

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 713**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/506** (2006.01)

**A61K 31/16** (2006.01)

**C07D 239/47** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.10.2011 PCT/US2011/058616**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2012 WO12061303**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.10.2011 E 11838628 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.05.2017 EP 2635285**

54 Título: **Compuestos de heteroarilo y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**13.09.2011 US 201161534306 P**

**09.11.2010 US 411834 P**

**10.11.2010 US 412324 P**

**01.11.2010 US 409074 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**04.10.2017**

73 Titular/es:

**CELGENE CAR LLC (100.0%)  
AON House 30 Woodbourne Avenue  
Pembroke HM 08, BM**

72 Inventor/es:

**LEE, KWANGHO;  
NIU, DEQIANG;  
PETTER, RUSSELL, C. y  
SINGH, JUSWINDER**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 635 713 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Compuestos de heteroarilo y usos de los mismos

**Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

- 5 La presente solicitud reivindica la prioridad de las solicitudes estadounidenses provisionales número 61/409.074, presentada el 1 de noviembre de 2010, 61/411.834, presentada el 9 de noviembre de 2010, 61/412.324, presentada el 10 de noviembre de 2011 y 61/534.306, presentada el 13 de septiembre de 2011, incorporándose como referencia por la presente cada una de ellas en su totalidad.

**Campo técnico de la invención**

- 10 La presente invención se refiere a compuestos útiles como inhibidores de cinasas receptoras de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) selectivos de mutante. La invención también proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden compuestos de la presente invención y métodos de uso de dichas composiciones en el tratamiento de diversos trastornos.

**Antecedentes de la invención**

- 15 Las proteína tirosina cinasas son una clase de enzimas que catalizan la transferencia de un grupo fosfato de ATP o GTP a un residuo de tirosina ubicado en un sustrato proteico. Las tirosina cinasas receptoras actúan para transmitir señales desde el exterior de una célula a su interior activando efectores de mensajes secundarios mediante un acontecimiento de fosforilación. Una variedad de procesos celulares se ven fomentados por estas señales, incluyendo proliferación, utilización de hidratos de carbono, síntesis de proteínas, angiogénesis, crecimiento celular y supervivencia celular.

- 20 Existe un fuerte precedente de la implicación de EGFR en cáncer humano porque más del 60% de todos los tumores sólidos sobreexpresan al menos una de estas proteínas o sus ligandos. La sobreexpresión de EGFR se encuentra habitualmente en tumores de mama, de pulmón, de cabeza y cuello y de vejiga. El documento WO2009/158571 da a conocer compuestos activos como inhibidores de EGFR.

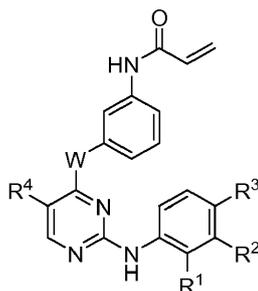
- 25 Se han identificado mutaciones activantes en el dominio tirosina cinasa de EGFR en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (Lin, N. U.; Winer, E. P., Breast Cancer Res 6: 204-210, 2004). Los inhibidores reversibles Tarceva (erlotinib) e Iressa (gefitinib) son actualmente la terapia de primera línea para pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas con mutaciones activantes. Las mutaciones activantes más habituales son L858R y delE746-A750.

- 30 Adicionalmente, en la mayoría de pacientes que presentan recidiva, se ha detectado resistencia a fármacos adquirida en al menos la mitad de tales pacientes clínicamente resistentes, tal como mediante mutación del residuo guardián T790M. Además, T790M también puede ser preexistente, puede haber un papel oncogénico independiente para la mutación de T790M. Por ejemplo, hay pacientes con la mutación L858R/T790M que nunca recibieron tratamiento con gefitinib. Además, se vinculan mutaciones de T790M de EGFR de línea germinal con determinados cánceres de pulmón familiares.

- 35 Fármacos actualmente en desarrollo, incluyendo inhibidores covalentes de segunda generación, tales como BIBW2992, HKI-272 y PF-0299804, son eficaces frente a la mutación con resistencia de T790M pero presentan toxicidades limitantes de la dosis debido a la inhibición simultánea de EGFR WT. Por consiguiente, sigue habiendo la necesidad de hallar inhibidores de cinasa de EGFR selectivos de mutante útiles como agentes terapéuticos.

**Sumario de la invención**

- 40 Se ha hallado ahora que compuestos de esta invención, y composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos, son eficaces como inhibidores de cinasa de EGFR selectivos de mutante. Tales compuestos tienen la fórmula general I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que cada uno de W, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> es tal como se define y describe en el presente documento.

5 Los compuestos de la presente invención, y composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos, son útiles para tratar cánceres asociados con una o más mutaciones de EGFR. Tales enfermedades, trastornos o estados incluyen los descritos en el presente documento.

Los compuestos proporcionados por esta invención también son útiles para el estudio de cinasas en fenómenos biológicos y patológicos; el estudio de rutas de transducción de señales intracelulares mediadas por tales cinasas; y la evaluación comparativa de nuevos inhibidores de cinasa.

### Breve descripción de los dibujos

10 La figura 1 representa la inhibición de respuesta a la dosis de la proteína ribosómica pS6 con los compuestos de prueba I-3 e I-7.

La figura 2 representa la inhibición selectiva de respuesta a la dosis de la proteína ribosómica pS6 en células con EGFR mutante en comparación con EGFR silvestre con los compuestos de prueba I-3 e I-7.

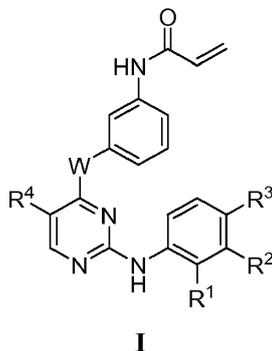
15 La figura 3 representa la inhibición de respuesta a la dosis de pEGFR con los compuestos I-1, I-2 y I-3 en células H1975 en un experimento de "lavado".

La figura 4 representa el análisis mediante EM que confirma la modificación covalente de EGFR T790M/L858R por el compuesto I-1.

### Descripción detallada de determinadas realizaciones

#### 1. Descripción general de los compuestos de la invención

20 En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

W es -O- o -NH-;

R<sup>1</sup> es -OR;

25 cada R es independientemente alquilo C<sub>1-4</sub> o fluoroalquilo C<sub>1-4</sub>;

cada uno de R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> es independientemente hidrógeno, -OH u -OR; y

R<sup>4</sup> es -CF<sub>3</sub>, Cl o Br.

30 Tal como se definió generalmente antes, R<sup>1</sup> es -OR en el que R es alquilo C<sub>1-4</sub> o fluoroalquilo C<sub>1-4</sub>. En algunas realizaciones, R es alquilo C<sub>1-4</sub>. En determinadas realizaciones, R es fluoroalquilo C<sub>1-4</sub>. En algunas realizaciones, R es -CHF<sub>2</sub> o -CF<sub>3</sub>.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I en el que se aplican al menos una; al menos dos; al menos tres; o todas de las siguientes características:

(a) W es -O-;

(b) R<sup>1</sup> es -OCH<sub>3</sub>;

35 (c) R<sup>2</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>;

(d) R<sup>3</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>; o

(e) R<sup>4</sup> es -CF<sub>3</sub> o -Cl.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I en el que aplican al menos una; al menos dos; al menos tres; o todas de las siguientes características:

5 (a) W es -NH-;

(b) R<sup>1</sup> es -OCH<sub>3</sub>;

(c) R<sup>2</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>;

(d) R<sup>3</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>; o

(e) R<sup>4</sup> es -CF<sub>3</sub> o -Cl.

10 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I en el que aplican al menos una; al menos dos; al menos tres; o todas de las siguientes características:

(a) W es -O- o -NH-;

(b) R<sup>1</sup> es -OCH<sub>3</sub>;

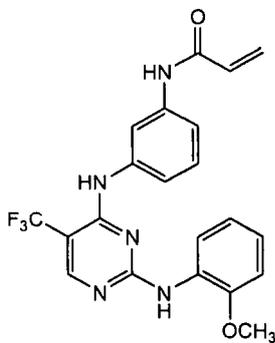
(c) R<sup>2</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>;

15 (d) R<sup>3</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>; o

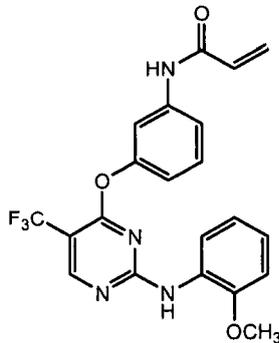
(e) R<sup>4</sup> es -CF<sub>3</sub> o -Cl.

Se exponen compuestos de fórmula I a modo de ejemplo en la tabla 1 a continuación.

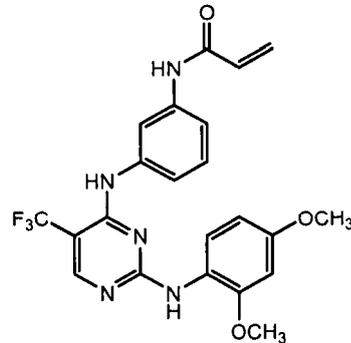
Tabla 1. Compuestos a modo de ejemplo



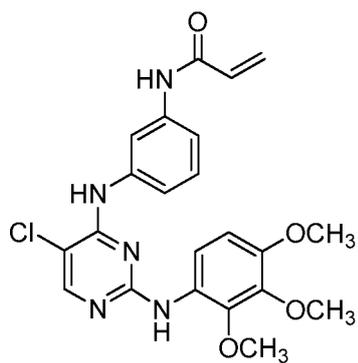
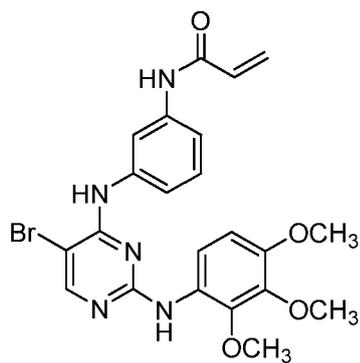
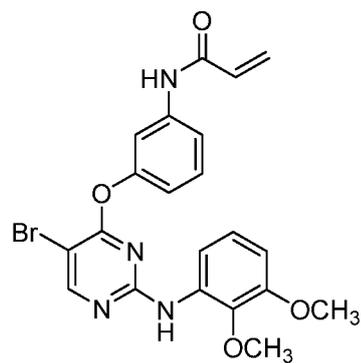
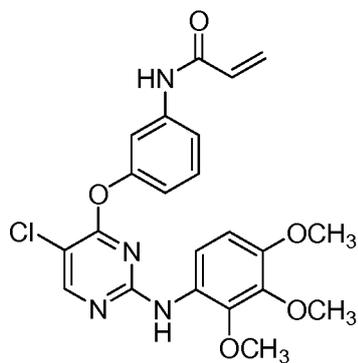
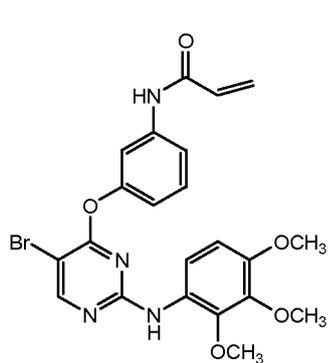
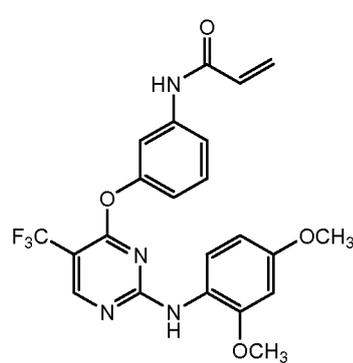
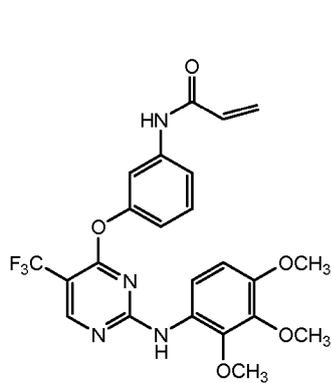
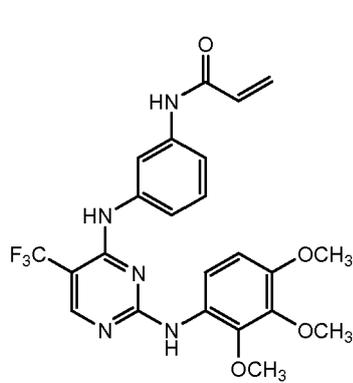
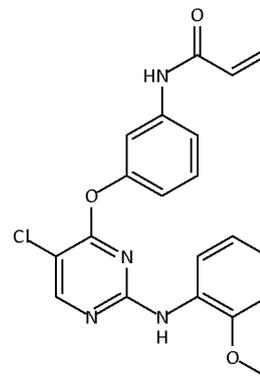
**I-1**

