^1R^2$ 、 $-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-OR^2$ 、 $-C(O)YR^2$ 、 $-OC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(O)YR^2$ 、 $-SC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(=S)YR^2$ 、 $-OC(=S)YR^2$ 、 $-C(=S)YR^2$ 、 $-YC(=NR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-OR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-NR^1R^2)YR^2$ 、 $-YP(=O)(YR^1)(YR^2)$ 、 $-NR^1SO_2R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-SO_2NR^1R^2$ 、 $-NR^1SO_2NR^1R^2$ 或

[0041]

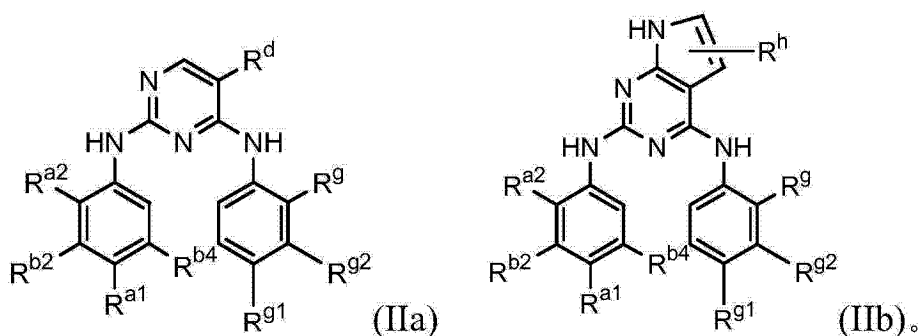


[0042] 每个 Y 独立地为键、-O-、-S- 或 -NR¹-; 每次出现时, R¹和 R²独立地选自 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基和杂芳基; 每个 X₁和 X₂独立地选自 CH 和 N; 且 R⁴选自烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基和杂芳基。

[0043] 在式 (I) 中, 对于选自 C₁₋₆烷氧基、C₃₋₆烯基氧基、C₃₋₆环烷基氧基、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基和杂芳基的任何 R^{a2}、R^d、R^h、R¹、R²、R⁴、R^{3A}、R^{3B}、R^{3C}、R^{3D}、R^{3E}、R^{3F}、R^{3G}、R^{3H}和 R^{3I}, 所述取代基为取代的或未取代的。

[0044] 在具体的实施方案中, 用于实施本发明方法的式 (I) 化合物进一步用式 (IIa) 或式 (IIb) 描述:

[0045]



[0046] 在式 (IIa) 和 (IIb) 中, R^{a1}; R^{a2}; R^{b2}; R^{b4}; R^g; R^{g1}; R^{g2}; R^d; 和 R^h如上文所定义。

[0047] 在具体的实施方案中, 用于实施本发明方法的化合物为式 (I)、(IIa) 或 (IIb) 化合物, 其中 R^{g1}、R^{g2}、R^{b2}和 R^{b4}为 H 或 F。

[0048] 在另一个实施方案中, 所使用的化合物为式 (IIa) 化合物, 其中 R^d为 Cl、F 或 CF₃。

[0049] 在另一个实施方案中, 所使用的化合物为式 (I)、(IIa) 或 (IIb) 化合物, 其中 R^{a1}为 -OMe。在其他实施方案中, R^{a1}为 YP(=O)(YR¹)(YR²)、-NR¹SO₂R²、-S(O)₂R²、-SO₂NR¹R²或 -NR¹SO₂NR¹R²。

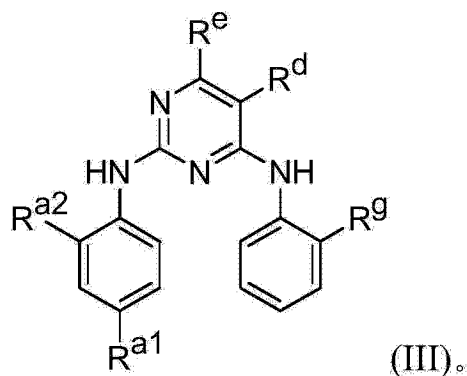
[0050] 在另一个实施方案中, 所使用的化合物为式 (I)、(IIa) 或 (IIb) 化合物, 其中 R^{a2}为 C₁₋₆烷氧基、C₃₋₆烯基氧基或 C₃₋₆环烷基氧基; 并且在其具体的实施方案中, R^{a2}为甲氧基。

[0051] 在另一个实施方案中, 所述化合物为式 (I)、(IIa) 或 (IIb) 化合物, 且 R^g为 -P(O)(R^{3A})(R^{3B}) 或 -S(O)₂R^{3E}。在那些化合物的一个实施方案中, R^{a2}为 C₁₋₆烷氧基、C₃₋₆烯基氧基或 C₃₋₆环烷基氧基。

[0052] 在另一个实施方案中, 所述化合物为式 (I)、(IIa) 或 (IIb) 化合物, 且 R^{a1}为含一个或两个选自 N 和 O 的杂原子的 5- 或 6- 元杂环, 所述环为未取代的或被烷基基团取代的。

[0053] 在具体的实施方案中, 所述方法使用可进一步用式 (III) 描述的式 (I) 化合物:

[0054]



[0055] 在式 (III) 中, R^{a2} 为烷氧基; R^e 为 $-P(O)(R^{3A})(R^{3B})$ 、 $-S(O)N(R^{3C})(R^{3D})$ 或 $-S(O)_2R^{3E}$; 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{3C} 、 R^{3D} 和 R^{3E} 独立地为 H 或 C_{1-7} 烷基, 或 R^{3A} 和 R^{3B} , 或 R^{3C} 和 R^{3D} , 与它们所连接的原子一起, 结合形成未取代的或取代的 5- 或 6- 元杂环; R^d 为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基或卤素; 且 R^e 为 H 或 NH_2 ; 或 R^d 和 R^e 与它们所连接的嘧啶环原子一起, 形成含一个或两个独立地选自 N、S 或 O 的杂原子的 5- 或 6- 元环, 并且所述 5- 或 6- 元环被 R^h 取代; R^h 为 H、 C_{1-4} 烷基或卤素; R^{a1} 为卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-R^1$ 、 $-OR^2$ 、 $-O-NR^1R^2$ 、 $-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-NR^1R^2$ 、 $-NR^1-OR^2$ 、 $-C(O)YR^2$ 、 $-OC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(O)YR^2$ 、 $-SC(O)YR^2$ 、 $-NR^1C(=S)YR^2$ 、 $-OC(=S)YR^2$ 、 $-C(=S)YR^2$ 、 $-YC(=NR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-OR^1)YR^2$ 、 $-YC(=N-NR^1R^2)YR^2$ 、 $-YP(=O)(YR^1)(YR^2)$ 、 $-NR^1SO_2R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-SO_2NR^1R^2$ 、 $-NR^1SO_2NR^1R^2$ 或

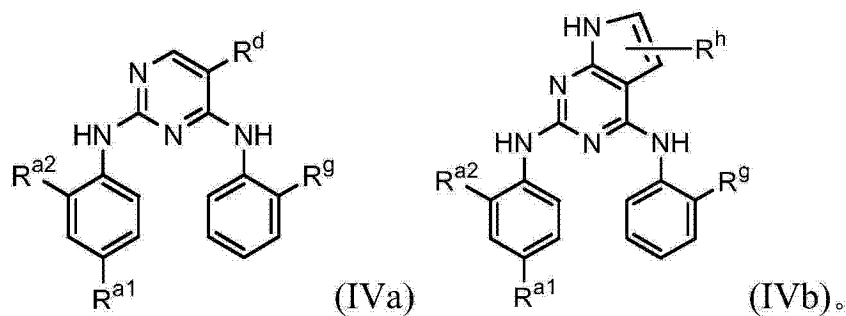
[0056]



[0057] 每个 Y 独立地为键、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-NR^1-$; 每次出现时, R^1 和 R^2 独立地为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基; 每个 X_1 和 X_2 独立地为 CH 或 N; 且 R^4 为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂烷基、杂环基或杂芳基。

[0058] 具体的实施方案使用可进一步用式 (IVa) 或式 (IVb) 描述的式 (III) 化合物:

[0059]



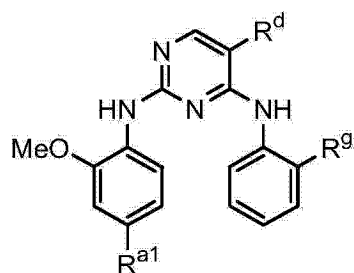
[0060] 在式 (IVa) 和 (IVb) 中, R^{a2} ; R^e ; R^d ; R^h ; 和 R^{a1} 如上文中式 (III) 所定义。

[0061] 在具体的实施方案中, 所使用的化合物为任一式 (III)、(IVa) 和 (IVb) 的化合物, 并且 R^{a2} 为甲氧基、乙氧基或丙氧基基团。

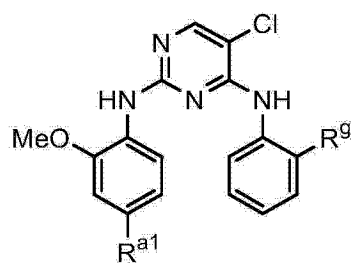
[0062] 在具体的实施方案中, 所使用的化合物为式 (III) 和 (IVa) 的化合物, 并且 R^d 选自 Cl、F、 CF_3 和环丙基;

[0063] 在其他实施方案中, 式 (III) 化合物用任一式 (Va)–(Vd) 描述:

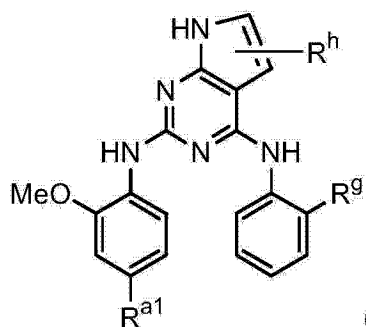
[0064]



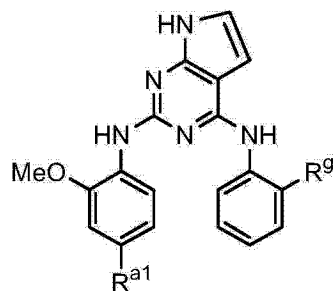
(Va)



(Vb)



(Vc)



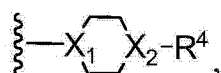
(Vd)

[0065] 在式 (Va)–(Vd) 中, R^g ; R^d ; R^h ; 和 R^{a1} 如上文中式 (III) 所定义。

[0066] 在具体的实施方案中, 所使用的化合物为任一上述式的化合物, 并且 R^g 为 $-P(O)(CH_3)_2$ 、 $-P(O)(CH_2CH_3)_2$ 或 $-S(O)_2(CH(CH_3)_2)_2$ 。

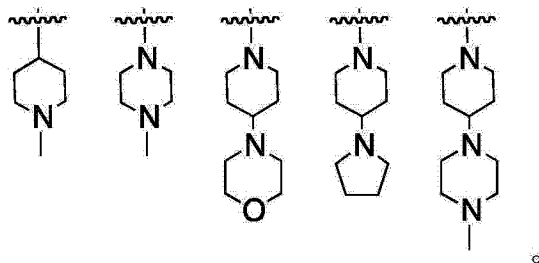
[0067] 在具体的实施方案中, 任一上述式的化合物具有 R^{a1} 部分:

[0068]



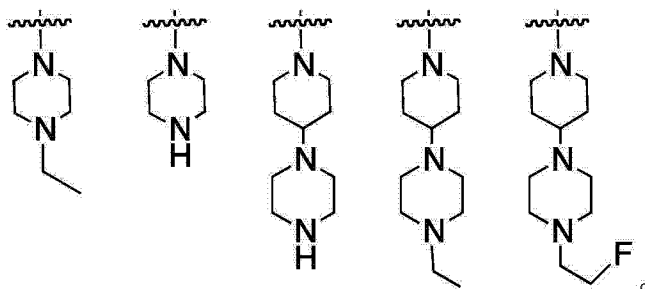
[0069] 其中 X_1 、 X_2 和 R^4 如上文中式 (III) 所定义。例如, R^{a1} 可选自任一下述基团:

[0070]



[0071] R^{a1} 也可选自带有更多取代或更少取代的基团, 如下列其他示例性 R^{a1} 选择:

