



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108078990 A

(43)申请公布日 2018.05.29

(21)申请号 201611046632.7

(22)申请日 2016.11.23

(71)申请人 山东轩竹医药科技有限公司

地址 250101 山东省济南市高新开发区天
辰路2518号

(72)发明人 余立华 张宝成

(51)Int.Cl.

A61K 31/517(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

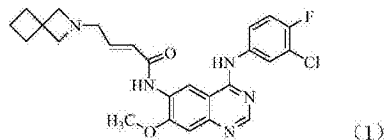
权利要求书1页 说明书6页

(54)发明名称

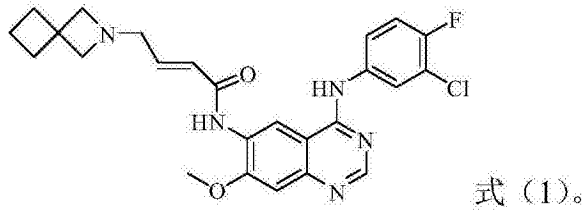
喹唑啉衍生物类酪氨酸激酶抑制剂的新用途

(57)摘要

本发明涉及一种喹唑啉衍生物类酪氨酸激酶抑制剂的新的用途。具体地涉及式(1)所示化合物(E)-N-(4-((3-氯-4-氟苯)氨基)-7-甲氧基喹唑啉-6-基)-4-(2-氮杂螺环[3.3]庚烷-2-基)-2-丁烯酰胺及其可药用盐的新的用途。



1. 式(1)所示化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗携带EGFR_T790M突变、EGFR_L858R突变、EGFR_L858R/T790M突变、EGFR_d746-750突变、EGFR_d746-750/T790M突变、EGFR_C797S突变、EGFR_C797S/L858R突变、EGFR_T790M/C797S突变、EGFR_d746-750/T790M/C797S突变、EGFR_L858R/T790M/C797S突变的癌症患者的药物中的用途，



2. 如权利要求1所述的用途，其中所述的癌症患者携带EGFR_C797S突变、EGFR_C797S/L858R突变、EGFR_T790M/C797S突变、EGFR_d746-750/T790M/C797S突变或EGFR_L858R/T790M/C797S突变。

3. 如权利要求2所述的用途，其中所述的癌症患者携带EGFR_C797S突变或EGFR_d746-750/T790M/C797S突变。

4. 如权利要求2所述的用途，其中所述的癌症患者携带EGFR_T790M/C797S突变。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的用途，所述癌症对EGFR_T790M抑制剂具有耐药性。

6. 如权利要求5所述的用途，所述的EGFR_T790M抑制剂选自AZD9291、CO-1686、马来酸艾维替尼。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的用途，其中所述的癌症选自脑癌、头颈癌、甲状腺癌、口腔癌、食道癌、肺癌、胃癌、肝癌、胆管癌、肾癌、胰腺癌、腹膜癌、结直肠癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌、表皮癌、神经胶质瘤、胶质母细胞瘤中的一种或二种以上。

8. 如权利要求7所述的用途，所述癌症选自肺癌，优选非小细胞肺癌。

9. 式(1)所示化合物或其药学上可接受的盐的药物制剂在制备用于治疗携带EGFR_C797S突变、EGFR_C797S/L858R突变、EGFR_T790M/C797S突变、EGFR_d746-750/T790M/C797S突变、EGFR_L858R/T790M/C797S突变的癌症患者的药物中的用途。

10. 式(1)所示化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种其他药物的组合物在制备用于治疗携带EGFR_C797S突变、EGFR_C797S/L858R突变、EGFR_T790M/C797S突变、EGFR_d746-750/T790M/C797S突变、EGFR_L858R/T790M/C797S突变的癌症患者的药物中的用途。