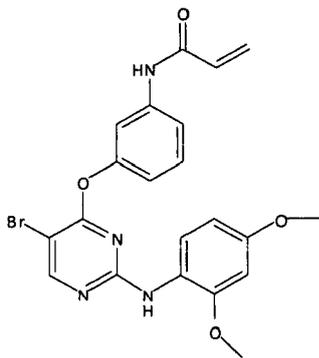


**I-2**

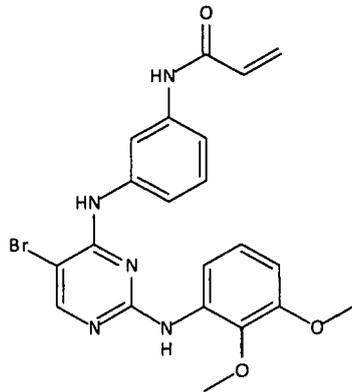


**I-3**

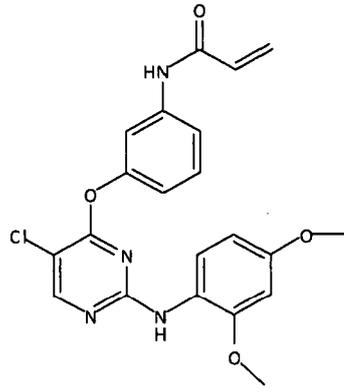
**I-4****I-5****I-6****I-7****I-8****I-9****I-10****I-11****I-12**



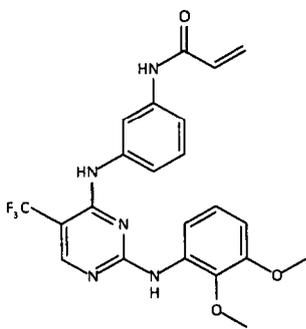
**I-13**



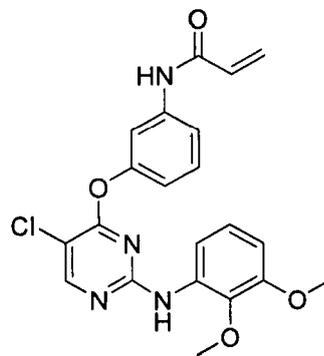
**I-14**



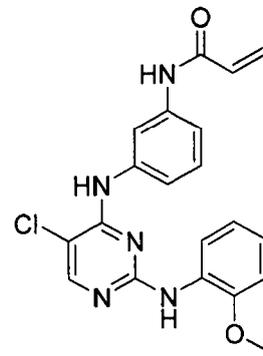
**I-15**



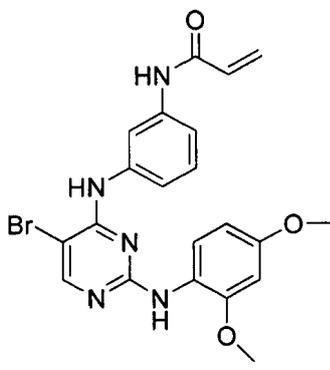
**I-16**



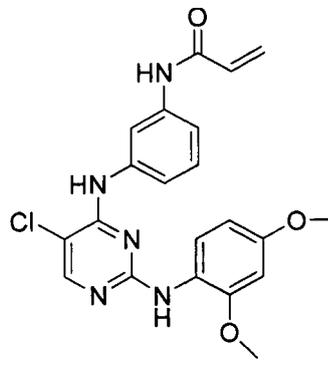
**I-17**



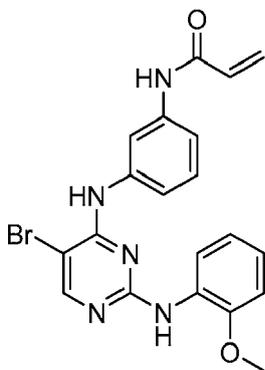
**I-18**



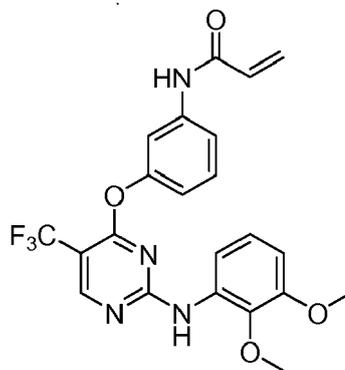
**I-20**



**I-21**



**I-22**



**I-23**

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto expuesto en la tabla 1,

anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Tal como se usa en el presente documento, el término “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas sales que son, dentro del alcance del criterio médico razonable, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y son acordes a una razón riesgo beneficio razonable. Se conocen bien en la técnica sales farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, S. M. Berge *et al.*, describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19, incorporado como referencia en el presente documento. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención incluyen las derivadas de bases y ácidos inorgánicos y orgánicos adecuados. Ejemplos de sales de adición de ácido no tóxicas, farmacéuticamente aceptables son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o usando otros métodos usados en la técnica tales como intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, valerato, y similares.

Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metal alcalino, metal alcalinotérreo, amonio y  $N^+$  (alquilo  $C_{1-4}$ ). Las sales de metal alcalino o metal alcalinotérreo representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, y similares. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando sea apropiado, cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina formados usando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquil inferior-sulfonato y arilsulfonato.

## 2. Descripción de realizaciones a modo de ejemplo

Tal como se describe en detalle en el presente documento, a continuación, los compuestos proporcionados son inhibidores selectivos de al menos una mutación de EGFR. Se ha hallado sorprendentemente que los compuestos proporcionados son inhibidores selectivos de al menos una mutación de EGFR en comparación con EGFR silvestre (“WT”). En determinadas realizaciones, la al menos una mutación de EGFR es T790M. En determinadas realizaciones, la al menos una mutación de EGFR es una mutación de delección. En algunas realizaciones, la al menos una mutación de EGFR es una mutación activante. En determinadas realizaciones, un compuesto proporcionado inhibe selectivamente al menos una mutación de delección/resistente y al menos una mutación activante en comparación con EGFR WT. En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado inhibe selectivamente al menos una mutación de delección y/o al menos una puntual, y no afecta en cuanto a la inhibición de EGFR WT.

Puede seleccionarse una mutación de EGFR de T790M (resistente u oncogénica), L858R (activante), delE746-A750 (activante), G719S (activante), o una combinación de las mismas.

Tal como se usa en el presente documento, el término “inhibe selectivamente”, tal como se usa en comparación con la inhibición de EGFR WT, significa que un compuesto proporcionado inhibe al menos una mutación de EGFR (es decir, al menos una mutación de delección, al menos una mutación activante, o una combinación de al menos una mutación de delección y al menos una mutación activante) en al menos un ensayo descrito en el presente documento (por ejemplo, bioquímico o celular). En algunas realizaciones, el término “inhibe selectivamente”, tal como se usa en comparación con la inhibición de EGFR WT significa que un compuesto proporcionado es al menos 50 veces más potente, al menos 45 veces, al menos 40, al menos 35, al menos 30, al menos 25 o al menos 20 veces más potente como inhibidor de al menos una mutación de EGFR, tal como se define y describe en el presente documento, en comparación con EGFR WT.

Tal como se usa en el presente documento, el término “que inhibe poco a EGFR WT” significa que un inhibidor selectivo de al menos una mutación de EGFR, tal como se define y describe anteriormente y en el presente documento, inhibe EGFR en el límite superior de detección de al menos un ensayo tal como se describe en el presente documento (por ejemplo, bioquímico o celular tal como se describe en detalle en los ejemplos 24-26). En algunas realizaciones, el término “que inhibe poco a EGFR WT” significa que un compuesto proporcionado inhibe EGFR WT con un  $CI_{50}$  de al menos 10  $\mu M$ , al menos 9  $\mu M$ , al menos 8  $\mu M$ , al menos 7  $\mu M$ , al menos 6  $\mu M$ , al menos 5  $\mu M$ , al menos 3  $\mu M$ , al menos 2  $\mu M$  o al menos 1  $\mu M$ .

En determinadas realizaciones, un compuesto proporcionado inhibe selectivamente (a) al menos una mutación activante; y (b) T790M; y (c) inhibe poco a WT. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación de delección. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación puntual. En algunas realizaciones, una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, una mutación activante es G719S. En algunas realizaciones, una mutación activante es delE746-A750.

En algunas realizaciones, la al menos una mutación de EGFR es L858R y/o T790M.

5 Sin querer limitarse por ninguna teoría particular, se cree que la administración de un compuesto proporcionado a un paciente que tiene al menos una mutación activante puede impedir la formación de la mutación de resistencia T790M. Por tanto, en determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir una mutación activante en un paciente que comprende administrar al paciente un compuesto proporcionado o una composición del mismo, tal como se describe en el presente documento.

10 Un experto habitual en la técnica apreciará que determinados pacientes tienen una forma oncogénica de la mutación T790M, es decir, la mutación T790M está presente antes de la administración al paciente de cualquier inhibidor de EGFR y es, por tanto, oncogénica. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir T790M oncogénica en un paciente que comprende administrar al paciente un compuesto proporcionado o una composición del mismo, tal como se describe en el presente documento.

15 Tarceva (erlotinib) e Iressa (gefitinib) son terapias de primera línea para pacientes con mutaciones activantes pero presentan toxicidades limitantes de la dosis debido a la inhibición simultánea de EGFR WT. Además, los fármacos actualmente en desarrollo, incluyendo inhibidores covalentes de segunda generación, tales como BIBW2992, HKI-272 y PF-0299804, son eficaces contra la mutación de resistencia T790M pero presentan toxicidades limitantes de la dosis debido a la inhibición simultánea de EGFR WT.

Se ha hallado sorprendentemente que los compuestos proporcionados inhiben selectivamente cada una de las mutaciones activantes y de delección de EGFR. Además, los compuestos proporcionados inhiben poco a EGFR WT y toxicidades limitantes de la dosis asociadas.

20 Esto contrasta con otros inhibidores de EGFR conocidos (por ejemplo, BIBW2992 y HKI-272) que solo son eficaces en cierta medida contra mutantes pero conservan la actividad contra EGFR WT y, por tanto, están limitados por toxicidades asociadas con la inhibición de EGFR WT. La tabla 2, a continuación, expone valores de GI<sub>50</sub> de Tarceva, BIBW2992 y HKI-272 en comparación con los compuestos proporcionados I-1 e I-11 (correspondiendo los números de compuesto a los números de compuesto en la tabla 1, anteriormente). Los datos mostrados en la tabla 2 corresponden a los valores de GI<sub>50</sub> obtenidos en el ensayo de proliferación celular descrito en detalle en el ejemplo 26, en el que células A431 expresan EGFR WT, HCC827 expresan EGFR que tiene la mutación de delección delE746-A750 y células H1975 expresan EGFR que tiene una doble mutación L858R/T790M.

Tabla 2. Valores de GI<sub>50</sub> comparativos (nM)

Línea celular	Tarceva	BIBW2992	HKI-272	I-1	I-11
A431	298	20	4	>1000	>1000
HCC827	12	<5	78	10-100	10-100
H1975	>5000	196	13	100-500	100-500

30 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es al menos 50, al menos 45 veces, al menos 40, al menos 35, al menos 30, al menos 25 o al menos 20 veces más potente para al menos una mutación de EGFR en comparación con EGFR WT, tal como se determina mediante el ensayo bioquímico descrito en detalle en el ejemplo 24, a continuación. En determinadas realizaciones, un compuesto proporcionado es al menos 20, al menos 15 o al menos 10 veces más potente para al menos una mutación de EGFR en comparación con EGFR WT, tal como se determina mediante el ensayo celular descrito en detalle en el ejemplo 26, a continuación.

35 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es al menos 50, al menos 45 veces, al menos 40, al menos 35, al menos 30, al menos 25 o al menos 20 veces más potente para al menos una mutación de delección de EGFR en comparación con EGFR WT, tal como se determina mediante el ensayo bioquímico descrito en detalle en el ejemplo 24, a continuación. En determinadas realizaciones, un compuesto proporcionado es al menos 20, al menos 15 o al menos 10 veces más potente para al menos una mutación de delección de EGFR en comparación con EGFR WT, tal como se determina mediante el ensayo celular descrito en detalle en el ejemplo 26, a continuación.

40 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es al menos 50, al menos 45 veces, al menos 40, al menos 35, al menos 30, al menos 25 o al menos 20 veces más potente para la mutación L858R y/o T790M de EGFR en comparación con EGFR WT, tal como se determina mediante el ensayo bioquímico descrito en detalle en el ejemplo 24, a continuación. En determinadas realizaciones, un compuesto proporcionado es al menos 20, al menos 15 o al menos 10 veces más potente para la mutación L858R y/o T790M de EGFR en comparación con EGFR WT, tal como se determina mediante el ensayo celular descrito en detalle en el ejemplo 26, a continuación.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es al menos 20, al menos 15 o al menos 10 veces más potente para el doble mutante en células H1975, en comparación con EGFR WT, en el ensayo de señalización descrito en detalle en el ejemplo 25.