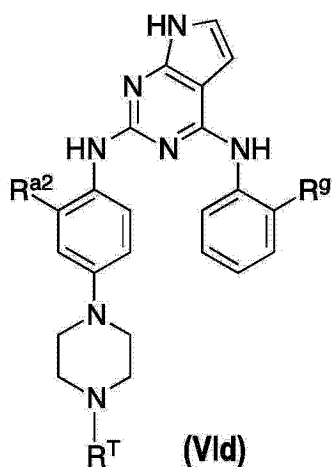
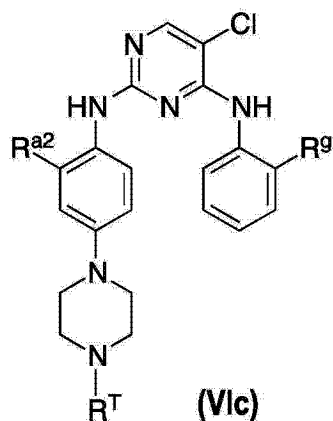
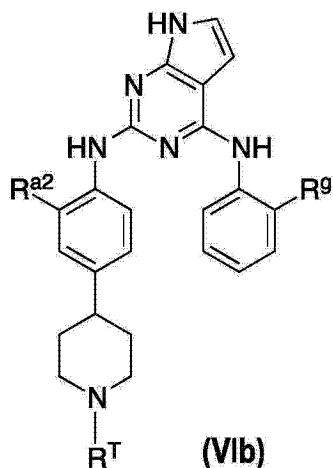
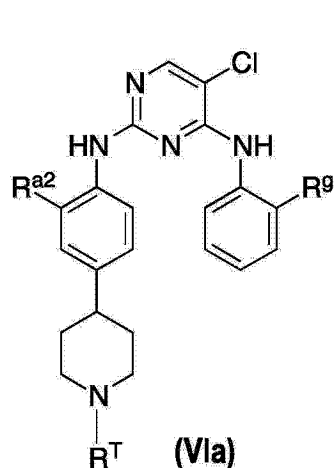
[0072]



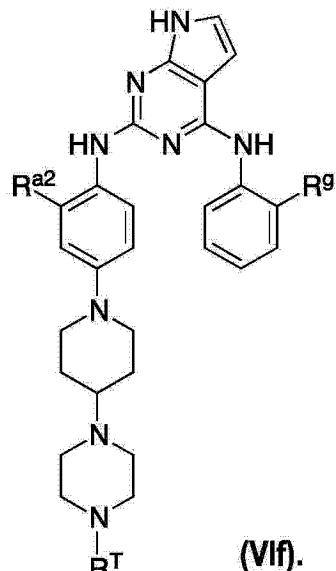
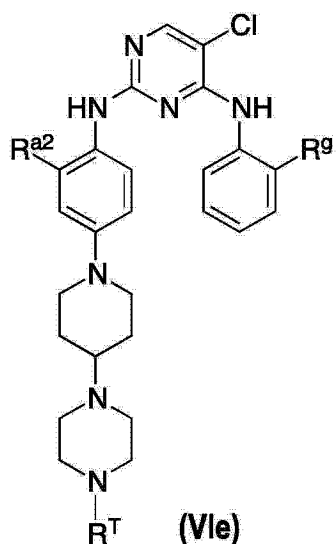
[0073] 以及本文中例示了更广泛的 R^{a1} 选择的大量其他实例所例示。

[0074] 在具体的实施方案中, 式 (I) 化合物进一步用式 (VIa)–(VI f) 之一描述:

[0075]



[0076]



[0077] 在式 (VIa)–(VIe) 中, R^{a2} 为甲氧基、乙氧基或丙氧基基团; R^9 为 $-P(0)(CH_3)_2$ 、 $-P(0)(CH_2CH_3)_2$ 或 $-S(0)_2(CH(CH_3)_2)_2$; 并且, 在具体的实施方案中, R^T 为甲基。在式 (VIa)–(VIe) 的其他这类实施方案中, R^T 为 H、酰基或 C_1 – C_4 烷基, 例如 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 或 $-CH_2CH_2OH$, 所述烷基可以是取代的或未取代的。

[0078] 在任一上述式中,所述化合物可以是游离碱或其药学上可接受的盐的形式。

[0079] 式(I)化合物包括描述于PCT公开号W02009/143389、W0 2006/021454、W0 2006/021457和W02009/126515中的那些,其中将每篇引入本文作为参考。

[0080] 定义

[0081] 对本发明方法的临床响应可根据实体瘤(RECIST)指导方针中的响应评价标准(参见Eur. J. Cancer 45:228(2009))进行分级,其定义癌症患者在治疗过程中改善(“响应”)、保持不变(“稳定”)或恶化(“进展”)的情况。完全响应的特征在于:(i)所有目标病变消失;和(ii)任一病理淋巴结(无论是目标或非目标)在短轴上必须减少到<10mm。部分响应的特征在于:(i)以基线总直径为参考,目标病灶的直径总和至少减少了30%。渐进性疾病的特征在于:(i)以研究中的最小总和为参考(这包括基线总和,如果其在研究中最小的),目标病变的直径总和至少增加5%、10%或20%;或(ii)出现一个或多个新的病变。

[0082] 术语“给药”是指给予哺乳动物一定剂量的药物组合物的方法,其中所述方法是例如口服、静脉内、腹膜内、动脉内或肌内。优选的给药方法可以有所不同,取决于各种因素,例如,药物组合物的成分、潜在或实际疾病的位置和疾病的严重程度。虽然式I化合物通常可口服给药,但其他的给药途径在进行本发明的方法时也是适用的。

[0083] “EGFR导致的癌症”是指以改变EGFR核酸分子或多肽的生物活性的EGFR基因突变(包括本文提到的具体突变)为特征的癌症。EGFR导致的癌症可出现在任何组织,包括脑、血液、结缔组织、肝、口、肌肉、脾、胃、睾丸和气管。EGFR导致的癌症包括非小细胞肺癌(NSCLS),包括一个或多个鳞状细胞癌、腺癌、腺癌、细支气管肺泡癌(BAC)、局灶侵入性BAC,具有BAC特征的腺癌,以及大细胞癌;神经肿瘤,如胶质母细胞瘤;胰腺癌;头颈癌症(例如,鳞状细胞癌);乳腺癌;结肠直肠癌;上皮癌,包括鳞状细胞癌;卵巢癌;前列腺癌;腺癌;以及包括EGFR介导的癌症。

[0084] “EGFR突变株”或“突变株”包括EGFR蛋白或EGFR编码序列的氨基酸或核苷酸序列中一个或多个缺失、置换或添加。EGFR突变株还可以包括一个或多个缺失、置换或添加,或其片段,只要该突变株相对于野生型EGFR保留或增加了酪氨酸激酶活性。在具体的EGFR突变中,激酶或磷酸化活性相对于野生型EGFR可以增加(例如,至少5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或甚至100%)。具体的EGFR突变株如本文所述,其中在相对于人EGFR中氨基酸的位置提供了突变,如NCBI GenBank Reference Sequence:NP_005219.2中提供的序列所述。

[0085] 本文使用的术语“抑制表达EGFR突变株的细胞增殖”是指适度地减缓、停止或逆转表达EGFR的细胞在体外或在体内的生长速率。理想的是,当使用合适的测定细胞生长速率的方法进行测定时(例如,本文所述的细胞生长测定法),生长速率至少减慢10%、20%、30%、50%或甚至70%。EGFR突变株可以是本文所述的任何EGFR突变株。

[0086] 本文使用的术语“难治的”指的是尽管使用了具体的治疗但仍为渐进性的癌症。所述癌症可以是从小次给药治疗为难治的,或随着时间的推移在响应治疗时发展为难治的。对药物“抵抗”是指根据任何科学有效的比较分析所确定的对该药物的敏感性降低。

[0087] 术语“序列同一性”是指两个或多个核酸序列或者或两个或多个氨基酸序列之间共享同一性,以序列之间的同一性形式表达。序列同一性可以以同一性百分比的方

式来测量;百分比越高,序列越相同。当使用标准方法进行对比时,核酸或氨基酸序列的同系物或直系同源物具有相对高程度的序列同一性。用于比较的序列对比方法是本领域熟知的。各种程序(programs)和对比算法如下所述:Smith and Watermann, Adv. Appl. Math. 2:482(1981);Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443(1970);Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 85:2444(1988);Corpet 等人, Nuc. Acid Res. 16:10881(1988);Huang 等人, Computer Appls. in the Biosciences 8:155(1992);和 Pearson 等人, Meth. Mol. Biol. 24:307(1994)。Altschul 等人(J. Mol. Biol. 215:403(1990))提供了详细考虑的序列对比方法和同源性计算。NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul 等人, J. Mol. Biol. 215:403(1990))可从几个来源获得,包括National Center for Biological Information (NCBI)网站,用于连接序列分析程序 blastp、blastn、blastx、tblastn 和 tblastx。额外的信息可以在 NCBI 网站上找到。BLASTN 用于比较核酸序列,而 BLASTP 用于比较氨基酸序列。为比较两个核酸序列,选项可以按如下设置:-i 设置为包含要比较的第一个核酸序列的文件;-j 设置为包含要比较的第二个核酸序列的文件;-p 设置为 blastn;-o 设置为任何所需的文件名;-q 设置为 -1;-r 设置为 2;和所有其他选项保留它们的默认设置。一旦对比,匹配的数目根据计数两个序列中存在的相同的核苷酸或氨基酸残基的位置数来确定。序列同一性百分比通过所标识序列中设置的序列长度或联接的长度(如源于所标识序列中设置的 30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350 或 400 个连续的核苷酸或氨基酸残基)除以匹配数,随后将所得的值乘以 100。两个核酸分子密切相关的一个指征是,这两个分子在严格的条件下相互杂交。严格的条件是序列依赖的,且在不同的环境参数下是不相同的。在严格的条件下杂交至 EGFR 基因序列的核酸分子通常在上述条件下,基于整个 EGFR 基因或所述基因的选定部分(例如,包含本文所述的突变密码子的基因的激酶结构域或片段)杂交至探针。

[0088] 本文使用的术语“治疗”是指为了预防和/或治疗目的给予药物组合物。“预防疾病”是指预防性处理尚未患病但容易患有特定疾病或处于特定疾病的风险的受试者。“治疗疾病”或用于“治疗性处理”是指向已经患有疾病的受试者给予治疗,以改善或稳定所述受试者的病症。因此,在权利要求书和实施方案中,治疗是以治疗或预防目的给药于受试者。

[0089] 术语“烷基”是指直链、支链、环状或多环非芳香烃基,其可以是取代的或未取代的。除非另有说明,“烷基”基团包含 1-8 个,且优选 1-6 个碳原子。低级烷基是指含 1-6 个碳原子的烷基基团。烷基的实例包括,但不限于,甲基、乙基、正丙基、异丙基、环丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、环丁基、戊基、异戊基、叔戊基、环戊基、己基、异己基、环己基和正庚基。示例性的取代烷基基团包括,但不限于,卤代烷基基团(例如,氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、2-氟乙基、3-氟丙基)、羟基甲基、2-羟基乙基、3-羟基丙基、苄基、取代的苄基和苯乙基。

[0090] 术语“烷氧基”是指烷基的亚类,其中烷基基团如上述定义,且通过氧桥 -O- 烷基连接所示数量的碳,其中所述烷基基团含有 1-8 个碳原子并且是取代的或未取代的。示例性的烷氧基基团包括,但不限于,甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、叔丁氧基、正丁氧基、仲戊氧基、-OCF₃和 -O- 环丙基。

[0091] 术语“卤代烷基”是指烷基的亚类,其中烷基基团如上述定义,且烷基的一个或多

个氢原子被卤素原子取代。示例性的卤代烷基基团包括,但不限于,三氟甲基、三氯甲基、五氟乙基等。

[0092] 术语“烯基”是指含一个或多个双键且具有 2-8 个碳原子的支链或直链烃基。烯基可任选包括单环或多环状环,其中每个环为 3-6 元。烯基基团可以是取代的或未取代的。烯基基团包括,但不限于,乙烯基、烯丙基、2- 环丙基 -1- 乙烯基、1- 丙烯基、1- 丁烯基、2- 丁烯基、3- 丁烯基、2- 甲基 -1- 丙烯基和 2- 甲基 -2- 丙烯基。