喹唑啉衍生物类酪氨酸激酶抑制剂的新用途

1、技术领域

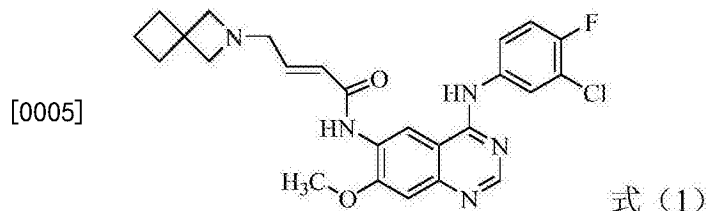
[0001] 本发明属于医药领域,具体涉及一种喹唑啉衍生物类酪氨酸激酶抑制剂及其药学上可接受盐的新用途。

2、背景技术

[0002] 蛋白酪氨酸激酶是一类将磷酸基团从ATP催化转移到位于蛋白质底物的酪氨酸残基的酶,其在正常细胞生长中起作用。许多生长因子受体蛋白通过酪氨酸激酶起作用,并且通过该过程影响信号通路的传导,进而调节细胞生长。然而,在某些条件下,这些受体或者突变或者过量表达,变得异常,引起细胞繁殖不受控制,导致肿瘤生长,最终引发熟知的疾病——癌。生长因子受体蛋白酪氨酸激酶抑制剂通过抑制上述磷酸化过程,起到治疗癌和其他特征为非控制的或异常细胞生长的疾病。

[0003] 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)是一种广泛分布于人体各组织细胞膜上的多功能糖蛋白,是鸟类成红细胞白血病病毒(avian erythroblastic leukemia viral,v-erb-b)致癌基因同源体。已有研究表明,EGFR的高表达存在于神经胶质瘤、头颈癌、非小细胞肺癌、胃癌、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌等多种实体瘤中,抑制EGFR酪氨酸激酶的活性可以有效抑制肿瘤的生长。目前小分子EGFR抑制剂可分为第一代可逆EGFR酪氨酸激酶抑制剂,代表药物为吉非替尼、厄洛替尼和埃克替尼,第二代不可逆EGFR酪氨酸激酶抑制剂,代表药物为阿法替尼,第三代不可逆EGFR酪氨酸激酶抑制剂,代表药物为奥希替尼(AZD9291),2015年在美国批准上市,AZD9291是阿斯利康的第三代靶向EGFR-TKI,针对T790M突变导致的耐药有极好的响应率。不过已经报道了癌症患者在使用第三代不可逆EGFR抑制剂治疗过程中EGFR外显子20中发现新的C797S突变,因此寻找对C797S突变具有良好效果的药物迫在眉睫。

[0004] 式(1)所示的化合物(E)-N-(4-((3-氯-4-氟苯)氨基)-7-甲氧基喹唑啉-6-基)-4-(2-氮杂螺环[3.3]庚烷-2-基)-2-丁烯酰胺(说明书中简称式(1)化合物,在专利申请PCT/CN2012/000737中已有描述)为Pan-HER不可逆抑制的喹唑啉衍生物类酪氨酸激酶抑制剂,研究表明,Pan-HER酪氨酸激酶不可逆抑制剂除了有效抑制EGFR外,还对HER2/4具有抑制作用,这种对HER/ErbB家族均有不可逆抑制作用的药物除提高了药物活性外,还减少了耐药性的产生,对Erlotinib耐药的H1975细胞系具有显著抑制作用,发挥出良好的抗肿瘤活性。



[0006] 在对该化合物进行研究的过程中,发明人意外地发现,该化合物除了对HER2/4具有抑制作用外,还对C797S具有良好的抑制作用,无论是对于C797S单突变,还是EGFR_C797S/L858R、EGFR_T790M/C797S双突变,甚至对于EGFR_d746-750/T790M/C797S、EGFR_

L858R/T790M/C797S三突变,均具有良好的抑制作用。

3、发明内容

[0007] 本发明涉及式(1)所示的酪氨酸激酶抑制剂(E)-N-(4-((3-氯-4-氟苯)氨基)-7-甲氧基喹唑啉-6-基)-4-(2-氮杂螺环[3.3]庚烷-2-基)-2-丁烯酰胺及其药学上可接受的盐的新用途。