50 En determinadas realizaciones, un compuesto proporcionado inhibe al menos una mutación de EGFR selectivamente en comparación con EGFR WT y en comparación con otras proteína cinasas (por ejemplo, ErbB2, ErbB4, una TEC-cinasa, y/o JAK3). Se apreciará que el resto de acrilamida, representado en la fórmula I, es un

grupo de cabeza activa para la unión covalente a un residuo de cisteína clave en el dominio de unión de al menos una mutación de EGFR selectivamente en comparación con EGFR WT y otras proteína cinasas. Un experto habitual en la técnica conoce proteína cinasas que tienen un residuo de cisteína en el dominio de unión. Tales proteína cinasas que tienen un residuo de cisteína en el dominio de unión incluyen la familia de TEC de proteína cinasas (incluyendo TEC, BTK, ITK, BMX, JAK3 y RLK). En determinadas realizaciones, el residuo de cisteína se conserva a lo largo de una subfamilia de proteína cinasas, tal como ErbB1 (denominado habitualmente EGFR), ErbB2 y ErbB4.

Sin querer limitarse por ninguna teoría particular, se cree que los compuestos proporcionados inhiben de manera irreversible (es decir, modifican covalentemente) al menos una mutación de EGFR selectivamente en comparación con EGFR WT y otras proteína cinasas. En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado inhibe de manera irreversible al menos una mutación de EGFR selectivamente en comparación con al menos una proteína cinasa seleccionada de ErbB1, ErbB2, ErbB4, TEC, BTK, ITK, BMX, JAK3 o RLK.

A pesar de que, en determinadas realizaciones, los compuestos proporcionados no inhiben apreciablemente, ni de manera reversible o irreversible, otras proteína cinasas. En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es selectivo para inhibir al menos un mutante de EGFR en comparación con proteína cinasas no diana evitando de ese modo efectos y toxicidades asociados con la inhibición del mismo.

### 3. Usos, formulación y administración

#### *Composiciones farmacéuticamente aceptables*

Según otra realización, la invención proporciona una composición que comprende un compuesto de esta invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. Una cantidad de compuesto en una composición de esta invención es tal que sea eficaz para inhibir de manera medible una proteína cinasa, particularmente para inhibir al menos un mutante de EGFR selectivamente en comparación con EGFR WT, en una muestra biológica o en un paciente. En determinadas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es T790M. En determinadas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es una mutación de delección de EGFR. En algunas realizaciones, la al menos una mutación de EGFR es L858R y/o T790M.

En determinadas realizaciones, una cantidad de compuesto en una composición proporcionada es tal que sea eficaz para inhibir de manera medible al menos una mutación de EGFR selectivamente en comparación con EGFR WT y otras proteína cinasas (por ejemplo, ErbB2, ErbB4, una TEC-cinasa y/o JAK3).

En determinadas realizaciones, la cantidad de compuesto en una composición proporcionada es tal que sea eficaz para inhibir de manera medible al menos un mutante de EGFR selectivamente en comparación con EGFR WT, en una muestra biológica o en un paciente. En determinadas realizaciones, una composición de esta invención se formula para la administración a un paciente que necesita tal composición. En algunas realizaciones, una composición de esta invención se formula para la administración oral a un paciente.

En determinadas realizaciones, la cantidad de compuesto en una composición proporcionada es tal que sea eficaz para inhibir de manera medible al menos un mutante de EGFR selectivamente en comparación con EGFR WT y otras proteína cinasas (por ejemplo, ErbB2, ErbB4, una TEC-cinasa y/o JAK3), en una muestra biológica o en un paciente. En determinadas realizaciones, una composición de esta invención se formula para la administración a un paciente que necesita tal composición. En algunas realizaciones, una composición de esta invención se formula para la administración oral a un paciente.

El término "paciente", tal como se usa en el presente documento, significa un animal, preferiblemente un mamífero, y lo más preferiblemente un ser humano.

El término "portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un portador, adyuvante o vehículo no tóxico que no destruye la actividad farmacológica del compuesto con que se formula. Portadores, adyuvantes o vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en las composiciones de esta invención incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como albúmina sérica humana, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliácridatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxiopropileno, polietilenglicol y lanolina.

Las composiciones de la presente invención pueden administrarse por vía oral, por vía parenteral, mediante pulverización para inhalación, de forma tópica, por vía rectal, por vía nasal, por vía bucal, por vía vaginal o mediante un depósito implantado. El término "parenteral" tal como se usa en el presente documento incluye técnicas de infusión o inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracranial. Preferiblemente, las composiciones se administran por vía oral, por vía intraperitoneal o por vía intravenosa. Las formas inyectables estériles de las composiciones de esta invención pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Estas suspensiones pueden formularse según técnicas conocidas

en la técnica usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico aceptable por vía parenteral, por ejemplo como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran el agua, solución de Ringer y disolución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean de manera convencional aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión.

Para este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo insípido incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados de glicérido son útiles en la preparación de productos inyectables, como lo son los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tales como aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxiethyladas. Estas disoluciones o suspensiones en aceite también pueden contener un diluyente o dispersante de alcohol de cadena larga, o agentes de dispersión similares que se usan habitualmente en la formulación de formas de dosificación farmacéuticamente aceptables incluyendo emulsiones y suspensiones. Para los fines de formulación, también pueden usarse otros tensioactivos usados habitualmente, tales como Tween, Span y otros agentes emulsionantes o potenciadores de la biodisponibilidad que se usan habitualmente en la fabricación de formas de dosificación farmacéuticamente aceptables sólidas, líquidas u otras.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención pueden administrarse por vía oral en cualquier forma de dosificación aceptable por vía oral incluyendo, pero sin limitarse a, cápsulas, comprimidos, suspensiones o disoluciones acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los portadores usados habitualmente incluyen lactosa y almidón de maíz. También se añaden normalmente agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz secado. Cuando se requieren suspensiones acuosas para uso oral, el principio activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también pueden añadirse determinados agentes edulcorantes, saborizantes o colorantes.

Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención pueden administrarse en forma de supositorios para administración rectal. Estos pueden prepararse mezclando el agente con un excipiente no irritante adecuado que sea sólido a temperatura ambiente pero líquido a la temperatura rectal y, por tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen manteca de cacao, cera de abejas y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención también pueden administrarse de forma tópica, especialmente cuando la diana de tratamiento incluye zonas u órganos fácilmente accesibles mediante aplicación tópica, incluyendo enfermedades de los ojos, la piel y la parte baja del tracto intestinal. Se preparan fácilmente formulaciones tópicas adecuadas para cada una de estas zonas u órganos.

La aplicación tópica para la parte baja del tracto intestinal puede efectuarse en una formulación de supositorio rectal (véase anteriormente) o en una formulación de enema adecuada. También pueden usarse parches transdérmicos de forma tópica.

Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticamente aceptables proporcionadas pueden formularse en una pomada adecuada que contiene el componente activo en suspensión o disuelto en uno o más portadores. Los portadores para la administración tópica de compuestos de esta invención incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina filante, propilenglicol, polioxiethyleno, compuesto de polioxiopropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente aceptables proporcionadas pueden formularse en una loción o crema adecuada que contiene el componente activo en suspensión o disuelto en uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Los portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, monoestearato de sorbitano, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

Para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticamente aceptables proporcionadas pueden formularse como suspensiones micronizadas en solución salina isotónica de pH ajustado, o, preferiblemente, como disoluciones en solución salina isotónica de pH ajustado, o bien con o bien sin un conservante tal como cloruro de bencalalconio. Alternativamente, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticamente aceptables pueden formularse en una pomada tal como vaselina.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención también pueden administrarse mediante aerosol o inhalación nasal. Tales composiciones se preparan según técnicas bien conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica y pueden prepararse como disoluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para potenciar la biodisponibilidad, fluorocarbonos, y/u otros agentes solubilizantes o de dispersión convencionales.

En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se formulan para administración oral.

La cantidad de compuestos de la presente invención que puede combinarse con los materiales portadores para producir una composición en una única forma de dosificación variará dependiendo del huésped tratado, el modo de

administración particular. Preferiblemente, las composiciones proporcionadas deben formularse de modo que pueda administrarse una dosificación de entre 0,01 - 100 mg/kg de peso corporal/día del inhibidor a un paciente que recibe estas composiciones.

5 También debe entenderse que una dosificación y un régimen de tratamiento específicos para cualquier paciente particular dependerán de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el momento de administración, la tasa de excreción, la combinación farmacológica y el criterio del médico encargado y la gravedad de la enfermedad particular que esté tratándose. La cantidad de un compuesto de la presente invención en la composición también dependerá del compuesto particular en la composición.

#### 10 Usos de compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables

Los compuestos y las composiciones descritos en el presente documento son generalmente útiles para la inhibición selectiva de al menos un mutante de EGFR en comparación con EGFR WT. En determinadas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es T790M. En determinadas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es una mutación de delección de EGFR, una mutación activante de EGFR, o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la al menos una mutación de EGFR es L858R y/o T790M.

En determinadas realizaciones, un compuesto proporcionado inhibe selectivamente (a) al menos una mutación activante, (b) T790M y (c) inhibe poco a WT. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación de delección. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación puntual. En algunas realizaciones, una mutación activante es delE746-A750. En algunas realizaciones, una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, una mutación activante es G719S.

En algunas realizaciones, la al menos una mutación de EGFR es L858R y/o T790M.

La actividad de un compuesto utilizado en esta invención como inhibidor selectivo de al menos un mutante de EGFR en comparación con EGFR WT, puede someterse a ensayo *in vitro*, *in vivo* o en una línea celular. Los ensayos *in vitro* incluyen ensayos que determinan la inhibición de la actividad de fosforilación y/o las posteriores consecuencias funcionales o actividad ATPasa de EGFR activado (WT o mutante). Algunos ensayos *in vitro* alternativos cuantifican la capacidad del inhibidor para unirse a EGFR (WT o mutante). Puede medirse la unión del inhibidor mediante radiomarcaje antes de la unión, aislando el complejo inhibidor/EGFR (WT o mutante) y determinando la cantidad de radiomarcador unido. Alternativamente, puede determinarse la unión del inhibidor realizando un experimento de competencia en el que se incuban nuevos inhibidores con EGFR (WT o mutante) unido a radioligandos conocidos. A continuación en los ejemplos se exponen condiciones detalladas para someter a ensayo un compuesto utilizado en esta invención como inhibidor de EGFR (WT o mutante).

Las proteína tirosina cinasas son una clase de enzimas que catalizan la transferencia de un grupo fosfato de ATP o GTP a un residuo de tirosina ubicado en un sustrato proteico. Las tirosina cinasas receptoras actúan para transmitir señales desde el exterior de una célula a su interior activando efectores de mensajes secundarios mediante un acontecimiento de fosforilación. Una variedad de procesos celulares se ven fomentados por estas señales, incluyendo proliferación, utilización de hidratos de carbono, síntesis de proteínas, angiogénesis, crecimiento celular y supervivencia celular.

Tal como se usan en el presente documento, los términos "tratamiento", "tratar" y "que trata" se refieren a revertir, aliviar, retardar la aparición de o inhibir el progreso de una enfermedad o un trastorno, o uno o más síntomas de los mismos, tal como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el tratamiento puede administrarse después de haberse desarrollado uno o más síntomas. En otras realizaciones, el tratamiento puede administrarse en ausencia de síntomas. Por ejemplo, el tratamiento puede administrarse a un individuo susceptible antes de la aparición de los síntomas (por ejemplo, a la luz de un historial de síntomas y/o a la luz de factores genéticos u otros factores de susceptibilidad). El tratamiento también puede continuarse después de que se hayan resuelto los síntomas, por ejemplo para prevenir o retardar su recurrencia.

Los compuestos proporcionados son inhibidores de al menos un mutante de EGFR y, por tanto, son útiles para tratar uno o más trastornos asociados con la actividad de uno de más mutantes de EGFR (por ejemplo, una mutación de delección, una mutación activante, o una combinación de las mismas). Por tanto, en determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar un trastorno mediado por EGFR mutante que comprende la etapa de administrar a un paciente que lo necesita un compuesto de la presente invención, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo.

Tal como se usa en el presente documento, el término trastornos o estados "mediados por EGFR mutante" tal como se usa en el presente documento significa cualquier enfermedad u otro estado perjudicial en el que se sabe que al menos un mutante de EGFR desempeña un papel. En determinadas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es T790M. En algunas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es una mutación de delección. En determinadas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es una mutación activante. En algunas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es L858R y/o T790M. En determinadas realizaciones, un compuesto proporcionado inhibe selectivamente (a) al menos una mutación activante, (b) T790M, y (c) inhibe poco a WT. En

algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación de delección. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación puntual. En algunas realizaciones, una mutación activante es del E746-A750. En algunas realizaciones, una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, una mutación activante es G719S.

5 Por consiguiente, otra realización de la presente invención se refiere a tratar o paliar la gravedad de una o más enfermedades en las que se sabe que al menos un mutante de EGFR desempeña un papel. Específicamente, la presente invención se refiere a un método de tratar o paliar la gravedad de una enfermedad o un estado seleccionado de un trastorno proliferativo, en el que dicho método comprende administrar a un paciente que lo necesita un compuesto o una composición según la presente invención.