[0093] 术语“炔基”是指含一个或多个叁键且具有 2-8 个碳原子的支链或直链烃基。炔基基团可以是取代的或未取代的。炔基包括,但不限于,乙炔基、1- 丙炔基、2- 丙炔基、1- 丁炔基、2- 丁炔基和 3- 丁炔基。

[0094] 术语“环烷基”是指 3-13 个碳原子的环状或多环状烃基,其任何碳原子都是饱和的。环烷基基团可以是取代的或未取代的。示例性的环烷基基团包括,但不限于,环丙基、降冰片基、[2. 2. 2] 二环辛烷和 [4. 4. 0] 二环癸烷等,当作为其它烷基基团时可以任选被取代。

[0095] 术语“环烯基”是指含有一个或多个双键的 3-13 个碳原子,优选 5-8 个碳原子的环状或多环状烃基。环烯基基团可以是取代的或未取代的。示例性的环烯基基团包括,但不限于,环戊烯基、环己烯基和环辛烯基。

[0096] 术语“环炔基”是指含有一个或多个叁键的 5-13 个碳原子的环状或多环状烃基。环炔基基团可以是取代的或未取代的。

[0097] 术语“杂烷基”是指具有 1-14 个碳原子的支链或直链烷基、烯基或炔基基团,还具有 1、2、3 或 4 个独立地选自 N、O、S 和 P 的杂原子。杂烷基包括,但不限于,叔胺、仲胺、醚、硫醚、酰胺、硫酰胺 (thioamides)、氨基甲酸酯、硫代氨基甲酸酯 (thiocarbamates)、脲、亚胺、磷酸二酯 (phosphodiesteres)、氨基磷酸酯 (phosphoramidates)、磺酰胺和二硫化物 (disulfides)。杂烷基可任选包括单环、双环或三环状环,其中每个环为 3-6 元。杂烷基基团可以是取代的或未取代的。杂烷基的实例包括,但不限于,聚醚,如甲氧基甲基和乙氧基乙基。

[0098] 本文使用的“杂环”和“杂环基”是指具有 5-14 个环原子的非芳香环体系,其中一个或多个环碳,优选 1-4 个,各自被杂原子如 N、O、S 或 P 替换,其可单独使用或在“杂环基 - 烷基”(杂环基取代的 C_{1-6} 烷基)、“杂环基 - 烷氧基”(杂环基取代的 C_{1-6} 烷氧基)或“杂环氧基 - 烷基”(杂环氧基取代的 C_{1-6} 烷基)中作为较大基团的一部分,并且包括芳烷基、芳烷氧基和芳氧基烷基基团。杂环可以是取代的或未取代的并可包含 1、2 或 3 个稠合的或非稠合的环体系。理想的是,所述杂环为由 2-6 个碳原子和 1、2、3 或 4 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子组成的 5- 至 7- 元单环或 7- 至 14- 元双环杂环,并包括任一上述定义的杂环稠合到苯环上的任何双环基团。示例性的杂环包括,但不限于,3-1H- 苯并咪唑-2- 酮、(1- 取代的)-2- 氧代 - 苯并咪唑-3- 基、2- 四氢呋喃基、3- 四氢呋喃基、2- 四氢噻吩基、3- 四氢噻吩基、2- 吗啉基、3- 吗啉基、4- 吗啉基、2- 硫吗啉基、3- 硫吗啉基、4- 硫吗啉基、1- 吡咯烷基、2- 吡咯烷基、3- 吡咯烷基、1- 哌嗪基、2- 哌嗪基、1- 哌啶基、2- 哌啶基、3- 哌啶基、4- 哌啶基、4- 噻唑烷基、二唑酮基 (diazolonyl)、N- 取代的二唑酮基、1- 苯并吡咯烷酮 (1-phthalimidinyl)、苯并噁烷基 (benzoxanyl)、苯并吡咯烷基、苯并哌啶基、苯并氧杂环戊基、苯并硫杂环戊烷基 (benzothiolenyl) 和苯并噻烷基 (benzothianyl)。杂环基团可

包含两个或多个上面所列的环。杂环包括下述基团,其中非芳香含杂原子的环稠合到一个或多个芳香或非芳香环上,如在二氢吡啶基、色满基、菲啶基或四氢喹啉基中,其中连接基团或连接点在于非芳香含杂原子的环上。

[0099] 单独使用或作为较大基团(如“芳烷基”(芳基取代的 C_{1-6} 烷基)、“芳烷氧基”(芳基取代的 C_{1-6} 烷氧基)或“芳氧基-烷基”(芳氧基取代的 C_{1-6} 烷基)中)的一部分使用的术语“芳基”是指具有 6-14 个环原子的芳香单环或多环基团,如苯基、1-萘基、2-萘基、1-蒎基和 2-蒎基并且包括芳烷基、芳烷氧基和芳氧基烷基基团。“芳基”环可以是取代的或未取代的。术语“芳基”包括稠合的多环芳香环体系,其中芳香环稠合到一个或多个环上。芳基基团的非限制性实例包括苯基、羟基苯基、卤代苯基、烷氧基苯基、二烷氧基苯基、三烷氧基苯基、亚烷基二氧基苯基、萘基、菲基、蒎基、菲并(phenanthro)、1-萘基、2-萘基、1-蒎基和 2-蒎基。本文使用的术语“芳基”的范围内也包括下述基团,其中芳香环稠合到一个或多个非芳香环上,如在茚满基、菲啶基或四氢萘基中,其中连接基团或连接点在于芳香环上。

[0100] 本文使用的术语“杂芳基”是指稳定的杂环基,和具有 5-14 个环原子的多杂环芳香基团。杂芳基基团可以是取代的或未取代的并且可以包含单环或多环状环体系。典型的杂芳环的实例包括 5-元单环,如噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、呋喃基、异噻唑基、呋喃基、异噻唑基和噻唑基;6-元单环,如吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基和三嗪基;和多环杂环,如苯并[b]噻吩基、萘并[2,3-b]噻吩基、噻蒎基、异苯并呋喃基、色烯基、咕吨基、苯并氧硫杂环己烯基(phenoxathieryl)、吲哚基、异吲哚基、吲哚基、吲唑基、嘌呤基、异喹啉基、喹啉基、酞嗪基、萘啶基、喹喔啉基、喹唑啉基、苯并噻唑、苯并咪唑、四氢喹啉、噌啉基、蝶啶基、咪唑基、 β -咪唑基、菲啶基、吡啶基、萘嵌间二氮苯基(perimidinyl)、菲咯啉基(phenanthrolinyl)、吩嗪基、异噻唑基、吩噻嗪基和吩噻嗪基(参见,例如 Katritzky, Handbook of Heterocyclic Chemistry)。示例性的杂芳基环包括,但不限于,2-呋喃基、3-呋喃基、N-咪唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、5-咪唑基、3-异噻唑基、4-异噻唑基、5-异噻唑基、2-噻二唑基、5-噻二唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-嘧啶基、3-哒嗪基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、5-四唑基、2-三唑基、5-三唑基、2-噻吩基、3-噻吩基、咪唑基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、吲哚基、喹啉基、苯并三唑基、苯并噻唑基、苯并噻唑基、苯并咪唑基、异喹啉基、吲哚基、异吲哚基、吡啶基和苯并异噻唑基。杂芳基基团还包括下述基团,其中杂芳香环稠合到一个或多个芳香或非芳香环上,其中连接基团或连接点在于杂芳香环上,如四氢喹啉、四氢异喹啉和吡啶并[3,4-d]嘧啶基、咪唑并[1,2-a]嘧啶基、咪唑并[1,2-a]吡嗪基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、咪唑并[1,2-c]嘧啶基、吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪基、吡唑并[1,5-c]嘧啶基、咪唑并[1,2-b]哒嗪基、咪唑并[1,5-a]嘧啶基、吡唑并[1,5-b][1,2,4]三嗪、喹啉基、异喹啉基、喹喔啉基、咪唑并三嗪基、吡咯并[2,3-d]嘧啶基、三唑并嘧啶基和吡啶并吡嗪基。

[0101] 芳基基团或杂芳基基团可包含一个或多个取代基。芳基或杂芳基基团的示例性取代基包括卤素(F、Cl、Br 或 I)、烷基、烯基、炔基、杂烷基、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-R^A$ 、 $-OR^B$ 、 $-S(O)_rR^B$ (其中 r 为 0、1 或 2)、 $-SO_2NR^AR^B$ 、 $-NR^AR^B$ 、 $-O-NR^AR^B$ 、 $-NR^A-NR^AR^B$ 、 $-(CO)YR^B$ 、 $-O(CO)YR^B$ 、 $-NR^A(CO)YR^B$ 、 $-S(CO)YR^B$ 、 $-NR^AC(=S)YR^B$ 、 $-OC(=S)YR^B$ 、 $-C(=S)YR^B$ 、 $-YC(=NR^A)YR^B$ 、 $-YC(=$

$N-OR^A)YR^B$ 、 $-YC(=N-NR^AR^B)YR^B$ 、 $-COCOR^B$ 、 $-COMCOR^B$ (其中 M 为 C_{1-6} 烷基基团)、 $-YP(O)(YR^C)(YR^C)$ 、 $-P(O)(R^C)_2$ 、 $-Si(R^C)_3$ 、 $-NR^ASO_2R^B$ 和 $-NR^ASO_2NR^AR^B$, 其中每次出现时, Y 独立地为 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR^A-$ 或化学键 (即, $-(CO)YR^B$ 因此包括 $-C(=O)R^B$ 、 $-C(=O)OR^B$ 和 $-C(=O)NR^AR^B$)。

[0102] R^C 选自烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和杂环基。在每次出现时, 每个 R^A 和 R^B 独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和杂环基。

[0103] 每个 R^A 、 R^B 和 R^C 任选具有一个或多个取代基选自氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氨基羰基、卤素、烷基、芳基、杂烷基、杂芳基、碳环、杂环、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基氨基羰基氧基、二烷基氨基羰基氧基、硝基、氰基、羧基、烷氧基羰基、烷基羰基、烷氧基、卤代烷氧基基团、羟基、受保护的羟基基团 (例如, $-O-X$, 其中 X 为酰基、苯基、取代的苯基、苄基、取代的苄基、苯乙基或取代的苯乙基)、 $-M-$ 杂芳基、 $-M-$ 杂环、 $-M-$ 芳基、 $-M-OR^B$ 、 $-M-SR^B$ 、 $-M-NR^AR^B$ 、 $-M-OC(O)NR^AR^B$ 、 $-M-C(=NR^B)NR^AR^B$ 、 $-M-C(=NR^A)OR^B$ 、 $-M-P(=O)(R^C)_2$ 、 $-Si(R^C)_3$ 、 $-M-NR^AC(O)R^B$ 、 $-M-NR^AC(O)OR^B$ 、 $-M-C(O)R^B$ 、 $-M-C(=S)R^B$ 、 $-M-C(=S)NR^AR^B$ 、 $-M-C(O)NR^AR^B$ 、 $-M-C(O)NR^B-M-NR^AR^B$ 、 $-M-NR^BC(NR^A)NR^AR^B$ 、 $-M-NR^AC(S)NR^AR^B$ 、 $-M-S(O)_2R^A$ 、 $-M-C(O)R^A$ 、 $-M-OC(O)R^A$ 、 $-MC(O)SR^B$ 、 $-M-S(O)_2NR^AR^B$ 、 $-C(O)-M-C(O)R^B$ 、 $-MCO_2R^B$ 、 $-MC(=O)NR^AR^B$ 、 $-M-C(=NH)NR^AR^B$ 和 $-M-OC(=NH)NR^AR^B$, 其中 M 为 C_{1-6} 烷基基团。取代的 R^A 、 R^B 或 R^C 基团的非限制性示例包括卤代烷基和三卤代烷基、烷氧基烷基、卤代苯基、氯甲基、三氯甲基、三氟甲基、甲氧基乙基、烷氧基苯基、卤代苯基、 $-CH_2-$ 芳基、 $-CH_2-$ 杂环、 $-CH_2C(O)NH_2$ 、 $-C(O)CH_2N(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-CH_2OC(O)NH_2$ 、 $-CH_2CH_2NH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH_2NEt_2$ 、 $-CH_2OCH_3$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-CH_2CH_2-$ 杂环、 $-C(=S)CH_3$ 、 $-C(=S)NH_2$ 、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(=NH)OEt$ 、 $-C(O)NH-$ 环丙基、 $-C(O)NHCH_2CH_2-$ 杂环、 $-C(O)NHCH_2CH_2OCH_3$ 、 $-C(O)CH_2CH_2NHCH_3$ 、 $-CH_2CH_2F$ 、 $-C(O)CH_2-$ 杂环、 $-CH_2C(O)NHCH_3$ 、 $-CH_2CH_2P(=O)(CH_3)_2$ 和 $-Si(CH_3)_3$ 。