[0008] 本发明的技术方案如下所示:

[0009] 方案1:式(1)所示化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗携带EGFR_T790M突变、EGFR_L858R突变、EGFR_L858R/T790M突变、EGFR_d746-750突变、EGFR_d746-750/T790M突变、EGFR_C797S突变、EGFR_C797S/L858R突变、EGFR_T790M/C797S突变、EGFR_d746-750/T790M/C797S突变、EGFR_L858R/T790M/C797S突变的癌症患者的药物中的用途。

[0010] 方案2:如方案1所述的用途,其中所述的癌症患者携带EGFR_C797S突变、EGFR_C797S/L858R突变、EGFR_T790M/C797S突变、EGFR_d746-750/T790M/C797S突变或EGFR_L858R/T790M/C797S突变。

[0011] 方案3:如方案2所述的用途,其中所述的癌症患者携带EGFR_C797S突变或EGFR_d746-750/T790M/C797S突变。

[0012] 方案4:如方案2所述的用途,其中所述的癌症患者携带EGFR_T790M/C797S突变。

[0013] 方案5:如方案1-4中任一项所述的用途,其中所述癌症对EGFR_T790M抑制剂具有耐药性。

[0014] 方案6:如方案5所述的用途,所述的EGFR_T790M抑制剂选自AZD9291、CO-1686、马来酸艾维替尼。

[0015] 方案7:如方案1-6中任一项所述的用途,其中所述的癌症包括但不限于脑癌、头颈癌、甲状腺癌、口腔癌、食道癌、肺癌、胃癌、肝癌、胆管癌、肾癌、胰腺癌、腹膜癌、结直肠癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌、表皮癌、神经胶质瘤、胶质母细胞瘤中的一种或两种以上。

[0016] 方案8:如方案7所述的用途,其中所述癌症选自肺癌,优选非小细胞肺癌。

[0017] 方案9:式(1)所示化合物或其药学上可接受的盐的药物制剂在制备用于治疗携带EGFR_C797S突变、EGFR_C797S/L858R突变、EGFR_T790M/C797S突变、EGFR_d746-750/T790M/C797S突变或EGFR_L858R/T790M/C797S突变的癌症患者的药物中的用途。

[0018] 方案10:式(1)所示化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种其他药物的组合物在制备用于治疗携带EGFR_C797S突变、EGFR_C797S/L858R突变、EGFR_T790M/C797S突变、EGFR_d746-750/T790M/C797S突变或EGFR_L858R/T790M/C797S突变的癌症患者的药物中的用途。

[0019] 方案11:如方案10所述的用途,所述组合物还包含药学上可接受的任一载体。

[0020] 方案12:式(1)所示化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗携带EGFR突变的癌症患者的药物中的用途,其特征在于,EGFR的突变位点为T790M、L858R、d746-750、C797S、R108K、A289V、S492R、G598V、G719S、S768I、V769C、D761Y中的一种或多种。