10 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar o paliar la gravedad de uno o más trastornos seleccionados de un cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer se asocia con un tumor sólido. En determinadas realizaciones, el cáncer es cáncer de mama, glioblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de vejiga o cáncer de pulmón de células no pequeñas. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar o paliar la gravedad de uno o más trastornos seleccionados de carcinoma de células escamosas, carcinoma de glándula salival, carcinoma de ovarios o cáncer de páncreas.

15 En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar o paliar la gravedad de neurofibromatosis tipo I (NF1), neurofibromatosis tipo II (NF2) neoplasias de células de Schwann (por ejemplo MPNST) o schwannomas.

20 Los compuestos y las composiciones, según el método de la presente invención, pueden administrarse usando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para tratar o paliar la gravedad de un cáncer. La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, la edad y el estado general del sujeto, la intensidad de la infección, el agente particular, su modo de administración, y similares. Los compuestos de la invención se formulan preferiblemente en forma unitaria de dosificación para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La expresión "forma unitaria de dosificación" tal como se usa en el presente documento se refiere a una unidad físicamente diferenciada de agente apropiada para el paciente que va a tratarse. Sin embargo, se entenderá que el uso diario total de los compuestos y las composiciones de la presente invención lo decidirá el médico encargado dentro del alcance del criterio médico razonable. El nivel de dosis eficaz específico para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una variedad de factores incluyendo el trastorno que esté tratándose y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el momento de administración, la vía de administración y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos usados en combinación o de manera coincidente con el compuesto específico empleado, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. El término "paciente", tal como se usa en el presente documento, significa un animal, preferiblemente un mamífero, y lo más preferiblemente un ser humano.

35 Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención pueden administrarse a seres humanos y otros animales por vía oral, por vía rectal, por vía parenteral, por vía intracisternal, por vía intravaginal, por vía intraperitoneal, de forma tópica (como mediante polvos, pomadas o gotas), por vía bucal, como pulverización oral o nasal, o similares, dependiendo de la intensidad de la infección que esté tratándose. En determinadas realizaciones, los compuestos de la invención pueden administrarse por vía oral o por vía parenteral a niveles de dosificación de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg o desde aproximadamente 1 mg/kg hasta aproximadamente 25 mg/kg, de peso corporal del sujeto al día, una o más veces a día, para obtener el efecto terapéutico deseado.

45 Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen, pero no se limitan a, emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados habitualmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfúrico, polietilenglicoles y ésteres de sorbitano de ácidos grasos, y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes.

55 Pueden formularse preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones inyectables estériles acuosas u oleaginosas según la técnica conocida usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico aceptable por vía parenteral, por ejemplo, como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran el agua, solución de Ringer, disolución isotónica de cloruro de sodio y según la U.S.P. Además, se emplean de manera convencional aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo insípido incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la

60

preparación de productos inyectables.

Pueden esterilizarse las formulaciones inyectables, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, esterilización terminal (con calor) o esterilización mediante radiación ionizante o mediante la incorporación de agentes de esterilización en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

Para prolongar el efecto de un compuesto de la presente invención, a menudo es deseable ralentizar la absorción del compuesto a partir de una inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con escasa solubilidad en agua. La tasa de absorción del compuesto depende entonces de su velocidad de disolución que puede depender, a su vez, del tamaño de cristal y forma cristalina. Alternativamente, se logra la absorción retardada de una forma de compuesto administrada por vía parenteral disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo de aceite. Se producen formas de depósito inyectables formando matrices microencapsuladas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la razón de compuesto con respecto a polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la tasa de liberación de compuesto. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan formulaciones de depósito inyectables atrapando el compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de esta invención con excipientes o portadores no irritantes adecuados tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera para supositorios que son sólidos a la temperatura ambiental pero líquidos a la temperatura corporal y, por tanto, se funden en el recto o la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, pastillas, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o portador inerte, farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o a) cargas o expansores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidinona, sacarosa y goma arábiga, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardantes de la disolución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita, y i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio, y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y pastillas, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponantes.

También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blanda y dura usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, pastillas y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también puede presentar una composición que libera el/los principio(s) activo(s) únicamente, o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen ceras y sustancias poliméricas. También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blanda y dura usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. En algunas realizaciones, una composición sólida es una cápsula de gelatina dura llena de líquido o una dispersión sólida.

Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes tal como se indicó anteriormente. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, pastillas y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de control de la liberación y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación también pueden comprender, como es práctica habitual, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes para la preparación de comprimidos y otros adyuvantes para la preparación de comprimidos tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y pastillas, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tamponantes. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden presentar una composición que libera el/los principio(s) activo(s) únicamente, o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen ceras y sustancias poliméricas.

Las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, disoluciones, pulverizaciones, inhalantes o parches. Se mezcla el

componente activo en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario según pueda requerirse. También se contempla que una formulación oftálmica, gotas óticas y colirios están dentro del alcance de esta invención. Adicionalmente, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja añadida de proporcionar la administración controlada de un compuesto al organismo. Tales formas de dosificación pueden producirse disolviendo o dispensando el compuesto en el medio apropiado. También pueden usarse potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. Puede controlarse la tasa o bien proporcionando una membrana de control de la tasa o bien dispersando el compuesto en un gel o una matriz de polímero.

Según otra realización, la invención se refiere a un método de inhibición de la actividad de al menos un mutante de EGFR (por ejemplo, una mutación de delección, una mutación activante, una mutación resistente, o una combinación de las mismas) en una muestra biológica que comprende la etapa de poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de esta invención, o una composición que comprende dicho compuesto. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método de inhibición irreversible de la actividad de al menos un mutante de EGFR (por ejemplo, una mutación de delección, una mutación activante, o una combinación de las mismas) en una muestra biológica que comprende la etapa de poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de esta invención, o una composición que comprende dicho compuesto.

En determinadas realizaciones, un compuesto proporcionado inhibe selectivamente en una muestra biológica (a) al menos una mutación activante, (b) T790M, y (c) inhibe poco a WT. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación de delección. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación puntual. En algunas realizaciones, una mutación activante es delE746-A750. En algunas realizaciones, una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, una mutación activante es G719S.

El término "muestra biológica", tal como se usa en el presente documento, incluye, sin limitación, cultivos celulares o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido de un mamífero o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas, u otros líquidos corporales o extractos de los mismos.

La inhibición de la actividad de al menos un mutante de EGFR (por ejemplo, una mutación de delección, una mutación activante, una mutación resistente, o una combinación de las mismas) en una muestra biológica es útil para una variedad de fines que conoce un experto en la técnica. Los ejemplos de tales fines incluyen, pero no se limitan a, transfusión sanguínea, trasplante de órganos, almacenamiento de muestras biológicas y ensayos biológicos.

Otra realización de la presente invención se refiere a un método de inhibición de la actividad de al menos un mutante de EGFR (por ejemplo, una mutación de delección, una mutación activante, una mutación resistente, o una combinación de las mismas) en un paciente que comprende la etapa de administrar a dicho paciente un compuesto de la presente invención, o una composición que comprende dicho compuesto. En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir (a) al menos una mutación activante, (b) T790M en un paciente, y (c) inhibe poco a WT, en el que dicho método comprende administrar al paciente un compuesto proporcionado, o una composición del mismo. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación de delección. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir al menos un mutante de EGFR en un paciente, en el que la al menos una mutación activante es una mutación puntual. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir al menos un mutante de EGFR en un paciente, en el que una mutación activante es delE746- A750. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir al menos un mutante de EGFR en un paciente, en el que una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir al menos un mutante de EGFR en un paciente, en el que una mutación activante es G719S.

Según otra realización, la invención se refiere a un método de inhibición de la actividad de al menos un mutante de EGFR (por ejemplo, una mutación de delección, una mutación activante, una mutación resistente, o una combinación de las mismas) en un paciente que comprende la etapa de administrar a dicho paciente un compuesto de la presente invención, o una composición que comprende dicho compuesto. Según determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método de inhibición irreversible de la actividad de al menos un mutante de EGFR (por ejemplo, una mutación de delección, una mutación activante, una mutación resistente, o una combinación de las mismas) en un paciente que comprende la etapa de administrar a dicho paciente un compuesto de la presente invención, o una composición que comprende dicho compuesto. En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir de manera irreversible (a) al menos una mutación activante y (b) T790M en un paciente, y (c) inhibe poco a WT, en el que dicho método comprende administrar al paciente un compuesto proporcionado, o una composición del mismo. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación de delección. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación puntual. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir de manera irreversible al menos un mutante de EGFR en un paciente, en el que una mutación activante es delE746-A750. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir de manera irreversible al menos un mutante de EGFR en un paciente, en el que una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para inhibir de manera irreversible al menos un mutante de EGFR en un paciente, en el que una mutación activante es G719S.

En otras realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar un trastorno mediado por uno o más de al menos un mutante de EGFR (por ejemplo, una mutación de delección, una mutación activante, una mutación resistente, o una combinación de las mismas) en un paciente que lo necesita, que comprende la etapa de administrar a dicho paciente un compuesto según la presente invención o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo. Tales trastornos se describen en detalle en el presente documento.

Dependiendo del estado o la enfermedad particular, que vaya a tratarse, también pueden estar presentes agentes terapéuticos adicionales, que se administran normalmente para tratar ese estado, en las composiciones de esta invención. Tal como se usa en el presente documento, los agentes terapéuticos adicionales que se administran normalmente para tratar una enfermedad o un estado particular, se conocen como "apropiados para la enfermedad o el estado, que esté tratándose".

Por ejemplo, se administran compuestos de la presente invención, o una composición farmacéuticamente aceptable de los mismos, en combinación con agentes quimioterápicos para tratar enfermedades proliferativas y cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterápicos conocidos incluyen, pero no se limitan a, adriamicina, dexametasona, vincristina, ciclofosfamida, fluorouracilo, topotecán, taxol, interferones, derivados del platino, taxano (por ejemplo, paclitaxel), alcaloides de la vinca (por ejemplo, vinblastina), antraciclinas (por ejemplo, doxorubicina), epipodofilotoxinas (por ejemplo, etopósido), cisplatino, un inhibidor de mTOR (por ejemplo, una rapamicina), metotrexato, actinomicina D, dolastatina 10, colchicina, emetina, trimetrexato, metoprina, ciclosporina, daunorubicina, tenipósido, anfotericina, agentes alquilantes (por ejemplo, clorambucilo), 5-fluorouracilo, camptotecina, cisplatino, metronidazol y Gleevec™, entre otros. En otras realizaciones, un compuesto de la presente invención se administra en combinación con un agente biológico, tal como Avastin o VECTIBIX.

En determinadas realizaciones, se administran compuestos de la presente invención, o una composición farmacéuticamente aceptable de los mismos, en combinación con un agente antiproliferativo o quimioterápico seleccionado de uno cualquiera o más de abarelix, aldesleucina, alemtuzumab, alitretinoína, alopurinol, altretamina, amifostina, anastrozol, trióxido de arsénico, asparaginasa, azacitidina, BCG Live, bevacuzimab, fluorouracilo, bexaroteno, bleomicina, bortezomib, busulfano, calusterona, capecitabina, camptotecina, carboplatino, carmustina, celecoxib, cetuximab, clorambucilo, cladribina, clofarabina, ciclofosfamida, citarabina, dactinomicina, darbepoetina alfa, daunorubicina, denileucina, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina (neutra), clorhidrato de doxorubicina, propionato de drostanolona, epirubicina, epoetina alfa, erlotinib, estramustina, fosfato de etopósido, etopósido, exemestano, filgrastim, floxuridina-fludarabina, fulvestrant, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab, acetato de gosereselina, acetato de histrelina, hidroxiaurea, ibritumomab, idarubicina, ifosfamida, mesilato de imatinib, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, irinotecán, lenalidomida, letrozol, leucovorina, acetato de leuprolida, levamisol, lomustina, acetato de megestrol, melfalán, mercaptopurina, 6-MP, mesna, metotrexato, metoxsalen, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, nandrolona, nelarabina, nofetumomab, oprelvekina, oxaliplatino, paclitaxel, palifermina, pamidronato, pegademasa, pegaspargasa, pegfilgrastim, pemetrexed disódico, pentostatina, pipobromán, plicamicina, porfímero sódico, procarbazona, quinacrina, rasburicasa, rituximab, sargramostim, sorafenib, estreptozocina, maleato de sunitinib, talco, tamoxifeno, temozolomida, tenipósido, VM-26, testolactona, tioguanina, 6-TG, tiotepa, topotecán, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, tretinoína, ATRA, mostaza de uracilo, valrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina, zoledronato o ácido zoledrónico.