[0104] 烷基、烯基、炔基、烷氧基、卤代烷基、杂烷基、环烷基、环烯基、环炔基或杂环基团可包含一个或多个选自对于芳基或杂芳基基团的上面所列的那些取代基, 以及 $=O$ 、 $=S$ 、 $=NH$ 、 $=NNR^AR^B$ 、 $=NNHC(O)R^B$ 、 $=NNHCO_2R^B$ 或 $=NNHSO_2R^B$, 其中 R^A 和 R^B 如上文所定义。氮 (例如在杂环基或其他基团内) 上的取代基的非限制性实例包括烷基 (取代的或未取代的)、酰基、氨基酰基和磺酰基基团。

[0105] 从以下详细说明和权利要求书, 本发明的其它特征和优点将是显而易见的。

[0106] 发明详述

[0107] 本发明的特征在于通过给予患者式 (I) 化合物治疗具有 EGFR 导致的癌症的患者的方法, 所述癌症是或已成为厄洛替尼或吉非替尼难治的, 或者所述癌症具有本文鉴定的 EGFR 突变。

[0108] EGFR 突变株

[0109] EGFR 突变株包括 EGFR 或其片段的氨基酸或核苷酸序列中一个或多个缺失、置换或添加。

[0110] EGFR 突变可以发生在 EGFR 序列的任何部位。通常, EGFR 突变株源自激酶结构域 (即 EGFR 序列中的外显子 18-24) 或胞外结构域 (即 EGFR 序列中的外显子 2-16) 的突变。例如, 突变通常发生在激酶结构域, 包括外显子 18 中的一个或多个点突变 (例如, L688P、

V689M、P694L/S、N700D、L703V、E709K/Q/A/G/V、I715S、L718P、G719C/A/S/R 或 S720P/F)、可包括或可不包括插入的外显子 19 中的缺失(例如, delG719、delE746_E749、delE746_A750、delE746_A750insRP、delE746_A750insQP、delE746_T751、delE746_T751insA/I/V、delE746_T751insVA、delE746_S752、delE746_S752insA/V/D、delE746_P53insLS、delL747_E749、delL747_A750、delL747_A750insP、delL747_T751、delL747_T751insP/S/Q、delL747_T751insPI、delL747_S752、delL747_S752insQ、delL747_P753、delL747_P753insS/Q、delL747_L754insSR、delE749_A750、delE749_A750insRP、delE749_T751、delT751_I759、delT751_I759insS/N 或 delS752_I759)、外显子 19 中的复制(例如, K739_I44dupKIPVAI)、外显子 19 中的点突变(例如, L730F、W731Stop、P733L、G735S、V742A、E746V/K、A750P、T751I、S752Y、P753S、A754P 或 D761Y)、外显子 20 中的框内插入(例如, D761_E762insEAFQ、A767_S768insTLA、V769_D770insY、V769_D770insCV、V769_D770insASV、D770_N771insD/G、D770_N771insNPG、D770_N771insSVQ、P772_H773insN/V、P772_H773insYNP 或 V774_C775insHV)、可包括或可不包括插入的外显子 20 中的缺失(例如, delM766_A767、delM766_A767insAI、delA767_V769、delD770 或 delP772_H773insNP)、外显子 20 中的复制(例如, S768_D770dupSVD、A767_V769dupASV 或 H773dupH)、外显子 20 中的点突变(例如, D761N、A763V、V765A/M、S768I、V769L/M、S768I、P772R、N771T、H773R/Y/L、V774M、R776G/H/C、G779S/F、T783A、T784F、L792P、L798H/F、T790M、R803W、K806E 或 L814P) 或外显子 21 中的点突变(例如, G810S、N826S、L833V、H835L、L838V、A839T、K846R、T847I、H850N、V851I/A、I853T、L858M/R、A859T、L861Q/R、G863D、A864T、E866K 或 G873E)。在肺癌中,活化的突变株是典型的,而且 746-750(ELREA) 和 L858R 的 90% 缺失导致 EGFR 在无配体刺激的情况下持续磷酸化。据说 50% 肺癌的耐药性源自 T790M 点突变。

[0111] 例如,在胶质母细胞瘤中,突变典型地但非唯一地发生在胞外结构域,包括缺乏胞外结构域的 EGFR 变异株 I (EGFRvI) 和类似的 v-ERBB 癌蛋白;缺乏来自结构域 IV 的 83 个氨基酸的 EGFRvII;和缺乏来自结构域 I 和 II 的氨基酸 30-297 的 EGFRvIII,其是最常见的扩增,且在 30-50% 的胶质母细胞瘤和 5% 的鳞状细胞癌中有报道。胶质母细胞瘤的其他突变包括以下外显子的一个或多个点突变:外显子 2(例如, D46N 或 G63R)、外显子 3(例如,结构域 I 的 R108K)、外显子 7(例如,结构域 II 的 T263P 或 A289D/T/V)、外显子 8(例如, R324L 或 E330K)、外显子 15(例如,结构域 IV 的 P596L 或 G598V) 或外显子 21(激酶结构域的 L861Q)。

[0112] EGFR 突变株也包括那些如本文所述的两个或多个突变的组合。典型的组合包括 S768I 和 G719A;S768I 与 V769L;H773R 和 W731Stop;R776G 和 L858R;R776H 和 L861Q;T790M 和 L858R;T790M 和 delE746_A750;R803W 和 delE746_T751insVA;delL747_E749 和 A750P;delL747_S752 和 E746V;delL747_S752 和 P753S;P772_H773insYNP 和 H773Y;P772_H773insNP 和 H773Y;以及 D770_N771insG 和 N771T。目前特别感兴趣的组合包括 T790M 与另一个突变的组合(例如, T790M 和 L858R 或 T790M 和 delE746_A750)。

[0113] 某些突变编码突变株 EGFR 蛋白,其在缺少 EGF 配体的情况下主动信号传导,但其特征在于对 EGFR 抑制剂如吉非替尼和厄洛替尼具有敏感性。G719C/S/A、delE746_A750 和 L858R 是此类突变的例子。其他 EGFR 突变赋予对此类药物的抗性,即使与前面提到的激活突变之一组合存在时。T790M 是赋予对这些药物的抗性的突变的实例。

[0114] EGFR 导致的癌症可能被野生型 EGFR 或本文所述的任何突变株 EGFR 所导致。例如,EGFRvIII 常发现于胶质母细胞瘤,并在乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌和肺癌中也有报道。示例性的 EGFR 导致的癌症为:胶质母细胞瘤、肺癌(如鳞状细胞癌、非小细胞肺癌、腺癌、细支气管肺泡癌(BAC)、局灶性浸润 BAC、具有 BAC 特征的腺癌和大细胞癌)、胰腺癌、头颈癌(例如,鳞状细胞癌)、乳腺癌、结肠直肠癌、上皮癌(例如,鳞状细胞癌)、卵巢癌和前列腺癌。

[0115] 尤其是,本文所述的发明将会对具有或有较高风险的 TKI 抵抗型 EGFR 突变的病人具有意义。每年约 8,000 至 16,000 个新发病例可基于以下进行估计:非小细胞肺癌的发病率(在美国约 160,000 个新发病例)、一般群体中对厄洛替尼的响应(约 10%,产生 16,000 个敏感人群)、激活突变的存在(白种人中 10-20%和亚洲人中 30-40%,产生 16,000-32,000 个敏感人群)、继发抗药性的获得(大多数(如果不是所有)患者,产生 16,000-32,000 个敏感人群)和携带 T790M 点突变的患者百分比(约 50%,产生 8,000-16,000 个敏感人群)。带 TKI 抗性突变的患者包括那些对厄洛替尼、吉非替尼、CL-387,785、BIBW2992(CAS 登记号 439081-18-2)、CI-1033,来那替尼(HKI-272)、MP-412(AV-412)、PF-299804、AEE78 和 XL64 中的一个或多个抵抗的癌症患者。

[0116] 尤其是,本发明涉及治疗具有 T790M 点突变的 EGFR 导致的癌症。通常,可逆性抑制剂(例如,CI-1033、来那替尼(HKI-272)和 PF-299804)在具有 T790M 突变的细胞系中效力较低,且在临床可达到的浓度下不能抑制 T790M。由于 T790M 与 WT 的 ATP K_m 类似,抑制突变株的浓度将会抑制 WT,并导致胃肠道和皮肤事件。

[0117] EGFR 突变株也包括 EGFR 的其他氨基酸和核苷酸序列的一个或多个缺失、置换或添加,例如点突变,其保留或增加酪氨酸激酶或磷酸化活性。突变株是蛋白或多肽时,优选的置换是保守置换,其为性质(如结构、电性、极性或疏水性)相似的氨基酸之间的置换。例如,置换可以发生在碱性氨基酸之间(例如,Lys、Arg 和 His)、或酸性氨基酸之间(例如,Asp 和 Glu)、或具有不带电荷的极性侧链的氨基酸之间(例如,Gly、Asn、Gln、Ser、Thr、Tyr 和 Cys)、或具有疏水性侧链的氨基酸之间(例如,Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 和 Met)、或具有分支侧链的氨基酸之间(例如,Thr、Val、Leu 和 Ile)、或具有芳香侧链的氨基酸之间(例如,Tyr、Trp、Phe 和 His)。

[0118] 若该突变株为核酸,则编码 EGFR 突变蛋白的 DNA 可以包括如本文所定义的在严格条件下能够杂交至编码 EGFR 突变株的核苷酸序列的互补序列的核苷酸序列。本文使用的严格条件包括低度、中度或高度严格的条件。严格条件的实例包括在约 42-55°C、约 2-6x SSC 中杂交,然后在约 50-65°C、含约 0.1-0.2% SDS 的约 0.1-1x SSC 中洗涤,其中 1x SSC 为含有 0.15M NaCl 和 0.015M 柠檬酸钠的溶液,pH 值为 7.0。洗涤可以进行一次或多次。通常,严格条件可被设置为在限定的离子强度和 pH 下,低于特定核苷酸序列的熔化温度(T_m)约 5°C 的温度。

[0119] EGFR 和编码它们的 DNA 的氨基酸和核苷酸序列可从熟知的数据库获得,例如 NCBI GenBank(美国)、EMBL(欧洲)等。例如,EGFR 的 GenBank 登录号 [Homo sapiens] 包括 MIM131550、AA128420、NM_005228、NP_005219.2 和 GeneID:1956。

[0120] EGFR 导致的癌症的特征

[0121] EGFR 突变株的表达或过表达可在诊断或预后分析中通过评估生物样品中的或细胞分泌的 EGFR 突变株的水平来确定(例如,通过使用抗 EGFR 抗体或抗 -p-EGFR 抗体进行的

免疫组织化学分析 ;FACS 分析等)。可选择地,或额外地,可以测量细胞中编码 EGFR 突变株的核酸或 mRNA 的水平,例如,通过使用基于对应于编码 EGFR 突变株的核酸或其补体的探针的核酸进行的荧光原位杂交技术 ;(FISH ;参见 W098/45479,1998 年 10 月公开),Southern 印迹法,Northern 印迹法或聚合酶链反应 (PCR) 技术,如实时荧光定量 PCR(RT-PCR)。也可以通过测量生物样品如血清中的脱落的抗原来研究 EGFR 突变株的表达,例如,使用基于抗体的分析方法(也参见,例如,美国专利号 4,933,294,1990 年 6 月 12 日提交 ;W091/05264,1991 年 4 月 18 日公开 ;美国专利 5,401,638,1995 年 3 月 28 日提交 ;和 Sias 等人,J. Immunol. Methods 132:73(1990))。除上述分析方法外,可向熟练的专业人员提供多种体内分析方法。例如,可以将哺乳动物体内的细胞暴露于任选用可检测的标示物例如放射性同位素标记的抗体,并且抗体与哺乳动物细胞的结合可例如通过放射性外部扫描或通过分析取自先前暴露于抗体的哺乳动物的活检进行评估。