[0021] 方案13:如方案12所述的用途,其中所述突变位点为T790M、L858R、d746-750、C797S中的一种或多种。

- [0022] 方案14:如方案13所述的用途,其中所述突变位点至少包含C797S。
- [0023] 方案15:如方案14所述的用途,其特征在于,所述突变位点为C797S、C797S/L858R、T790M/C797S、EGFR d746-750/T790M/C797S、EGFR L858R/T790M/C797S。
- [0024] 本发明所述的C797S/L858R,是指EGFR基因在C797S和L858R上的双突变。
- [0025] 本发明所述的T790M/C797S,是指EGFR基因在T790M和C797S上的双突变。
- [0026] 本发明所述的L858R/T790M,是指EGFR基因在L858R和T790M上的双突变。
- [0027] 本发明所述的d746-750/T790M,是指EGFR基因在d746-750和T790M上的双突变。
- [0028] 本发明所述的d746-750/T790M/C797S,是指EGFR基因在d746-750、T790M和C797S上的三突变。
- [0029] 本发明所述的L858R/T790M/C797S,是指EGFR基因在L858R、T790M和C797S上的三突变。
- [0030] 本发明所述的式(I)化合物的药学上可接受的盐包括碱金属盐,如钠盐、钾盐、铷盐等;碱土金属盐,如钙盐、镁盐等;其他金属盐,如铝盐、铁盐、锌盐、铜盐、镍盐、钴盐等;无机碱盐,如铵盐;有机碱盐,如叔辛基胺盐、二苄基胺盐、吗啉盐、葡糖胺盐、苯基甘氨酸烷基酯盐、乙二胺盐、N-甲基葡糖胺盐、胍盐、二乙胺盐、三乙胺盐、二环己基胺盐、N,N'-二苄基乙二胺盐、氯普鲁卡因盐、普鲁卡因盐、二乙醇胺盐、N-苄基-苯乙基胺盐、哌嗪盐、四甲基胺盐、三(羟甲基)氨基甲烷盐等;无机酸盐,例如氢卤酸盐,如氢氟酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐等,硝酸盐,高氯酸盐,硫酸盐,磷酸盐等;有机酸盐,例如低级烷磺酸盐,如甲磺酸盐、三氟甲磺酸盐、乙磺酸盐等,芳基磺酸盐,如苯磺酸盐、对苯磺酸盐等,羧酸盐,如醋酸盐、苹果酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、草酸盐、马来酸盐等,氨基酸盐,如甘氨酸盐、三甲基甘氨酸盐、精氨酸盐、鸟氨酸盐、谷氨酸盐、天冬氨酸盐等。
- [0031] 本发明所述的“药物制剂”,为药学上可接受的任一剂型,以口服、肠胃外、直肠或经肺给药等方式施用于需要其的患者。用于口服给药时,可制成常规的固体制剂,如片剂、胶囊剂、丸剂、颗粒剂等;也可制成口服液体制剂,如口服溶液剂、口服混悬剂、糖浆剂等。制成口服制剂时,可以加入适宜的填充剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂等。用于肠胃外给药时,可制成注射剂,包括注射液、注射用无菌粉末与注射用浓溶液。制成注射剂时,可采用现有制药领域中的常规方法生产,配制注射剂时,可以不加入附加剂,也可根据药物的性质加入适宜的附加剂。用于直肠给药时,可制成栓剂等。用于经肺给药时,可制成吸入剂或喷雾剂等。
- [0032] 本发明所述的“其他药物”,选自抗代谢物,包括但不限于卡培他滨、吉西他滨;选自生长因子抑制剂,包括但不限于帕唑帕尼、伊马替尼;选自抗体,包括但不限于赫赛汀、贝伐单抗;选自有丝分裂抑制剂,包括但不限于紫杉醇、长春瑞滨、多西他赛、多柔比星;抗肿瘤激素类,包括来曲唑、他莫西芬、氟维司群;烷化剂类,包括环磷酰胺、卡莫司汀;选自金属铂类,包括但不限于卡铂、顺铂、奥沙利铂;选自拓扑异构酶抑制剂,包括但不限于拓扑特肯;选自免疫抑制类,包括但不限于依维莫司。
- [0033] 本发明所述的肿瘤、癌症或癌,还包括原发器官、组织和/或任何其它位置中的转移,不管肿瘤转移的位置。
- [0034] 本发明还提供治疗携带EGFR_C797S突变、EGFR_C797S/L858R突变、EGFR_T790M/C797S突变、EGFR_d746-750/T790M/C797S突变、EGFR_L858R/T790M/C797S突变的癌症患者的方法,其包括向需要此治疗的患者给予治疗有效量的(E)-N-(4-((3-氯-4-氟苯)氨基)-

7-甲氧基喹唑啉-6-基)-4-(2-氮杂螺环[3.3]庚烷-2-基)-2-丁烯酰胺,可以通过本领域中已知的任何常规和可接受的方式给药,治疗有效量根据患者的种族、性别、年龄、体重、医疗条件、疾病的类型、疾病的严重程度、施用途径和相关健康状况以及本领域技术人员已知的其他因素进行调整。