Otros ejemplos de agentes con los que también pueden combinarse los inhibidores de esta invención incluyen, sin limitación: tratamientos para la enfermedad de Alzheimer tales como clorhidrato de donepezilo (Aricept®) y rivastigmina (Exelon®); tratamientos para la enfermedad de Parkinson tales como L-DOPA/carbidopa, entacapona, ropinrol, pramipexol, bromocriptina, pergolida, trihexefendilo y amantadina; agentes para tratar la esclerosis múltiple (EM) tal como interferón beta (por ejemplo, Avonex® y Rebif®), acetato de glatirámero (Copaxone®) y mitoxantrona; tratamientos para el asma tal como albuterol y montelukast (Singulair®); agentes para tratar la esquizofrenia tales como Zyprexa, risperdal, seroquel y haloperidol; agentes antiinflamatorios tales como corticosteroides, bloqueantes de TNF, IL-1 RA, azatioprina, ciclofosfamida y sulfasalazina; agentes inmunomoduladores e inmunosupresores tales como ciclosporina, tacrolímús, rapamicina, micofenolato mofetilo, interferones, corticosteroides, ciclofosfamida, azatioprina y sulfasalazina; factores neurotróficos tales como inhibidores de acetilcolinesterasa, inhibidores de MAO, interferones, anticonvulsivos, bloqueantes de canales iónicos, riluzol y agentes antiparkinsonianos; agentes para tratar enfermedad cardiovascular tales como beta-bloqueantes, inhibidores de ECA, diuréticos, nitratos, bloqueantes de canales de calcio y estatinas; agentes para tratar enfermedad hepática tales como corticosteroides, colestiramina, interferones y agentes antivirales; agentes para tratar trastornos sanguíneos tales como corticosteroides, agentes antileucémicos y factores de crecimiento; y agentes para tratar trastornos de inmunodeficiencia tales como gamma-globulina.

En determinadas realizaciones, se administran compuestos de la presente invención, o una composición farmacéuticamente aceptable de los mismos, en combinación con un anticuerpo monoclonal o un agente terapéutico de ARNip.

Esos agentes adicionales pueden administrarse por separado de una composición que contiene compuesto de la invención, como parte de un régimen de dosificación múltiple. Alternativamente, esos agentes pueden formar parte de una única forma de dosificación, mezclarse junto con un compuesto de esta invención en una única composición. Si se administran como parte de un régimen de dosificación múltiple, los dos principios activos pueden suministrarse

simultáneamente, de manera secuencial o dentro de un periodo de tiempo entre sí normalmente en el plazo de cinco horas entre sí.

Tal como se usa en el presente documento, el término "combinación", "combinado", y términos relacionados se refieren a la administración simultánea o secuencial de agentes terapéuticos según esta invención. Por ejemplo, un compuesto de la presente invención puede administrarse con otro agente terapéutico simultáneamente o de manera secuencial en formas de dosificación unitarias independientes o juntos en una única forma de dosificación unitaria. Por consiguiente, la presente invención proporciona una única forma de dosificación unitaria que comprende un compuesto proporcionado, un agente terapéutico adicional, y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.

La cantidad de ambos, un compuesto de la invención y agente terapéutico adicional (en aquellas composiciones que comprenden un agente terapéutico adicional tal como se describió anteriormente) que puede combinarse con los materiales portadores para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del huésped tratado y el modo de administración particular. Preferiblemente, las composiciones de esta invención deben formularse de modo que pueda administrarse una dosificación de entre 0,01 - 100 mg/kg de peso corporal/día de un compuesto de la invención.

En aquellas composiciones que comprenden un agente terapéutico adicional, ese agente terapéutico adicional y el compuesto de esta invención pueden actuar de manera sinérgica. Por tanto, la cantidad del agente terapéutico adicional en tales composiciones será menor de la requerida en una monoterapia que utiliza solo ese agente terapéutico. En tales composiciones puede administrarse una dosificación de entre 0,01 - 1.000 µg/kg de peso corporal/día del agente terapéutico adicional.

La cantidad de agente terapéutico adicional presente en las composiciones de esta invención no será mayor que la cantidad que se administraría normalmente en una composición que comprende ese agente terapéutico como único principio activo. Preferiblemente, la cantidad de agente terapéutico adicional en las composiciones dadas a conocer actualmente oscilará entre aproximadamente el 50% y el 100% de la cantidad normalmente presente en una composición que comprende ese agente como único agente terapéuticamente activo.

Los compuestos de esta invención, o composiciones farmacéuticas de los mismos, también pueden incorporarse en composiciones para recubrir un dispositivo médico implantable, tal como prótesis, válvulas artificiales, injertos vasculares, endoprótesis y catéteres. Se han usado endoprótesis vasculares, por ejemplo, para superar una reestenosis (nuevo estrechamiento de la pared del vaso después de una lesión). Sin embargo, los pacientes que usan endoprótesis u otros dispositivos implantables corren el riesgo de presentar la formación de coágulos o activación plaquetaria. Estos efectos no deseados pueden prevenirse o mitigarse mediante el recubrimiento previo del dispositivo con una composición farmacéuticamente aceptable que comprende un inhibidor de cinasa. Los dispositivos implantables recubiertos con un compuesto de esta invención son otra realización de la presente invención.

### **Ejemplos**

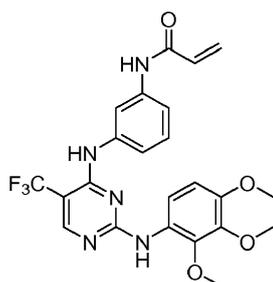
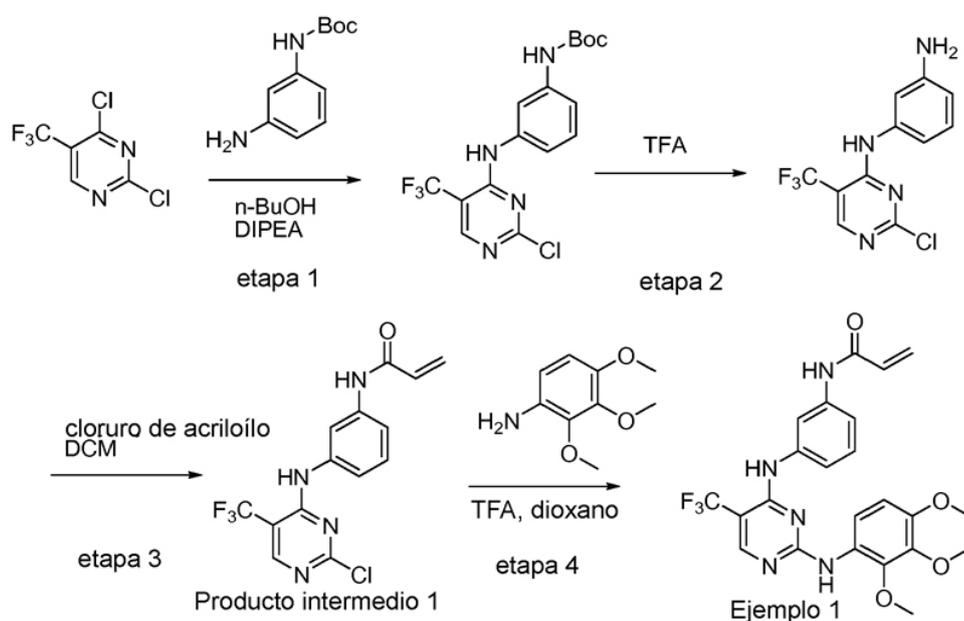
Tal como se representa en los ejemplos a continuación, en determinadas realizaciones a modo de ejemplo, se preparan compuestos según los siguientes procedimientos generales. Se apreciará que, aunque los métodos generales representan la síntesis de determinados compuestos de la presente invención, pueden aplicarse los siguientes métodos generales, y otros métodos que conoce un experto habitual en la técnica, a todos los compuestos y subclases y especies de cada uno de estos compuestos, tal como se describe en el presente documento.

Los números de compuesto utilizados en los ejemplos a continuación corresponden a los números de compuesto expuestos en la tabla 1, anteriormente.

Los compuestos proporcionados se preparan según métodos que conoce un experto habitual en la técnica e incluyen métodos descritos en detalle en el documento US 2010029610, publicado el 4 de febrero de 2010, cuya totalidad se incorpora al presente documento como referencia.

#### EJEMPLO 1

Compuesto 1-11, N-(3-(5-(trifluorometil)-2-(2,3,4-trimetoxifenilamino)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida

Esquema 1Etapa 1:

- 5 En un matraz de fondo redondo de 3 bocas, de 25 ml equipado previamente con un agitador magnético, Thermo pocket y tubo de protección con  $\text{CaCl}_2$ , se cargaron NBoc-1,3-diaminobenceno (0,96 g) y n-butanol (9,00 ml). Se enfrió la mezcla de reacción hasta  $0^\circ\text{C}$ . Se añadió gota a gota 2,4-dicloro-5-trifluorometilpirimidina (1,0 g) a la mezcla de reacción anterior a  $0^\circ\text{C}$ . Se añadió gota a gota DIPEA (0,96 ml) a la mezcla de reacción anterior a  $0^\circ\text{C}$  y se agitó la mezcla de reacción durante 1 h a  $0^\circ\text{C}$  hasta  $5^\circ\text{C}$ . Finalmente, se permitió que se calentase la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción durante otras 4 h a temperatura ambiente. Se monitorizó que se completase la reacción mediante CCF usando hexano:acetato de etilo (7:3). Se retiró por filtración el sólido precipitado y se lavó con 1-butanol (2 ml). Se secó el sólido a presión reducida a  $40^\circ\text{C}$  durante 1 h.  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  1,48 (s, 9 H), 7,02 (m, 1 H), 7,26 (m, 2 H), 7,58 (s, 1 H), 8,57 (s, 1 H), 9,48 (s, 1 H), 9,55 (s, 1 H).

Etapa 2:

Al producto en bruto anterior (3,1 g) en DCM (25 ml) se le añadió TFA (12,4 ml) lentamente a  $0^\circ\text{C}$ . Se permitió que se calentase la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción durante otros 10 min a temperatura ambiente. Se concentró el producto en bruto a presión reducida.

Etapa 3:

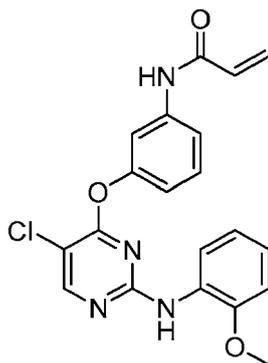
- 20 Se disolvió el producto en bruto concentrado en DIPEA (2,0 ml) y DCM (25 ml), y se enfrió hasta  $-30^\circ\text{C}$ . A la mezcla de reacción se le añadió lentamente cloruro de acrililo (0,76 g) a  $-30^\circ\text{C}$ . Se calentó la masa de reacción hasta temperatura ambiente con agitación a temperatura ambiente durante 1,0 h. Se monitorizó la reacción en CCF usando hexano:acetato de etilo (7:3) como fase móvil. La reacción llegó a completarse después de 1 h.  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  5,76 (dd,  $J = 2,0, 10,0$  Hz, 1 H), 6,24 (dd,  $J = 2,0, 17,2$  Hz, 1 H), 6,48 (m, 1 H), 7,14 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1 H), 7,37 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1 H), 7,94 (s, 1 H), 8,59 (s, 1 H), 9,60 (s, 1 H), 10,26 (s, 1 H).

Etapa 4:

5 Para obtener el ejemplo 1, se agitó una mezcla del producto intermedio 1 (16 mg) y 2,3,4-trimetoxianilina (20 ul) en dioxano (1,0 ml) con ácido trifluoroacético en cantidades catalíticas durante la noche a 50°C. Se concentró el producto en bruto a presión reducida y se purificó usando HPLC (modificador de TFA) para dar el compuesto del título (17 mg) como sal de TFA. <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 10,2 (S, 1 H), 8,94 (a, 1 H), 8,52 (a, 1 H), 8,34 (S, 1 H), 7,78 (S, 1 H), 7,49 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,29 (m, 2 H), 7,14 (a, 1 H), 6,43 (dd, J = 10,1, 16,8 Hz, 1 H) 6,24 (dd, J = 1,8, 16,8 Hz, 1 H), 5,75 (dd, J = 1,8, 10,1 Hz, 1 H), 3,74 (S, 3 H), 3,71 (S, 3 H), 3,70 (S, 3 H); masa calculada para C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>: 489,2, hallada: 490,0 (M+H<sup>+</sup>).

#### EJEMPLO 2

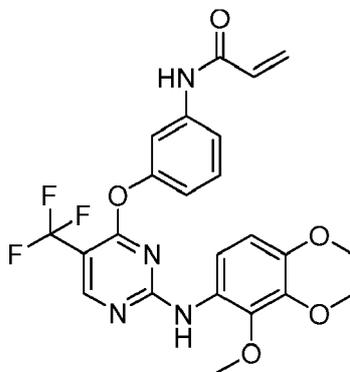
Compuesto I-12, N-(3-(5-cloro-2-(2-metoxifenilamino)pirimidin-4-iloxi)fenil)acrilamida



10 Se preparó el compuesto I-12 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4,5-tricloropirimidina en la etapa 1 y 2-metoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: 396,1, hallada: 397,0 (M+H<sup>+</sup>).