[0122] 可在分离细胞中测量的生物学特性的实例包括 mRNA 的表达、蛋白表达和 DNA 定量。此外,通过本发明方法分离的细胞的 DNA 可被测序,或可以使用标准技术例如 FISH 或 PCR 确定某些序列特征(例如,多态性和染色体异常)。细胞的化学成分和其他分析物也可以在分离后测定。细胞也可以在不裂解的情况下测定,例如,使用细胞外或细胞内染料或通过其他观察,例如,在各种介质中的形态或生长特性。

[0123] 虽然任何杂交技术均可用于检测基因重排,但一个优选的技术是荧光原位杂交(FISH)。FISH 技术是一种细胞遗传学技术,它可用来检测和定位染色体上特定的 DNA 或 RNA 序列的存在或缺失。FISH 结合使用荧光标记的核酸探针,该探针只结合到染色体中与其显示高度序列相似性的那些部分。荧光显微镜可用于找出结合到染色体上的荧光探针的位置。FISH 的基本步骤如下所述。示例性的 FISH 探针包括 Vysis EGFR SpectrumOrange/CEP SpectrumGreen 探针(Abbott, Downers Grove, IL),其杂交至带 7p12 ;和 ZytoLight SPEC EGFR/CEN 7Dual Color 探针(ZytoVision),其杂交至 7 号染色体的着丝粒的 α -卫星序列。

[0124] 对于 FISH,探针的构造应足够长以特异性地杂交到其目标上(而不是基因组中的相似序列上),但不应太大以致于阻碍杂交过程。探针通常用荧光团、用抗体的靶标、用生物素或其任意组合来标记。这可通过多种方式,例如使用随机引物法、缺口平移和使用标记的核苷酸的 PCR 来完成。

[0125] 通常,细胞群体的样品或等分用于 FISH 分析。例如,在一个制备方法中,将细胞用胰蛋白酶消化以分散成单细胞,通过细胞离心涂片法(cytospun)涂片于载玻片上,用多聚甲醛固定,然后储存于 70%乙醇中。为制备用于 FISH 的染色体,染色体被牢固地连接到基底(通常是玻璃)上。制备后,将探针施加到染色体 RNA 并开始杂交。在几个洗涤步骤中,所有未杂交或部分杂交的探针被冲走。如果信号放大以超过显微镜的检测阈是必要的(这依赖于许多因素,如探针标记效率、探针种类和荧光染料),则将荧光标记的抗体或链亲和素结合到标记分子上,从而放大荧光。

[0126] 落射荧光显微镜可用于观察杂交的序列。光源灯(source lamp)的白光被过滤使得只有用于荧光分子激发的相关波长到达样品上。荧光染料通常在较大的波长下发射,这允许人们通过另一滤光器区分激发光和发射光。用更复杂的过滤器组,可能区分几种激发和发射频带从而区分几种荧光染料,这允许在同一束(strand)上观察多种不同的探针。

[0127] 根据使用的探针,FISH 可拥有从庞大的染色体或小(~ 100 千碱基(kilobase))

序列变化的分辨率。探针可通过计算点或比色进行简单定量。

[0128] 等位基因特异性定量实时 PCR 也可用于识别编码突变株 EGFR 蛋白的核酸（参见，例如，Diagnostic Innovations DxS BCR-ABL T3151Mutation Test Kit 和 Singer 等人，Methods in Molec. Biol. 181:145 (2001)）。该技术采用 Taq DNA 聚合酶，其非常有效地区分 3' - 端引物的匹配和不匹配（当 3' - 基不匹配时，无有效扩增发生）。使用这种技术，3' - 端引物可被设计为特异性杂交的核酸序列，该序列与如本文所述的编码 EGFR 突变株中的突变氨基酸的密码子相对应。采用这种方法，特定的突变序列可在患者样本中选择性扩增。这种技术还利用 Scorpion 探针分子，其是含 PCR 引物、荧光团和淬灭剂的双官能团的分子。探针中的荧光团与降低荧光的淬灭剂相互作用。在 PCR 反应中，当 Scorpion 探针与扩增子结合时，Scorpion 探针中的荧光团和淬灭剂分离，这导致反应管的荧光增加。本文描述的任何引物均可用于等位基因特异性定量实时 PCR。

[0129] 可利用本领域中已知的方法分析生物样品以检测 EGFR 基因中的突变或 EGFR 基因的表达水平。方法如直接核酸测序、变化杂交 (altered hybridization)、异常的凝胶电泳迁移 (aberrant electrophoretic gel migration)、错配结合蛋白 (mismatch binding proteins) 介导的结合或裂解、单链构象多态性 (SSCP) 分析或来自患者样本的 PCR 产物的限制性片段长度多态性 (RFLP) 分析可用于检测 EGFR 基因中的突变；ELISA 可用于测量 EGFR 多肽的水平；以及 PCR 可用于测量 EGFR 核酸分子的水平。

[0130] 可使用任何这些技术均以便于在候选基因中检测突变，并且每个在本领域中都是熟知的；特殊技术的实例描述但不限于 Orita 等 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2766 (1989)) 和 Sheffield 等 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:232 (1989))。此外，生物样品（例如，活检）中候选基因的表达可通过标准的 Northern 印迹分析来监测或可以借助 PCR（参见，例如，Ausubel 等人，Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, NY (1995)；PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, H. A. Ehrlich, Ed., Stockton Press, NY；Yap 等人，Nucl. Acids. Res. 19:4294 (1991)）。

[0131] 本领域技术人员可使用若干序列对比软件程序（例如，NCBI BLAST 网站）识别核酸或蛋白序列中的残基（例如，氨基酸或核苷酸）或与残基对应的密码子或野生型 EGFR 或 EGFR 突变株中的密码子。这种软件程序可允许被比较序列在对比中存在缺口。使用这种软件，本领域技术人员可识别核苷酸、氨基酸或与特定的核苷酸、氨基酸相对应的氨基酸，或野生型 EGFR 或 EGFR 突变株中的密码子。

[0132] 生物样品中的 EGFR 表达水平（例如，DNA、mRNA 或蛋白）可通过使用本领域熟知的或本文所述的任何若干标准技术确定。示例性生物样品包括血浆、血液、痰液、胸腔积液、支气管肺泡灌洗或活检，如肺活检和淋巴结活检。例如，患者中生物样品（例如，血液或组织样品）中的 EGFR 表达可以通过标准的 Northern 印迹分析或通过定量 PCR 来监测（参见，例如，Ausubel 等人，supra；PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, H. A. Ehrlich, Ed., Stockton Press, NY；Yap 等人，Nucl. Acids. Res. 19:4294 (1991)）。

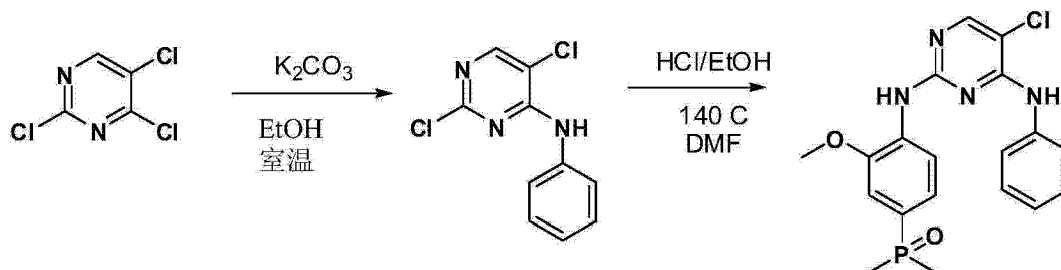
[0133] 化合物的合成

[0134] 式 (I) 化合物可使用例如国际专利申请 WO 2004/080980、WO2005/016894、WO

2006/021454、WO 2006/021457、WO 2009/143389 和 WO2009/126515 中详细公开的已知方法和原料来制备。例如,其中 R^e为 H 且 R^d为 H、Cl、CF₃或 CH₃的式 (I) 化合物可分别从 2, 4-二氯嘧啶、2, 4, 5-三氯嘧啶、2, 4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶或 2, 4-二氯-5-甲基嘧啶合成, 如 PCT 公开号 WO/2009/143389 (参见, 例如, 下面的方案 1A 和 1B) 中所述。

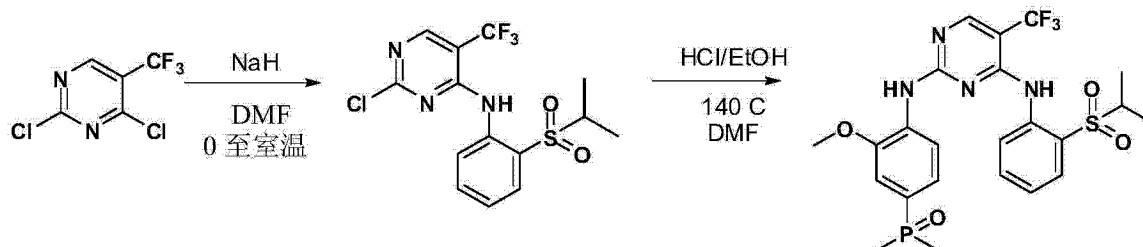
[0135] 方案 1A

[0136]



[0137] 方案 1B

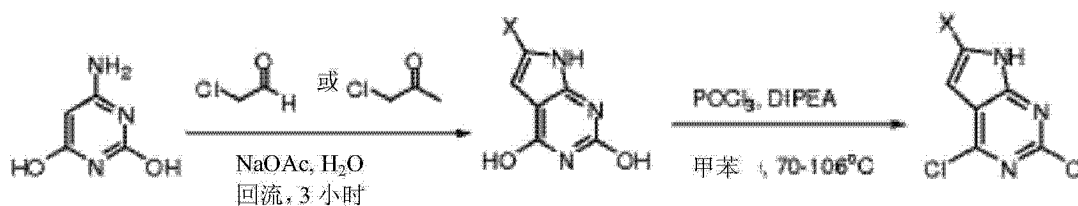
[0138]



[0139] 其中 R^d和 R^e与它们所连接的嘧啶环原子一起形成含一个或两个杂原子的 5- 或 6- 元环的式 (I) 化合物可以按 PCT 公开号 WO2009/126515 中描述的方法来合成。参见, 例如方案 2, 其描述了起始原料的合成, 从该起始原料可以合成式 (I) 化合物。在方案 2 中, X 为 CH₃或 H。

[0140] 方案 2

[0141]



[0142] 制剂

[0143] 式 (I) 化合物可配制用于在本发明方法中有效的任何给药途径 (例如, 口服、直肠、胃肠外、脑池内、阴道内、腹膜内、局部 (如通过透皮贴剂、粉剂、软膏剂或滴剂)、舌下、口含 (bucally)、作为口用或鼻用喷雾剂)。为了用于本发明的方法中, 式 (I) 化合物优选以剂量单位形式配制以便于给药和剂量均匀。例如, 式 (I) 化合物可配制用作口服给药的胶囊, 含标示量为 10mg、50mg、100mg、150mg、250mg、500mg 或本文所述的任何剂量的游离碱或所述化合物的酸加成盐 (例如, 盐酸盐)。本发明的单位剂量形式根据需要可以包括与填充剂、流动增强剂、润滑剂和 / 或崩解剂一起配制的化合物或其盐。例如, 单位剂量形式可以包括胶体二氧化硅 (流动增强剂)、无水乳糖 (填充剂)、硬脂酸镁 (润滑剂)、微晶

纤维素（填充剂）和 / 或淀粉羟乙酸钠（崩解剂）。所述化合物和非活性成分可利用例如常规的混合和封装方法进行配制。或者，式 (I) 化合物按 PCT 公开号 W02009/143389 和 W02009/126515 中描述的方法进行配制。