[0035] 本发明还提供式(1)化合物与一种或多种其他药物的组合物,可将这些其他药物与式(1)化合物同时或相继给药,用于治疗携带EGFR_C797S突变、EGFR_C797S/L858R突变、EGFR_T790M/C797S突变、EGFR_d746-750/T790M/C797S突变、EGFR_L858R/T790M/C797S突变的癌症患者。

[0036] 所述的组合物还可包含药学上可接受的任一载体,其中所述的载体包括但不限于:填充剂、稀释剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、润滑剂、表面活性剂、防腐剂、着色剂、矫味剂、芳香剂、泡腾剂、乳化剂、絮凝剂、反絮凝剂、抑菌剂、增溶剂。

4、具体实施方式

[0037] 以下结合实验例对本发明的上述内容作进一步的详细说明。但不应理解为本发明上述主题的范围仅限于以下实验例。凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的范围。

[0038] 下述缩写所代表的定义如下:

[0039] EDTA:乙二胺四乙酸

[0040] DMSO:二甲基亚砷

[0041] SD:标准差

[0042] HEPES:4-羟乙基哌嗪乙磺酸

[0043] Brij-35:十二烷基聚乙二醇醚

[0044] DTT:二硫苏糖醇

[0045] EGTA:乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸

[0046] BSA:牛血清白蛋白

[0047] 50×其中的“×”:倍

[0048] 实验例1式(1)化合物的体外酶学活性实验一

[0049] 供试品:式(1)化合物的二马来酸盐,自制。

[0050] 实验方法:利用Mobility Shift Assay的方法在Km ATP的情况下,在激酶EGFR_C797S,EGFR_C797S/L858R,EGFR_T790M/C797S and EGFR_T790M/C797S/L858R上对化合物进行筛选。

[0051] 1、试剂配制

[0052] (1)用于检测激酶的1倍激酶缓冲液

[0053] 50mM HEPES(pH 7.5)、0.0015%Brij-35、5mM MgCl₂、2mM DTT。

[0054] (2)终止液

[0055] 100mM HEPES(pH 7.5)、0.015%Brij-35、0.2%Coating Reagent#3、50mM EDTA。

[0056] 2、化合物配制

[0057] (1)根据拟用的最高浓度,用100%DMSO将化合物配成50×的母液。

[0058] (2)取一块新的96孔板,第二个孔加入100μL化合物母液,其他孔加入60μL的100%

DMSO。从第2孔中取20 μ L化合物加入第3孔中,依次往下做4倍稀释,共稀释10个浓度。

[0059] (3) 在上述96孔板中第1孔和第12孔中分别加入100 μ L 100%DMSO,做为对照孔。

[0060] (4) 从(3)所述96孔板的每一孔取10 μ L到另一块96孔板中,加入90 μ L 1倍激酶缓冲液。震荡10min,混合。

[0061] (5) 从(4)所述96孔板中取出5 μ L到一块384孔反应板,例如,96孔板的A1孔转移到384孔板的A1和A2孔中,96孔板的A2孔转移到384孔板的A3和A4孔中,以此类推。

[0062] 3、激酶反应

[0063] (1) 配制2.5倍酶溶液

[0064] 将激酶加入1倍激酶缓冲液,形成2.5倍酶溶液。

[0065] (2) 配制2.5倍的底物溶液

[0066] 将FAM标记的多肽和ATP加入1倍激酶缓冲液,形成2.5倍底物溶液。

[0067] (3) 向384孔板中加入2.5倍酶溶液

[0068] 在384孔反应板中加入10 μ L的2.5倍酶溶液,室温下孵育10分钟。

[0069] (4) 向384孔板中加入2.5倍的底物溶液

[0070] 在384孔反应板中加入10 μ L的2.5倍底物溶液。

[0071] (5) 激酶反应和终止

[0072] 28 $^{\circ}$ C下孵育一定时间(由各个激酶决定),加25 μ L终止液终止反应。

[0073] 4、Caliper读取转化率数据

[0074] 5、抑制率计算

[0075] 通过转化率计算抑制百分率

[0076] $\text{Percent抑制率} = (\text{max-conversion}) / (\text{max-min}) \times 100.$