#### EJEMPLO 3

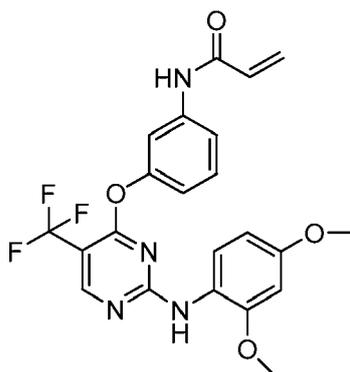
15 Compuesto I-10, N-(3-(5-(trifluorometil)-2-(2,3,4-trimetoxifenilamino)pirimidin-4-iloxi)fenil)acrilamida



20 Se preparó el compuesto I-10 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4-dicloro-5-trifluorometilpirimidina en la etapa 1 y 2,3,4-trimetoxianilina en la etapa 4. <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 10,32 (S, 1 H), 9,08 (S, 1 H), 8,58 (S, 1 H), 7,65 (S, 1 H), 7,52 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,4 (t, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,03 (m, 1 H), 6,97 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 6,43 (dd, J = 10,0, 16,8 Hz, 1 H), 6,27 (dd, J = 2,0, 16,8 Hz, 1 H), 5,78 (dd, J = 2,0, 10,0 Hz, 1 H), 3,74 (S, 3 H), 3,71 (S, 3 H), 3,70 (S, 3 H); masa calculada para C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>: 490,1, hallada: 491,5 (M+H<sup>+</sup>).

#### EJEMPLO 4

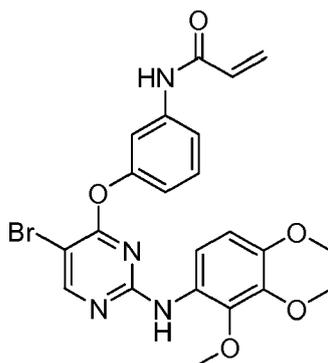
Compuesto I-9, N-(3-(2-(2,4-dimetoxifenilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-4-iloxi)fenil)acrilamida



5 Se preparó el compuesto I-9 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4-dicloro-5-trifluorometilpirimidina en la etapa 1 y 2,4-dimetoxianilina en la etapa 4.  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  10,3 (S, 1 H), 8,92 (S, 1 H), 8,55 (a, 1 H), 7,64 (S, 1 H), 7,54 (d, J = 7,2 Hz, 1 H), 7,41 (a, 1 H), 7,20 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 6,96 (a, 1 H), 6,54 (a, 1 H), 6,43 (dd, J = 10,0, 17,2 Hz, 1 H), 6,27 (dd, J = 2,0, 17,2 Hz, 1 H), 5,79 (dd, J = 2,0, 10,0 Hz, 1 H), 3,71 (S, 6 H); masa calculada para  $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_4$ : 460,1, hallada: 461,4 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

#### EJEMPLO 5

Compuesto I-8, N-(3-(5-bromo-2-(2,3,4-trimetoxifenilamino)pirimidin-4-iloxy)fenil)acrilamida)

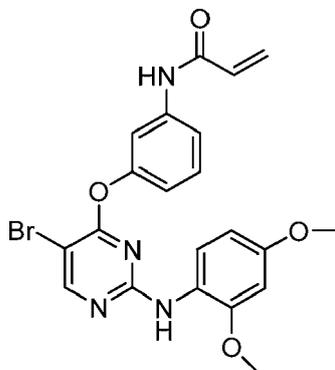


10 Se preparó el compuesto I-8 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4-dicloro-5-bromopirimidina en la etapa 1 y 2,3,4-trimetoxianilina en la etapa 4.  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  10,34 (S, 1 H), 8,45 (S, 1 H), 8,42 (S, 1 H), 7,63 (S, 1 H), 7,55 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,42 (t, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,09 (d, J = 9,2 Hz, 1 H), 6,98 (dd, J = 1,2, 7,6 Hz, 1 H), 6,40-6,47 (m, 2 H), 6,26 (dd, J = 2,0, 17,2 Hz, 1 H), 5,78 (dd, J = 2,0, 10,0 Hz, 1 H), 3,72 (S, 3 H), 3,71 (s, 3 H), 3,70 (S, 3 H); masa calculada para  $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{BrN}_4\text{O}_5$ : 500,1, hallada: 501,2 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

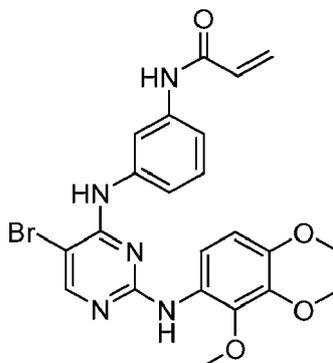
15

#### EJEMPLO 6

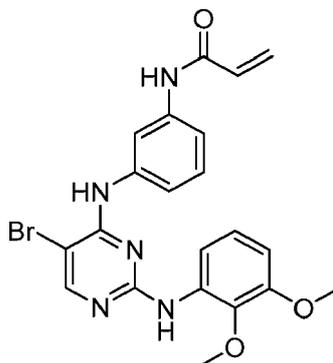
Compuesto I-13, N-(3-(5-bromo-2-(2,4-dimetoxifenilamino)pirimidin-4-iloxy)fenil)acrilamida)



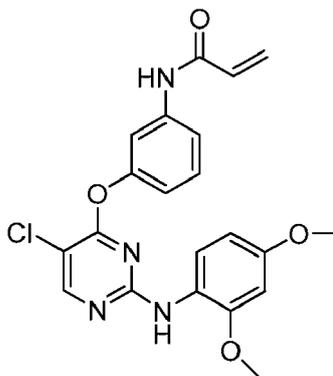
20 Se preparó el compuesto I-13 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4-dicloro-5-bromopirimidina en la etapa 1 y 2,4-dimetoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{BrN}_4\text{O}_4$ : 470,1, hallada: 471,2 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

EJEMPLO 7Compuesto I-5, N-(3-(5-bromo-2-(2,3,4-trimetoxifenilamino)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida)

5 Se preparó el compuesto I-5 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-1,3-diaminobenceno y 2,4-dicloro-5-bromopirimidina en la etapa 1 y 2,3,4-trimetoxianilina en la etapa 4. <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 10,15 (S, 1 H), 8,63 (S, 1 H), 8,17 (S, 1 H), 7,94 (S, 1 H), 7,89 (S, 1 H), 7,52 (d, J = 9,2 Hz, 1 H), 7,43 (m, 1 H), 7,24 (m, 2 H), 6,51 (m, 1 H), 6,44 (dd, J = 10,0, 17,2 Hz, 1 H), 6,26 (dd, J = 2,0, 17,2 Hz, 1 H), 5,76 (dd, J = 2,0, 10,0 Hz, 1 H), 3,77 (S, 3 H), 3,73 (S, 3 H), 3,72 (S, 3 H); masa calculada para C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>4</sub>: 499,1, hallada: 500,1 (M+H<sup>+</sup>).

10 EJEMPLO 8Compuesto I-14, N-(3-(5-bromo-2-(2,3-dimetoxifenilamino)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida)

15 Se preparó el compuesto I-14 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-1,3-diaminobenceno y 2,4-dicloro-5-bromopirimidina en la etapa 1 y 2,3-dimetoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: 469,1, hallada: 470,3 (M+H<sup>+</sup>).

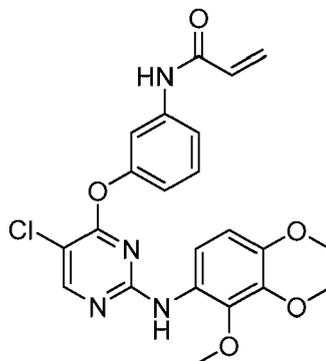
EJEMPLO 9Compuesto I-15, N N-(3-(5-cloro-2-(2,4-dimetoxifenilamino)pirimidin-4-iloxi)fenil)acrilamida)

20 Se preparó el compuesto I-15 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4,5-tricloropirimidina en la etapa 1 y 2,4-dimetoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para

$C_{21}H_{19}ClN_4O_4$ : 426,1, hallada: 427,3 ( $M+H^+$ ).

#### EJEMPLO 10

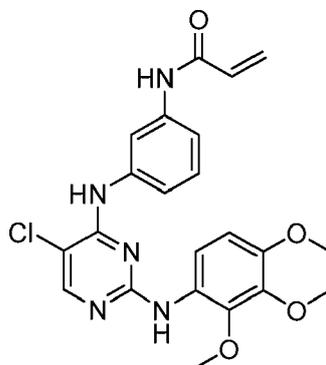
Compuesto 1-7, N-(3-(5-cloro-2-(2,3,4-trimetoxifenilamino)pirimidin-4-iloxi)fenil)acrilamida



- 5 Se preparó el compuesto I-7 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4,5-tricloropirimidina en la etapa 1 y 2,3,4-trimetoxianilina en la etapa 4.  $^1H$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  10,36 (s, 1 H), 8,44 (s, 1 H), 8,40 (s, 1 H), 7,65 (1H, s), 7,55 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,43 (t, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,09 (d, J = 9,2 Hz, 1 H), 6,99 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 6,43-6,47 (m, 2 H), 6,27 (dd, J = 2,0, 16,8 Hz, 1 H), 5,79 (dd, J = 2,0, 11,6 Hz, 1 H), 3,71 (s, 3 H), 3,70 (s, 3 H), 3,69 (s, 3 H); masa calculada para  $C_{22}H_{21}ClN_4O_5$ : 456,1, hallada: 457,3 ( $M+H^+$ ).

#### EJEMPLO 11

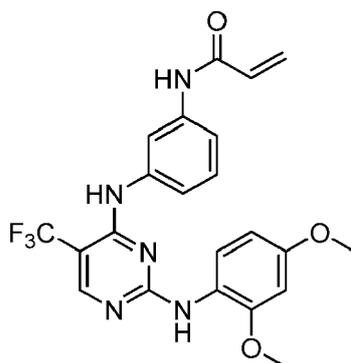
Compuesto 1-4, N-(3-(5-cloro-2-(2,3,4-trimetoxifenilamino)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida



- 15 Se preparó el compuesto I-4 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-1,3-diaminobenceno y 2,4,5-tricloropirimidina en la etapa 1 y 2,3,4-trimetoxianilina en la etapa 4.  $^1H$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  10,16 (s, 1 H), 8,9 (s, 1 H), 8,1 (s, 1 H), 8,0 (s, 1 H), 7,9 (s, 1 H), 7,49 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,37 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,22-7,29 (m, 2 H), 6,45-6,55 (m, 2 H), 6,26 (dd, J = 1,7, 17,0 Hz, 1 H), 5,75 (dd, J = 1,7, 9,6 Hz, 1 H), 3,72 (s, 3 H), 3,68 (s, 3 H), 3,67 (s, 3 H); masa calculada para  $C_{22}H_{22}ClN_5O_4$ : 455,1, hallada: 456,3 ( $M+H^+$ ).

#### EJEMPLO 12

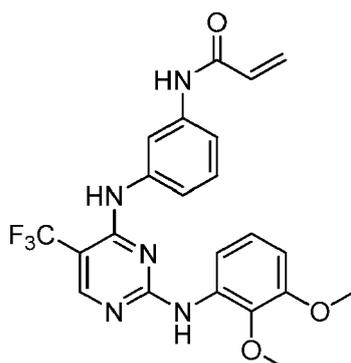
- 20 Compuesto I-3, N-(3-(2-(2,4-dimetoxifenilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida



5 Se preparó el compuesto I-3 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-1,3-diaminobenceno y 2,4-dicloro-5-trifluorometilpirimidina en la etapa 1 y 2,4-dimetoxianilina en la etapa 4. <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 10,2 (S, 1 H), 9,11 (a, 1 H), 8,62 (a, 1 H), 8,34 (a, 1 H), 7,78 (S, 1 H), 7,46 (dd, J = 7,8, 16,5 Hz, 2 H), 7,28 (t, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,14 (a, 1 H), 6,57 (d, J = 1,8 Hz, 1 H), 6,43 (dd, J = 10,1, 16,9 Hz, 1 H), 6,24 (dd, J = 1,8, 16,9 Hz, 1 H), 5,74 (dd, J = 1,8, 10,1, 1 H), 3,76 (S, 3 H), 3,70 (S, 3 H); masa calculada para C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: 459,2, hallada: 460,2 (M+H<sup>+</sup>).

#### EJEMPLO 13

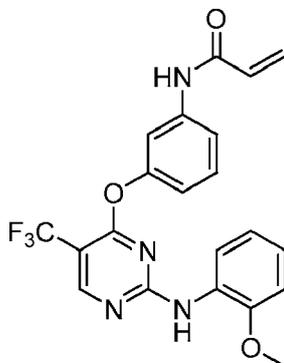
Compuesto I-16, N-(3-(2-(2,3-dimetoxifenilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida



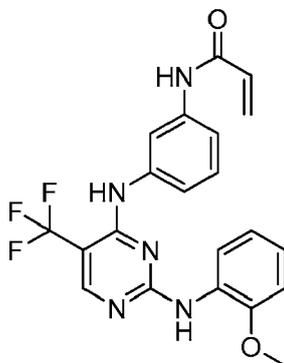
10 Se preparó el compuesto I-16 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-1,3-diaminobenceno y 2,4-dicloro-5-trifluorometilpirimidina en la etapa 1 y 2,3-dimetoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: 459,2, hallada: 460,2 (M+H<sup>+</sup>).