[0144] 治疗

[0145] 式 (I) 化合物可用于治疗 EGFR 导致的癌症。尤其是，所述化合物可用于治疗表达 EGFR 突变株的 EGFR 导致的癌症和用于治疗 TKI 疗法（例如，厄洛替尼或吉非替尼）难治的 EGFR 导致的癌症。

[0146] 这类癌症可包括非小细胞肺癌 (NSCLS)，包括一个或多个鳞状细胞癌、腺癌、腺癌、细支气管肺泡癌 (BAC)、局灶侵入性 BAC，具有 BAC 特征的腺癌，以及大细胞癌；神经肿瘤，如胶质母细胞瘤；胰腺癌；头颈癌（例如，鳞状细胞癌）；乳腺癌；结肠直肠癌；上皮癌，包括鳞状细胞癌；卵巢癌；前列腺癌；腺癌；以及包括 EGFR 介导的癌症。

[0147] 本发明基于以下发现：式 (I) 化合物可用于治疗 EGFR 导致的癌症，表达 EGFR 突变株的 EGFR 导致的癌症，和用于治疗 TKI 疗法如厄洛替尼或吉非替尼难治的 EGFR 导致的癌症。式 (I) 化合物也可用于需要此类治疗的患者中起到预防癌症复发的维持作用。

[0148] 式 (I) 化合物的治疗有效量通常在 5mg 至 2,000mg 化合物的平均每日剂量的范围内，以单剂量或多剂量形式给予成年患者，优选口服。典型的平均每日剂量范围包括 10-500mg、20-550mg、30-600mg、40-650mg、50-700mg。

[0149] 可每天、每周（或间隔数天）或以间歇时间表，给药一次或多次。例如，可在每周的基础上（例如每周一），每天给予所述化合物一次或多次，不定地或持续几周，例如 4-10 周。或者，可每天给药持续几天（例如 2-10 天），然后几天（例如 1-30 天）不给药所述化合物，不定地重复该循环或重复给定的次数，例如 4-10 个循环。例如，本发明的化合物可每天给药持续 5 天，然后间断 2 天，然后再每天给药持续 5 天，然后间断 2 天，以此类推，不定地重复该循环或共重复 4-10 次。

[0150] 提供以下实施例以便为本领域技术人员提供如何进行、制备和评估本文请求保护的方法和化合物的完整公开和说明，旨在仅仅示例本发明而非限制发明人认为的发明的范围。

[0151] 试剂：合成或购买了以下化合物用于筛选：WZ4003 (Zhou 等人, Nature, 462:1070 (2009))、HKI-272 和 C1-387, 785。

[0152] 实施例 1. 激酶分析

[0153] 对具有 WT EGFR、L858R、T790M 和 L858R/T790M 的体外激酶组 (kinase panel) 进行分析。可对进一步包括 de1E746_A750 和 de1E746_A750/T790M 的组进行额外的分析。分析条件包括具有 3 μ M 的最高浓度（单份）和 10 μ M ATP 的 10 点曲线。

[0154] 式 (I) 化合物包括激酶分析中 EGFR 突变株的有效抑制剂。例如，在具有 L858R 和 T790M 突变的 H1975 细胞系中，先前已知的抑制剂吉非替尼、CL-387, 785 和 HKI-272 的 IC₅₀ 值介于 153nM 至 >3.3 μ M 之间，而许多式 (I) 化合物显示出的 IC₅₀ 值范围为 0.5 至 9nM。因此，式 (I) 化合物可为 EGFR 导致的癌症提供必要的抑制剂。

[0155] 实施例 2. 细胞和体内分析

[0156] NSCLC 细胞系以及工程化的 Ba/F3 和 NIH3T3 细胞系用于检测式 (I) 化合物对以下 3 种常规形式的 EGFR 的活性：天然的 EGFR（天然存在的形式）、具有激活突变的

EGFR(de1E746_A750[De1] 或 L858R ;这种形式对第一代 EGFR 抑制剂敏感) 以及具有激活突变和 T790M 抗性突变的 EGFR(L858R/T790M 或 De1/T790M ;所述 T790M 突变的加入使这种形式对第一代 EGFR 抑制剂具有抗性)。通过测量磷酸化的 EGFR 的水平来评估测试化合物对 EGFR 信号传导的影响,通过生长和生存分析来测量对体外增殖的影响,和在小鼠中每天口服给药后测量对体内肿瘤生长的影响。

[0157] 最感兴趣的测试化合物在细胞分析中对天然的 EGFR 基本上无活性,即,在 EGFR 中缺乏激活突变的 NSCLC 细胞系和天然的 EGFR 转导的 NIH3T3 细胞中抑制磷酸化的 IC50>1000nM。

[0158] 相反,测试化合物在体外和体内细胞分析中均表现出对 EGFR 的激活型具有强效活性。EGFR 磷酸化在以下 3 个细胞系中被抑制,一些情况下 IC50 低于~65nM:表达 EGFR-De1 的 NSCLC 系和表达 EGFR-De1 或 EGFR-L858R 的 NIH3T3 细胞。在 NSCLC 细胞 [De1] 中,细胞生长被抑制,且 GI50 低于~200nM。该 NSCLC 细胞系 [De1] 的异种移植实验显示,在一些情况下,25mg/kg 或更大的剂量诱发肿瘤消退了 >33%并在给药后 10 和 24 小时分别使 EGFR 信号传导抑制了 >85%和 >40%。

[0159] 感兴趣的测试化合物在体外细胞分析中也表现出对 EGFR 的 T790M 突变型具有强效活性。在一组研究中,EGFR 信号传导在以下 6 个细胞系中被抑制,且 IC50 低于~65nM:表达 EGFR-L858R/T790M(H1975) 或 EGFR-De1/T790M 的 NSCLC 系(工程化的 HCC827 细胞),以及表达 EGFR-De1/T790M 或 EGFR-L858R/T790M 的 NIH3T3 细胞和 Ba/F3 细胞对。两种 Ba/F3 细胞系的生存力被抑制,IC50 为 141 和 502nM。工程化用于表达 EGFR-De1/T790M 的 HCC827 细胞 [De1] 的生长被抑制,其 GI50(245nM) 与表达 EGFR-De1 的亲系 HCC827 细胞的 GI50 相似。相反,厄洛替尼在表达 EGFR-De1 的细胞中的效力是表达 EGFR-De1/T790M 的细胞中的 >100 倍。

[0160] 最后,一种示例性的测试化合物在体内分析中也表现出对 EGFR 的 T790M 突变型具有强效活性。在使用表达 EGFR-De1/T790M 的 Ba/F3 细胞的肿瘤模型中,每日口服给药 50mg/kg AP26113 抑制 >90%生长并且给药 75mg/kg 诱发肿瘤消退。给药后 24 小时,50mg/kg 的单次剂量显示抑制肿瘤中 >80%磷酸化的 EGFR 水平。在使用表达 EGFR-De1/T790M 的 NIH3T3 细胞的肿瘤模型中,也见到了抗肿瘤和抗 EGFR 活性。

[0161] 实施例 3. 细胞抑制分析

[0162] 通过测定多种蛋白的磷酸化和表达水平来分析肺癌细胞系。对于具有不同 EGFR 突变株的肺癌细胞系,进行肺癌细胞中 EGFR 和其它蛋白的磷酸化和表达水平的免疫印记分析。H358 表达 WT EGFR,HCC827 具有 de1E746_A750 突变,H820 具有 de1E746_E749/T790M 突变,H1975 具有 L858R/T790M 突变。

[0163] 对多种化合物进行免疫印记分析,包括厄洛替尼、吉非替尼、BIBW2992、WZ4003 和若干式 (I) 化合物。

[0164] 该免疫印记显示,试验的式 (I) 化合物有效地抑制具有 EGFR 突变的癌细胞系。尤其是,这些化合物对通常与耐药性相关的突变,如 T790M 以及 L858R 和 T790M 的组合有效。

[0165] 实施例 4. 示例性的式 (I) 化合物

[0166] 通过体外激酶分析对下面描述的化合物进行了测试,以确定对天然的 EGFR、具有激活 L858R 突变的 EGFR、具有(赋予抗性)T790M 突变的 EGFR 以及具有 L858R 和 T790M 突

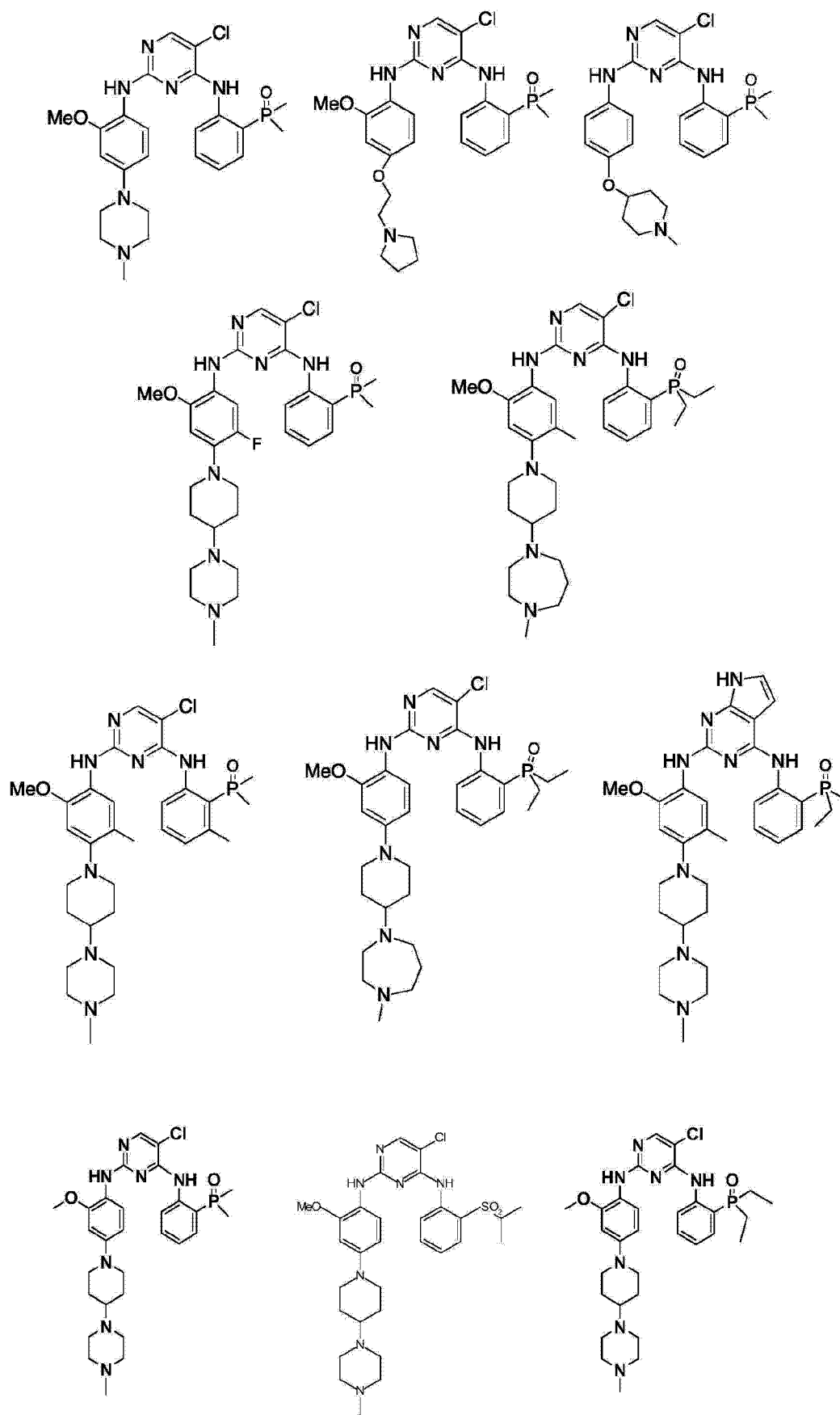
变的 EGFR 的相对抑制活性。所观察到的 IC50 值如下：

[0167]