[0077] 其中max是指DMSO对照的转化率,min是指无酶活对照的转化率。

[0078] 实验结果和结论:

[0079] 表1式(1)化合物对所选酶的IC₅₀(nM)值

[0080]

化合物	EGFR_C797S	EGFR_C797S/L858R	EGFR_T790M/C797S	EGFR_T790M/C797S/L858R
式(1)化合物				
二马来酸盐	0.31	0.72	10	12

[0081] 由上述结果可知,式(1)化合物的二马来酸盐对EGFR_C797S、EGFR_C797S/L858R、EGFR_T790M/C797S、EGFR_T790M/C797S/L858R均具有良好的抑制作用,对于治疗EGFR基因上的C797S突变具有潜在的研究价值。

[0082] 实验例2式(1)化合物的体外酶学活性实验二

[0083] 供试品:式(1)化合物的二马来酸盐,自制。

[0084] 实验方法:利用Mobility Shift Assay的方法在Km ATP的情况下,在激酶

[0085] EGFR_d746-750/T790M/C797S上对化合物进行筛选。

[0086] 1、反应缓冲液

[0087] 20mM Hepes (pH 7.5), 10mM MgCl₂, 1mM EGTA, 0.02%Brij35, 0.02mg/ml

[0088] BSA, 0.1mM Na₃VO₄, 2mM DTT, 1%DMSO。

[0089] 2、化合物配制

[0090] (1) 根据拟用的最高浓度,用100%DMSO将化合物配成50×的母液。

[0091] (2) 取一块新的96孔板,第二个孔加入100μL化合物母液,其他孔加入40μL的100%DMSO。从第2孔中取20μL化合物加入第3孔中,依次往下做3倍稀释,共稀释10个浓度。

[0092] (3) 在上述96孔板中第1孔和第12孔中分别加入100μL 100%DMSO,做为对照孔。

[0093] 3、激酶反应

[0094] (1) 配制底物溶液

[0095] 用新鲜的反应缓冲液配置底物溶液。

[0096] (2) 加入辅酶因子

[0097] 根据酶的不同向上述的底物溶液中加入相应的辅酶因子。

[0098] (3) 加入激酶

[0099] 向上述的底物溶液中加入激酶并温和的振摇混匀。

[0100] (4) 加入化合物

[0101] 将溶于DMSO的化合物加入到上述激酶反应体系中,通过超声使之溶解于该体系。

[0102] (5) 开始激酶反应

[0103] 向上述反应混合体系中加入³³P-ATP(放射性比活度0.01μCi/μl),开始激酶反应。

[0104] (6) 孵育

[0105] 上述激酶反应体系室温孵育120min。

[0106] (7) 转印

[0107] 向上述激酶反应转印到P81离子交换滤纸上。

[0108] (8) 洗脱

[0109] 用0.75%的磷酸盐缓冲液洗脱滤纸。

[0110] (9) 检测

[0111] 检测留在滤纸上的放射性的磷酸化的底物。

[0112] 4、数据分析

[0113] 激酶的活性用待测样品组剩下的激酶活性与溶剂对照组的活性的百分比表示。

IC50值和拟合曲线通过Prism4Software (GraphPad) 得到。

[0114] 实验结果和结论:

[0115] 表2式(1) 化合物对所选酶的IC₅₀ (nM) 值

化合物	EGFR_d746-750/T790M/C797S
式(1) 化合物二马来酸盐	4.73

[0117] 由上述实验结果可知,式(1)化合物的二马来酸盐对EGFR_d746-750/T790M/C797S具有显著的抑制作用,因此,其具有开发为新一代EGFR抑制剂的潜力。