#### EJEMPLO 14

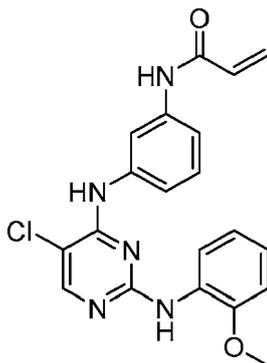
15 Compuesto I-2, N-(3-(2-(2-metoxifenilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-4-iloxi)fenil)acrilamida



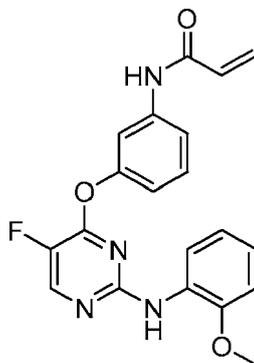
20 Se preparó el compuesto I-2 mediante una ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4-dicloro-5-trifluorometilpirimidina en la etapa 1 y 2-metoxianilina en la etapa 4. <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 10,3 (S, 1 H), 8,87 (S, 1 H), 8,62 (S, 1 H), 7,67 (t, J = 2,3 Hz, 1 H), 7,50 (d, J = 9,2 Hz, 1 H), 7,41 (t, J = 8,3 Hz, 2 H), 7,02 (m, 1 H), 6,97 (t, J = 7,3 Hz, 1 H), 6,65 (a, 1 H), 6,41 (dd, J = 10,1, 17,0 Hz, 1 H), 6,25 (dd, J = 2,3, 17,0 Hz, 1 H), 5,77 (dd, J = 2,3, 10,1 Hz, 1 H), 3,74 (S, 3 H); masa calculada para C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: 430,1, hallada: 431,1 (M+H<sup>+</sup>).

**EJEMPLO 15**Compuesto I-1, N-(3-(2-(2-metoxifenilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida)

- 5 Se preparó el compuesto I-1 mediante ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-1,3-diaminobenceno y 2,4-dicloro-5-trifluorometilpirimidina en la etapa 1 y 2-metoxianilina en la etapa 4. <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 10,2 (S, 1 H), 9,1 (S, 1 H), 8,41 (S, 1 H), 8,38 (S, 1 H), 7,8 (S, 1 H), 7,7 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,5 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,3 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,1 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 6,97 (S, 2 H), 6,62 (a, 1 H), 6,41 (dd, J = 10,1, 17,0 Hz, 1 H), 6,24 (d, J = 17,0 Hz, 1 H), 5,74 (d, J = 10,1 Hz, 1 H), 3,79 (S, 3 H); masa calculada para C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>: 429,1, hallada: 430,0 (M+H<sup>+</sup>).

**10 EJEMPLO 16**Compuesto I-18, N-(3-(5-cloro-2-(2-metoxifenilamino)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida)

- 15 Se preparó el compuesto I-18 mediante ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-1,3-diaminobenceno y 2,4,5-tricloropirimidina en la etapa 1 y 2-metoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>2</sub>: 395,1, hallada: 396,1 (M+H<sup>+</sup>).

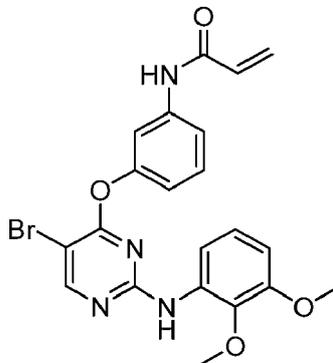
**EJEMPLO 17**Compuesto I-19, N-(3-(5-fluoro-2-(2-metoxifenilamino)pirimidin-4-iloxi)fenil)acrilamida)

- 20 Se preparó el compuesto I-19 mediante ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4-dicloro-5-fluoropirimidina en la etapa 1 y 2-metoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para

$C_{20}H_{17}FN_4O_3$ : 380,1, hallada: 381,4 ( $M+H^+$ ).

#### EJEMPLO 18

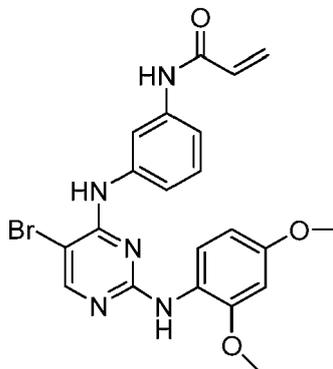
Compuesto I-6, N-(3-(5-bromo-2-(2,3-dimetoxifenilamino)pirimidin-4-iloxi)fenil)acrilamida



- 5 Se preparó el compuesto I-6 mediante ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4-dicloro-5-bromopirimidina en la etapa 1 y 2,3-dimetoxianilina en la etapa 4.  $^1H$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  10,35 (s, 1 H), 8,53 (s, 1 H), 8,35 (s, 1 H), 7,69 (s, 1 H), 7,55 (m, 1 H), 7,46 (m, 1 H), 7,11 (dd, J = 6,4 Hz, 1 H), 6,96 (d, J = 7,2 Hz, 1 H), 6,64 (m, 2 H), 6,43 (dd, J = 10,0, 17,0 Hz, 1 H), 6,26 (dd, J = 2,0, 17,0 Hz, 1 H), 5,77 (dd, J = 2,0, 10,0 Hz, 1 H), 3,71 (s, 3 H), 3,65 (s, 3 H); masa calculada para  $C_{21}H_{19}BrN_4O_4$ : 470,1, hallada: 471,3 ( $M+H^+$ ).

#### 10 EJEMPLO 19

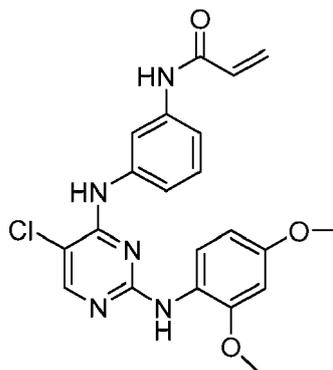
Compuesto I-20, N-(3-(5-bromo-2-(2,4-dimetoxifenilamino)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida



- 15 Se preparó el compuesto I-20 mediante ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-1,3-diaminobenceno y 2,4-dicloropirimidina en la etapa 1 y 2,4-dimetoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para  $C_{21}H_{20}BrN_5O_3$ : 469,1, hallada: 469,9 ( $M+H^+$ ).

#### EJEMPLO 20

Compuesto I-21, N-(3-(5-cloro-2-(2,4-dimetoxifenilamino)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida

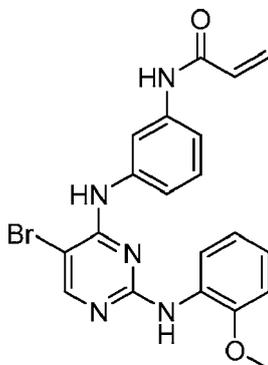


Se preparó el compuesto I-21 mediante ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-1,3-

diaminobenceno y 2,4,5-tricloropirimidina en la etapa 1 y 2,4-dimetoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para  $C_{21}H_{20}ClN_5O_3$ : 425,1, hallada: 426,3 ( $M+H^+$ ).

#### EJEMPLO 21

Compuesto I-22, N-(3-(5-bromo-2-(2-metoxifenilamino)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida)

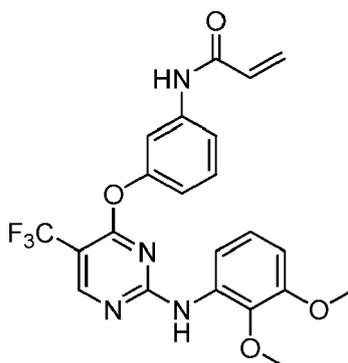


5

Se preparó el compuesto I-22 mediante ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-1,3-diaminobenceno y 2,4-dicloro-5-bromopirimidina en la etapa 1 y 2-metoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para  $C_{20}H_{18}BrN_5O_2$ : 439,1, hallada: 440,1 ( $M+H^+$ ).

#### EJEMPLO 22

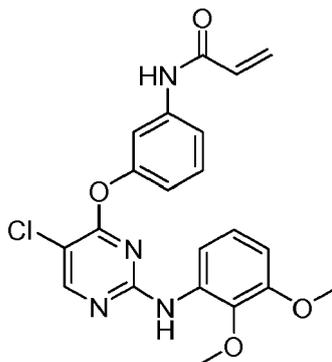
10 Compuesto I-23, N-(3-(2-(2,3-dimetoxifenilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-4-iloxi)fenil)acrilamida)



Se preparó el compuesto I-23 mediante ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4-dicloro-5-trifluorometilpirimidina en la etapa 1 y 2,3-dimetoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para  $C_{22}H_{19}F_3N_4O_4$ : 460,1, hallada: 461,1 ( $M+H^+$ ).

15 EJEMPLO 23

Compuesto I-17, N-(3-(5-cloro-2-(2,3-dimetoxifenilamino)pirimidin-4-iloxi)fenil)acrilamida)



20 Se preparó el compuesto I-17 mediante ruta similar tal como se describe en el ejemplo 1 usando N-Boc-3-aminofenol y 2,4,5-tricloropirimidina en la etapa 1 y 2,3-dimetoxianilina en la etapa 4. Masa calculada para  $C_{21}H_{19}ClN_4O_4$ : 426,9, hallada: 427,3 ( $M+H^+$ ).

Ejemplos biológicos

Se describen a continuación ensayos usados para medir la actividad biológica de los compuestos proporcionados como inhibidores selectivos de EGFR mutante en comparación con EGFR WT (y otras proteína cinasas).

EJEMPLO 245 Protocolo de ensayo Omnia para la evaluación de potencia frente a EGFR (WT) y enzimas activas de EGFR (T790M/L858R)

A continuación se describe el protocolo de ensayo bioquímico usando EGFR-WT y EGFR-T790M/L858R.

10 La mecánica de la plataforma de ensayo se describe de la mejor manera por el proveedor (Invitrogen, Carlsbad, CA) en su sitio web en la siguiente URL: [www.invitrogen.com/content.cfm?pageid=11338](http://www.invitrogen.com/content.cfm?pageid=11338) o [www.invitrogen.com/site/us/en/home/Products-and-Services/Applications/Drug-Discovery/Target-and-Lead-Identification-and-Validation/KinaseBiology/KB-Misc/Biochemical-Assays/Omnia-Kinase-Assays.html](http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/Products-and-Services/Applications/Drug-Discovery/Target-and-Lead-Identification-and-Validation/KinaseBiology/KB-Misc/Biochemical-Assays/Omnia-Kinase-Assays.html).

15 En resumen, se prepararon disoluciones madre 10X de EGFR-WT (PV3872) de Invitrogen y EGFR-T790M/L858R (40350) de BPS Bioscience, San Diego, CA, ATP 1,13X (AS001A) y sustratos peptídicos conjugados de Tyr-Sox apropiados (KCZ1001) en tampón de reacción de cinasa 1X que consistía en Tris 20 mM, pH 7,5, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, EGTA 1 mM, β-glicerofosfato 5 mM, glicerol al 5% (disolución madre 10X, KB002A) y DTT 0,2 mM (DS001A). Se preincubaron 5 μl de cada enzima en una placa de microtitulación de superficie sin unión, blanca de 384 pocillos de Corning (#3574) (Corning, NY) durante 30 min a 25°C con un volumen de 0,5 μl de DMSO al 50% y compuestos diluidos en serie preparados en DMSO al 50%. Se iniciaron las reacciones de cinasa con la adición de 45 μl de la mezcla de sustratos peptídicos de ATP/Tyr-Sox y se monitorizaron cada 71 segundos durante 60 minutos a

20  $\lambda_{ex}360/\lambda_{em}485$  en un lector de placas Synergy<sup>4</sup> de BioTek (Winooski, VT). A la conclusión de cada ensayo, se examinaron curvas de progreso para cada pocillo para determinar la cinética de reacción lineal y la estadística de ajuste (R<sup>2</sup>, intervalo de confianza del 95%, suma absoluta de cuadrados). Se determinó la velocidad inicial (de 0 minutos a ~30 minutos) de cada reacción a partir de la pendiente de una representación gráfica de las unidades relativas de fluorescencia frente al tiempo (minutos) y luego se representó gráficamente frente a la concentración de

25 inhibidor para estimar la Cl<sub>50</sub> a partir de un modelo de pendiente variable de log[inhibidor] frente a la respuesta, en GraphPad Prism del software GraphPad (San Diego, CA).