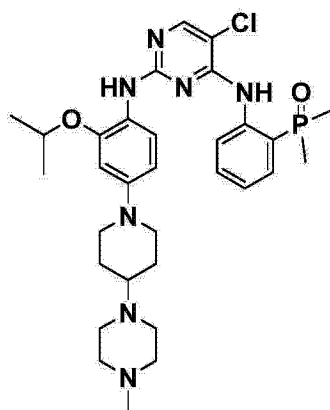
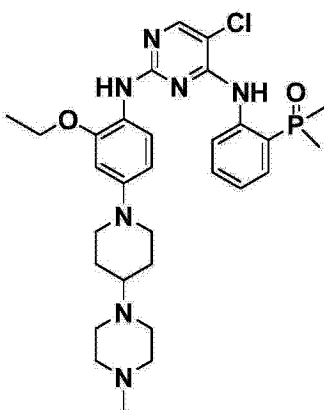
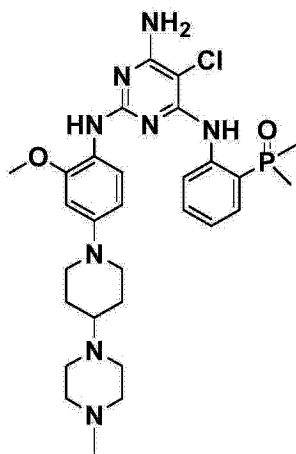
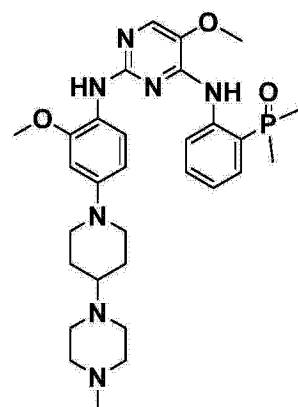
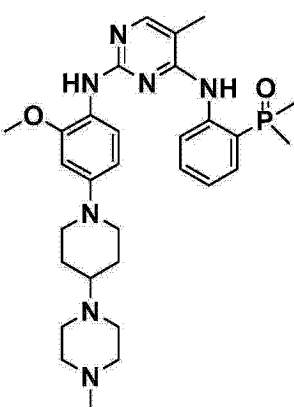
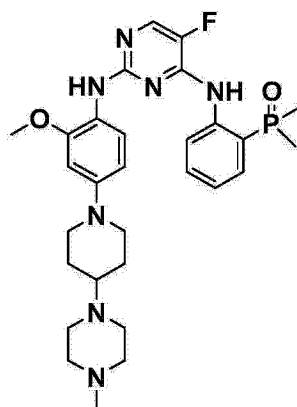
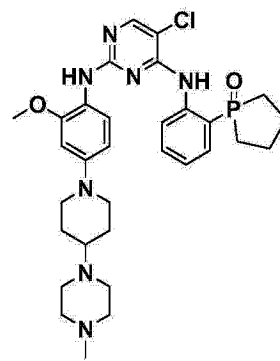
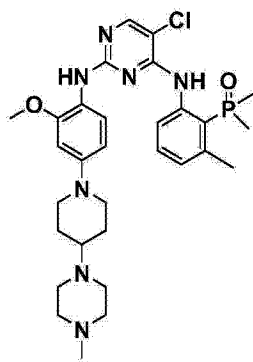
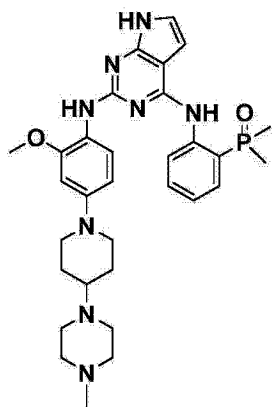
	IC50 (纳摩尔)
EGFR	个位数至>1000
L858R	0.5 至 200- 300
T790M	个位数至>1000
L858R+T790M	个位数至>1000

[0168] 在一些情况下,所述化合物表现出对 L858R 突变株的效力比对天然 EGFR 的效力强 100 倍,和对双重突变株的效力比对天然 EGFR 的效力强 10 倍。

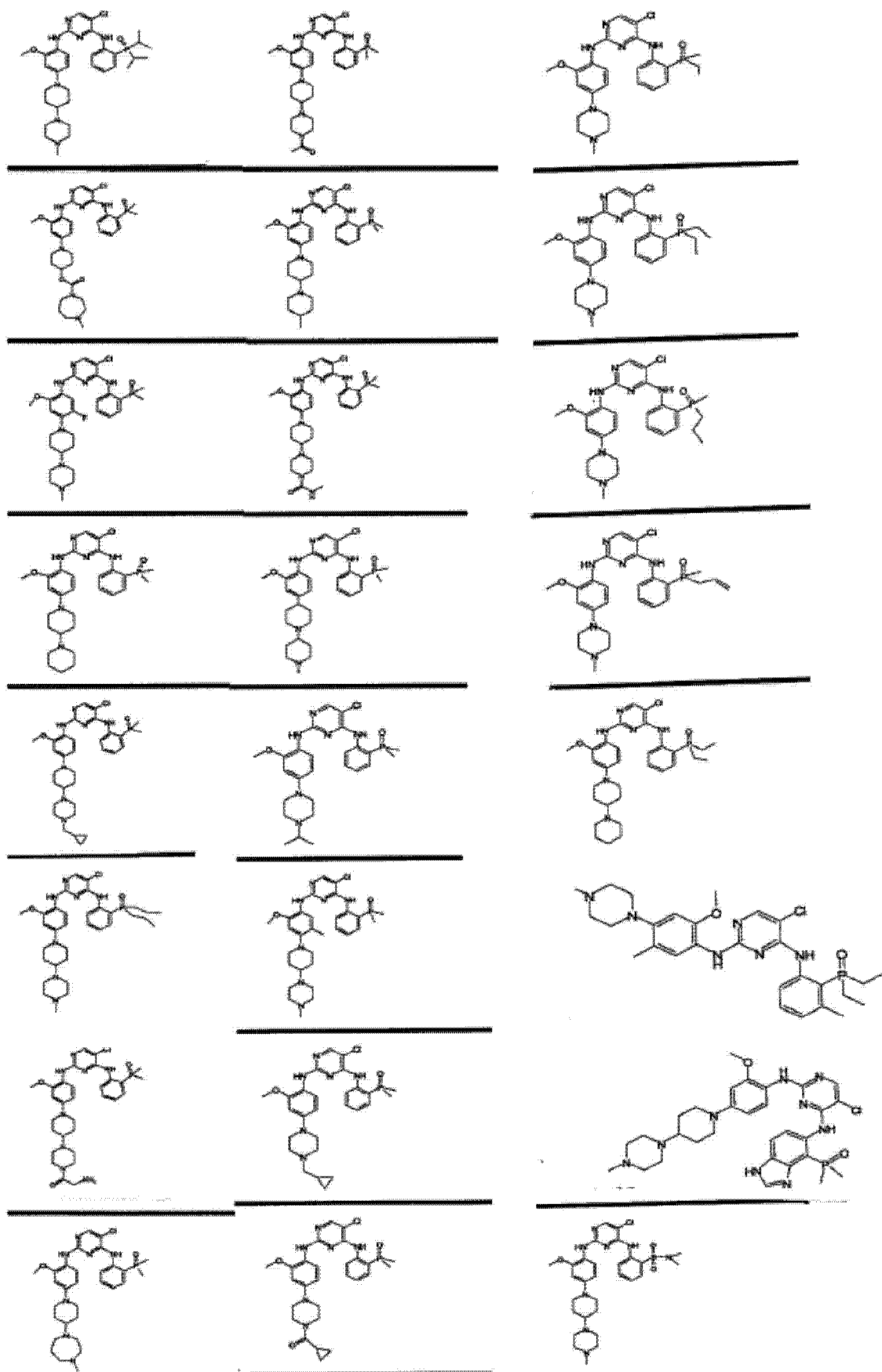
[0169]



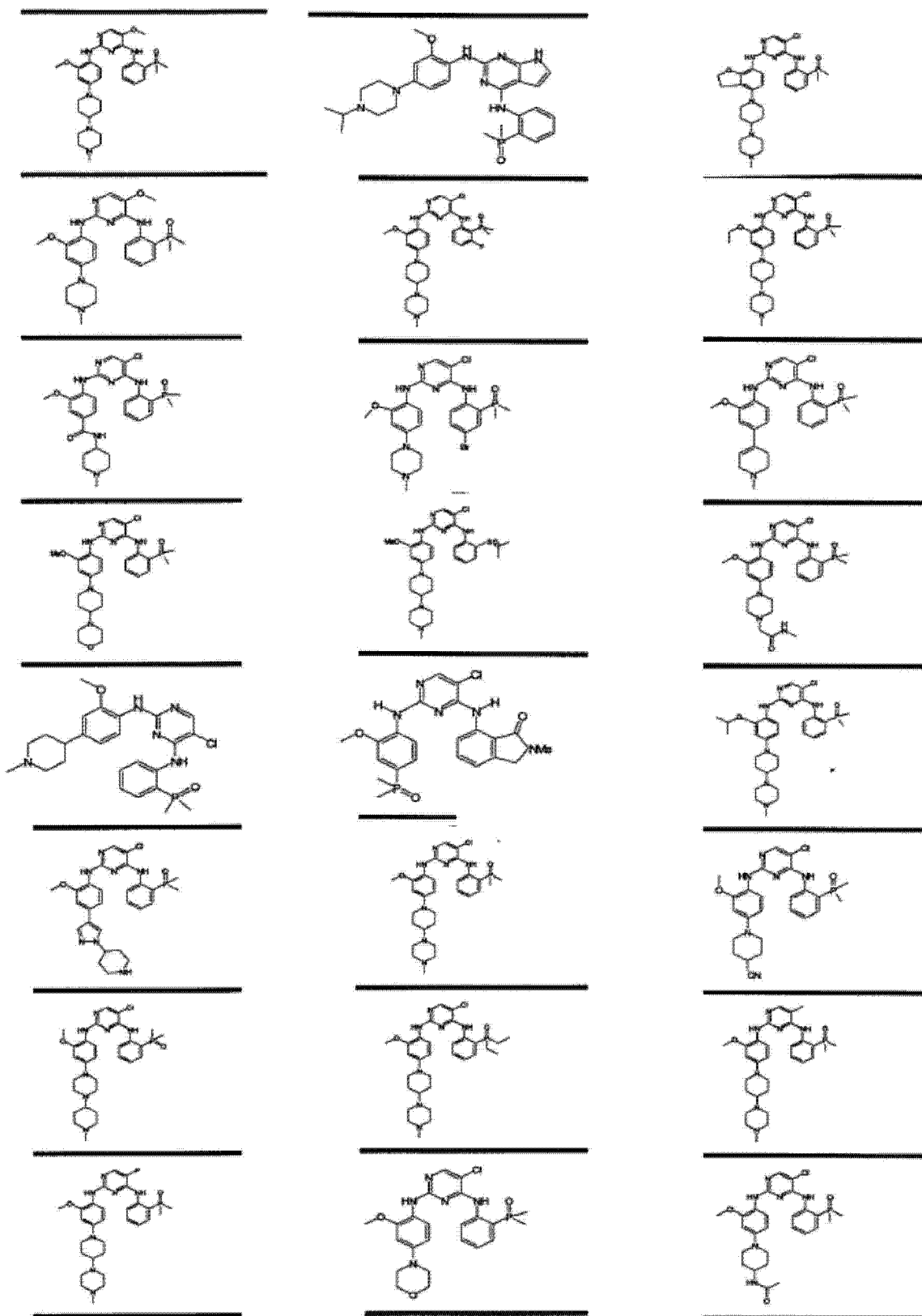
[0170]



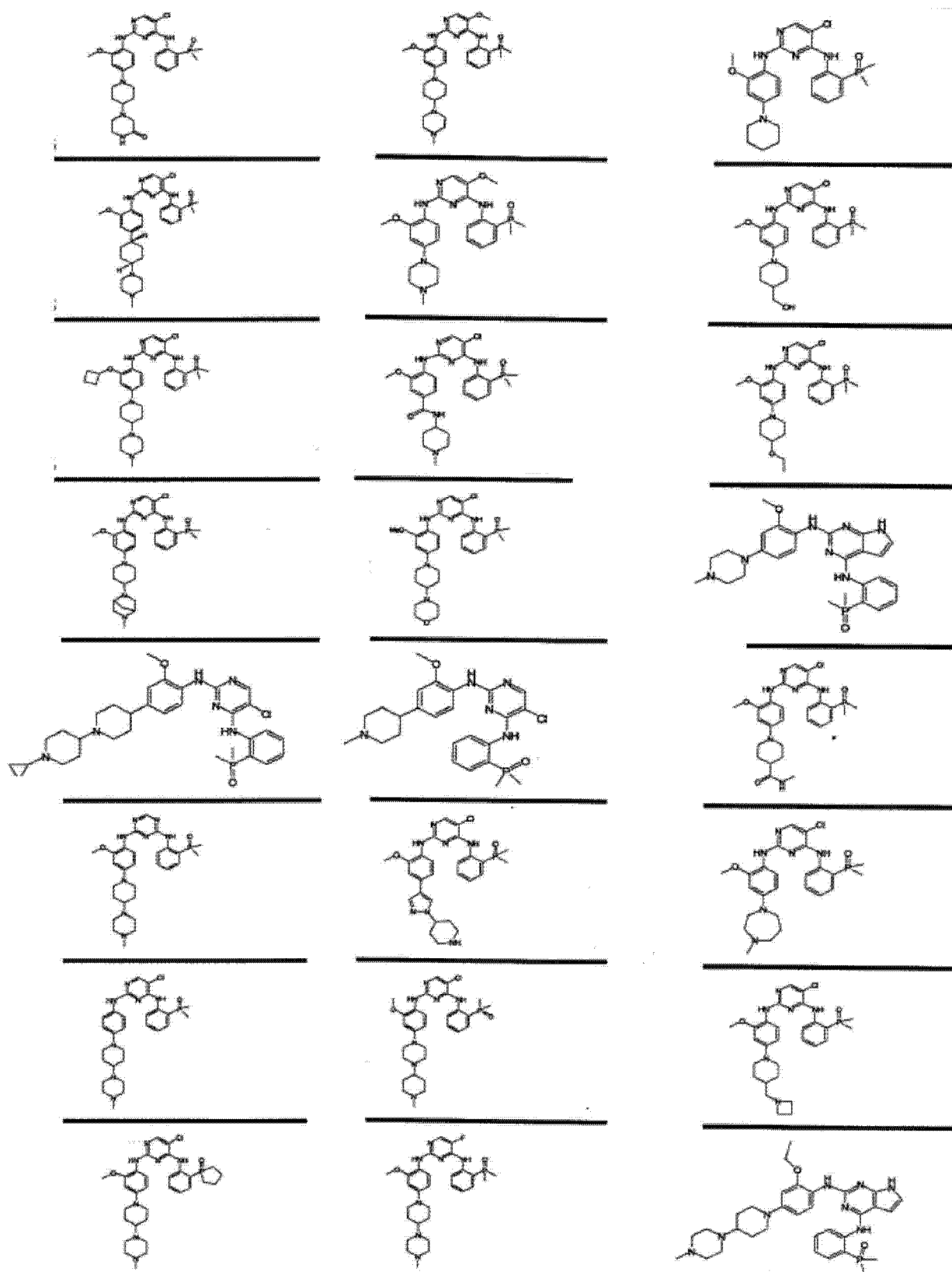
[0171]



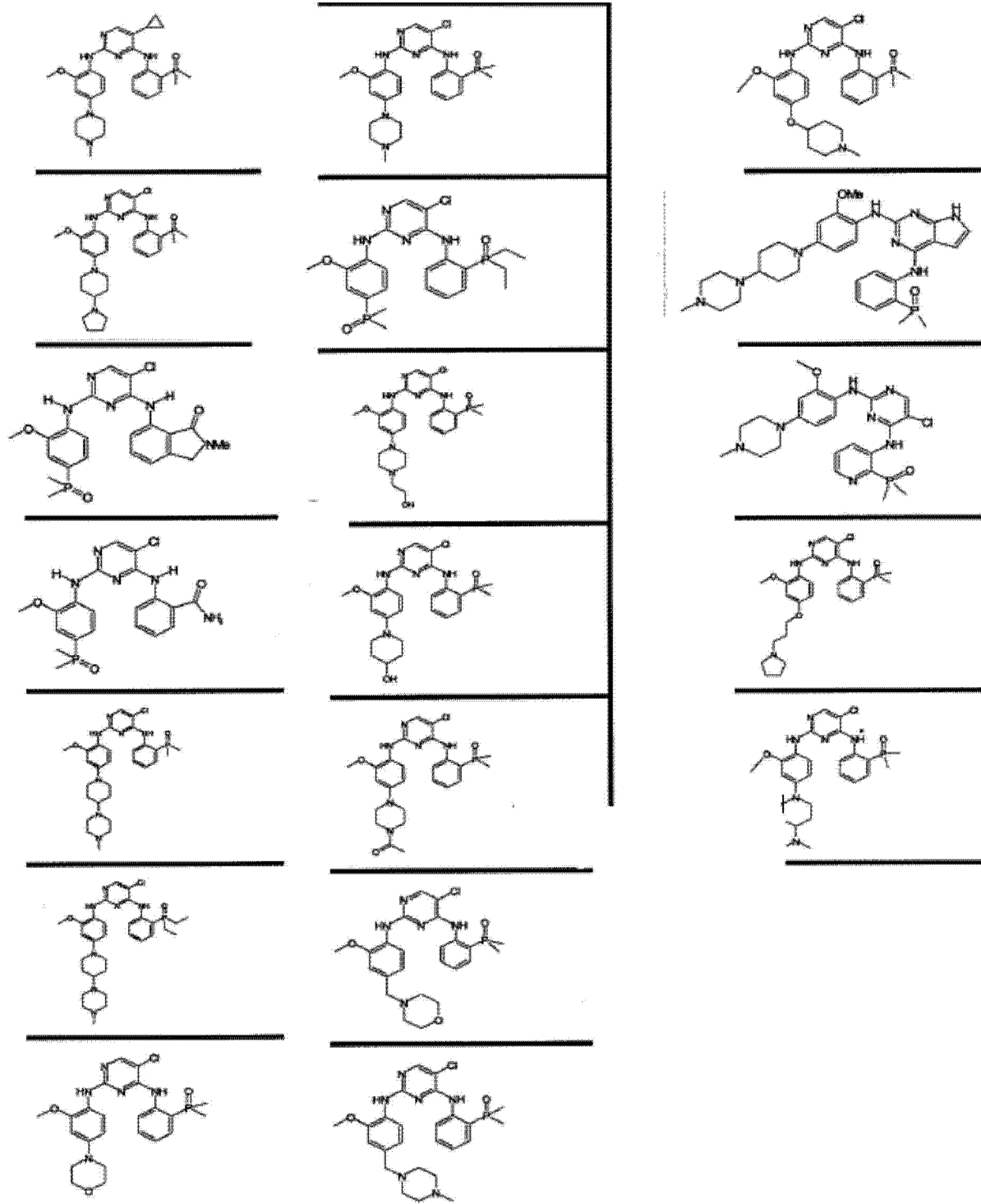
[0172]



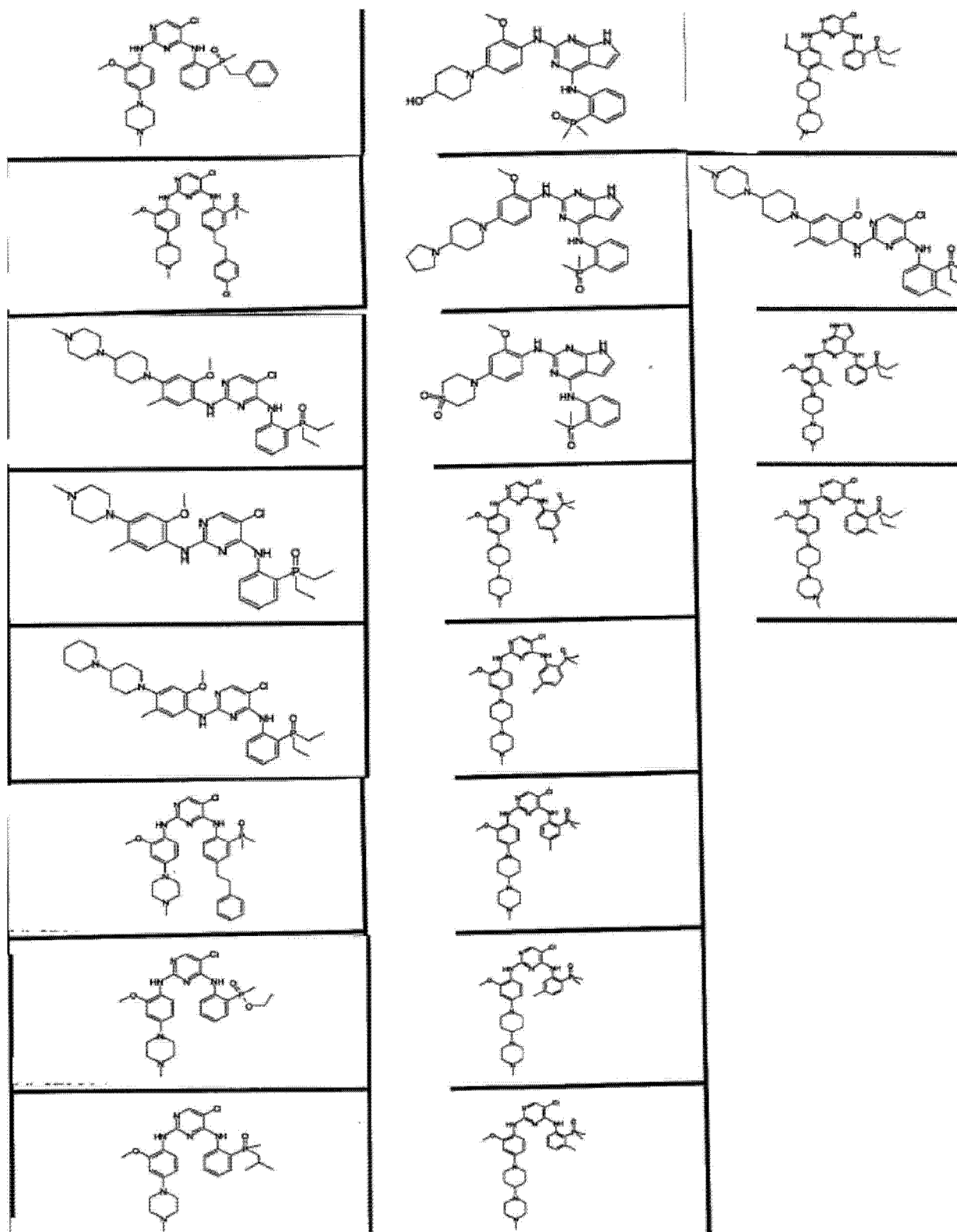
[0173]



[0174]



[0175]



[0176] 实施例 5 :EGFR-T790M 的 NSCLC 模型

[0177] 式 (I) 化合物可使用细胞系 HCC827 (EGFR De1 E746_A750) 或 H1975 (EGFR L858R/T790M) 的 NSCLC 模型进一步测试。这些细胞系在第二代 EGFR-I 研发中被用作模型。药代动力学 / 药效学 (PK/PD) 和有效性研究也可使用例如 BIBW 2992 作为参考化合物来进行。

[0178] 实施例 6 :临床给药

[0179] 式 (I) 化合物可使用常规方法和原料配制用于口服给药, 包括使用或不使用常规

辅料将化合物装填到胶囊中。

[0180] 第一个人临床试验中的剂量开始为每天 30mg 的口服剂量,使用不含辅料的式 (I) 化合物的胶囊。该起始剂量的选择基于化合物的 ADME、药代动力学和毒性研究,并且预期接下来使用 60mg、90mg、120mg 和更高的每日剂量。

[0181] 其他实施方案

[0182] 在本说明书中提及的所有公开、专利和专利申请在此引入本文作为参考,正如每个独立的公开或专利申请具体地和单独地指出以引入本文作为参考一样。

[0183] 虽然本发明已经结合其具体实施方案进行了描述,但应理解其能够进一步改进且本申请意欲包括本发明的任何改变、使用或改良,只要大体上遵循本发明的原理,且包括偏离本发明公开的但来自本发明所属且可应用于上文中提及的必要特征的本领域中已知或常规实践范围内的那些内容,并包括在权利要求的范围内。

[0184] 其他实施方案在权利要求的范围内。