[EGFR-WT] = 5 nM, [ATP] = 15 μM, [Y12-Sox] = 5 μM (ATP K<sub>Map</sub> ~ 12 μM); y [EGFR-T790M/L858R] = 2,5 nM, [ATP] = 20 μM, [Y12-Sox] = 5 μM (ATP K<sub>Map</sub> ~ 20 μM).

30 La tabla 3 muestra la actividad de compuestos seleccionados de esta invención en el ensayo de inhibición de EGFR descrito anteriormente. La tabla 3 muestra datos de EGFR mutante en comparación con EGFR WT y proporciona la razón de selectividad de WT con respecto a mutante para cada compuesto de prueba. Los números de compuesto corresponden a los números de compuesto en la tabla 1.

Tabla 3. Datos de inhibición bioquímica de EGFR (mutante y silvestre)

N.º de compuesto	EGFR WT Cl <sub>50</sub> (nM)	EGFR (T790M/L858R) Cl <sub>50</sub> (nM)	Razón WT/mutante
I-1	100-300	1-10	>50
I-2	100-300	1-10	>50
I-3	10-30	<1	>40
I-4	30-100	1-10	>30
I-5	30-100	<1	>45
I-6	300-1000	10-30	>45
I-7	10-30	1-10	>25
I-8	30-100	<1	>50
I-9	100-300	1-10	>50
I-10	30-100	<1	>50
I-11	10-30	<1	>25
I-12	300-1000	<1	>50
I-13	30-100	1-10	>25
I-14	300-1000	1-10	>50
I-15	100-300	1-10	>50
I-16	100-300	1-10	>50
I-17	300-1000	10-100	>35
I-18	300-1000	10-30	>30
I-19	100-300	10-30	>10
I-20	30-100	1-10	>45

I-21	100-300	1-10	>50
I-22	100-300	1-10	>50
I-23	>1000	10-30	>50

EJEMPLO 25

Cultivo celular y anticuerpos

5 Se obtuvieron células de carcinoma epidermoide humano A431, adenocarcinoma de NSCLC humano H1975 y de NSCLC humano HCC827 del Centro Americano de Cultivos Tipo (Manassas, VA). Se hicieron crecer las células A431 en DMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA) complementado con FBS al 10% (HyClone, South Logan, UT) y penicilina-estreptomicina al 1% (P/S, Lonza, Walquersville, MD). Se hicieron crecer las células H1975 y HCC827 en RPMI 1640 completo (Invitrogen) complementado con FBS al 10% y P/S al 1%. Se mantuvieron todas las células y se propagaron como cultivos en monocapa a 37°C en un incubador con el 5% de CO<sub>2</sub> humidificado.

10 Se obtuvieron todos los anticuerpos primarios de Cell Signaling (Danvers, MA) y se usaron a 1:1000. Se usaron los anticuerpos secundarios a 1:10.000. Se obtuvo el anticuerpo IRDye 800CW de IgG de cabra anti-ratón de LiCor Biosciences (Lincoln, NE) y se obtuvo Alexa Fluor 680 de IgG de cabra anti-conejo de Invitrogen.

Inmunotransferencia

15 Se hicieron crecer las células en placas de 12 pocillos (Corning, Coring, NY) hasta el 90% de confluencia y luego se incubaron en medios con bajo contenido de suero (FBS al 0,1%) durante 16-18 h. Luego se trataron las células con compuesto de prueba 5, 1,25, 0,31, 0,078, 0,020 o 0,005 µM en medios con bajo contenido de suero (FBS al 0,1%) durante 1 h. Entonces se estimularon las células A431 con EGF 50 ng/ml (Peprotech, Rocky Hill, NJ) durante 15 min. Después del tratamiento, se lavaron las monocapas celulares con PBS frío (Invitrogen) y se lisaron inmediatamente mediante rascado en 60 ul de tampón de extracción celular frío (Invitrogen) complementado con inhibidores de proteasas completos (Roche, Indianápolis, IN) e inhibidores de fosfatasa PhosphoSTOP (Roche).

20 Se determinaron las concentraciones proteicas del lisado mediante ensayo de BCA (Pierce, Rockford, IL) y se separaron 50 ug de cada lisado mediante SDS-PAGE en gradiente al 4-12% (Invitrogen), se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa (Biorad, Hercules, CA) y se examinaron con sonda con anticuerpos específicos. Se cuantificaron las señales de fosfo-proteína usando la obtención de imágenes por infrarrojos Odyssey (Li-Cor Biosciences).

25 Para evaluar la señalización de fosfo-EGFR, se examinaron con sonda transferencias con anticuerpos anti-fosfo-EGFR de conejo (Y1068) y anti-EGFR total de ratón. Se normalizó la señal de fosfo-EGFR con respecto a la expresión de EGFR total para cada muestra. Para evaluar la señalización de fosfo-proteína ribosómica S6, se examinaron con sonda transferencias con anticuerpo anti-fosfo-proteína ribosómica S6 de ratón y anti-proteína ribosómica S6 total de conejo. Se normalizaron las transferencias tal como se indicó anteriormente. Se indican los resultados como % del control de DMSO. Se ajustaron los datos normalizados usando un programa de análisis de curva sigmoidea (Graph Pad Prism versión 5) con pendiente de Hill variable para determinar los valores de CE<sub>50</sub>.

30 Los resultados de este experimento se representan en la figura 1 y la figura 2 y la tabla 4, en las que se muestra que los compuestos de prueba I-3 e I-7 son selectivos de mutante inhibiendo solo pEGFR y su diana posterior, la proteína ribosómica S6 en células H1975, mientras que no afecta en absoluto a WT-EGFR en células A431.

35 La tabla 4 muestra datos de EGFR mutante en células H1975 (doble mutación L858R/T790M) y HCC827 (delE746-A750 mutación) en comparación con EGFR WT (A431 células). Los números de compuesto citados en la tabla 4 corresponden a los números de compuesto en la tabla 1.

Tabla 4. Señalización de EGFR (mutante y silvestre) (1 h)

N.º de compuesto	EGFR WT CE <sub>50</sub> (nM)	H1975 CE <sub>50</sub> (nM)	Razón WT/mutante	HCC827 CE <sub>50</sub> (nM)	Razón WT/mutante
I-1	>1000	10-100	>50	10-100	>50
I-2	>1000	10-100	>50	<10	>50
I-3	>1000	10-100	>50	10-100	>50
I-4	>1000	100-500	>20	-	-
I-5	>1000	10-100	>50	-	-
I-6	-	10-100	-	-	-
I-7	>1000	10-100	>50	-	-
I-8	>1000	100-500	>5	500-1000	>1
I-9	>1000	10-100	>50	-	-
I-10	>1000	10-100	>50	-	-
I-11	>1000	10-100	>50	100-500	>5
I-13	>1000	100-500	>20	-	-

I-14	-	-	-	-	-
I-15	>1000	100-500	>10	-	-
I-16	>1000	100-500	>35	<10	>50
I-17	17	-	-	-	500-1000
I-20	-	100-500	-	-	-
I-21	>1000	500-1000	>5	-	-
I-22	>1000	100-500	>10	>1000	>1
I-23	>1000	>1000	>1	-	-

**EJEMPLO 26**

**Proliferación celular**

5 Se sembraron en placa células en medios de crecimiento complementados con FBS al 5% y P/S al 1% a una densidad de 3.000 células por pocillo en placas de cultivo tisular de 96 pocillos (Corning). Se permitió que sedimentasen las células durante 4 h y luego se trataron con compuesto de prueba 5, 1,25, 0,31, 0,078, 0,020 ó 0,005 µM durante 72 h. Se determinó la viabilidad celular mediante CellTiter Glo (Promega, Madison, WI) y se convirtieron los resultados a números de células usando una curva patrón. Se determinaron valores de inhibición del crecimiento (GI<sub>50</sub>) mediante Graph Pad Prism.

10 El resultado de este experimento se representa en la tabla 5, en la que se muestra la inhibición selectiva de mutante en células H1975 (doble mutación L858R/T790M) y HCC827 (mutación de delección delE746-A750) pero no en células A431 con WT-EGFR.

**Tabla 5. Proliferación celular de EGFR (mutante y silvestre)**

N.º de compuesto	EGFR WT GI <sub>50</sub> (nM)	H1975 GI <sub>50</sub> (nM)	Razón WT/mutante	HCC827 GI <sub>50</sub> (nM)	Razón WT/mutante
I-1	>1000	100-500	>10	10-100	>20
I-2	>1000	>1000	>1	100-500	>15
I-3	>1000	100-500	>5	10-100	>50
I-4	>1000	100-500	>20	100-500	>20
I-5	>1000	>1000	>1	100-500	>20
I-6	>1000	500-1000	>1	500-1000	>1
I-7	>1000	100-500	>10	100-500	>15
I-8	8	>1000	>1000	>1	100-500
I-9	>1000	100-500	>10	100-500	>25
I-10	>1000	100-500	>10	100-500	>10
I-11	>1000	100-500	>10	10-100	>40
I-12	>1000	>1000	>1	500-1000	>5
I-13	>1000	500-1000	>1	100-500	>20
I-15	>1000	>1000	>1	100-500	>25
I-16	>1000	100-500	>35	<10	>50
I-18	>1000	>1000	>1	500-1000	>5
I-19	>1000	>1000	>1	100-500	>10
I-20	>1000	>1000	>1	100-500	>10
I-21	>1000	>1000	>1	500-1000	>5
I-22	>1000	500-1000	>1	500-1000	>5
I-23	>1000	>1000	>1	>1000	>1

**EJEMPLO 27**

**Experimento de lavado en células H1975 que contienen delección de EGFR/mutación T790M**

15 Se sembraron en placa células en medios de crecimiento complementados con 10% FBS y P/S al 1% a una densidad de 2,0 x 10<sup>5</sup> células por pocillo en placas de cultivo tisular de 12 pocillos. Se permitió que sedimentasen las células durante 4 h y luego se mantuvieron en medios con bajo contenido de suero (FBS al 0,1%) durante la noche.

20 A la mañana siguiente, se retiraron los medios y se trataron las células con compuesto de prueba 500 nM en medios con bajo contenido de suero durante 1 h. Se lavaron las células para que careciesen de compuesto 2X con PBS (Invitrogen). Se lisó inmediatamente un conjunto de células tal como se indicó anteriormente en el punto de tiempo de 0 h. Se incubaron las células restantes con medio de crecimiento RPMI-1640 completo (FBS al 10%) durante 1, 3, 6 y 24 h. Durante la primera hora, se lavaron las células 2 veces con PBS cada 30 min. Se recogieron los controles de DMSO (al 0,5%) en los puntos de tiempo de 0, 3, 6 y 24 h.

Los resultados de este experimento se representan en la figura 3, en la que se muestra la duración de acción prolongada para los compuestos de prueba I-1, I-2 y I-3.

EJEMPLO 28

Espectrometría de masas para EGFR mutante

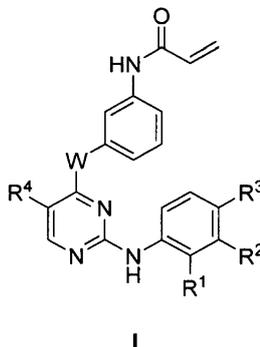
5 Se incubó EGFR T790M/L858R intacto (BPS Bioscience San Diego, CA) durante 60 min a 37°C con un exceso de 10 veces del compuesto I-1. Se diluyeron alícuotas de 3  $\mu$ l de las muestras con 15  $\mu$ l de TFA al 0,2% antes de pipetear con C4-Ziptip directamente sobre la placa objetivo de MALDI usando ácido sinapínico como matriz de desorción (10 mg/ml en TFA al 0,1%:acetonitrilo, 50:50). El panel superior muestra el perfil con la proteína EGFR T790M/L858R ( $m/z = 88,573$  Da), el panel inferior muestra el perfil después de una incubación de 30 minutos con I-1  
10 (429,40 Da) con una  $m/z = 89,061$  Da. Tal como se representa en la figura 4, existe un cambio de masa de 488 Da (113%) observado, lo que indica que I-1 modifica por completo EGFR T790M/L858R en el plazo de 30 minutos.

Se sometieron a prueba de manera similar los compuestos I-2, I-3 e I-7 y se halló que modificaban la proteína.

Aunque se describen varias realizaciones de esta invención en el presente documento, resulta evidente que los ejemplos básicos pueden alterarse para proporcionar otras realizaciones que utilizan los compuestos y métodos de esta invención. Por tanto, se apreciará que el alcance de esta invención ha de definirse mediante las reivindicaciones adjuntas más que mediante las realizaciones específicas que se han representado a modo de ejemplo.  
15

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

5 W es -O- o -NH-;

R<sup>1</sup> es -OR;

cada R es independientemente alquilo C<sub>1-4</sub> o fluoroalquilo C<sub>1-4</sub>;

cada uno de R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> es independientemente hidrógeno, -OH u -OR; y

R<sup>4</sup> es -CF<sub>3</sub>, Cl o Br.

10 2. Compuesto según la reivindicación 1, que tiene al menos una definición seleccionada de (a), (b), (c), (d) o (e):

(a) W es -O-;

(b) R<sup>1</sup> es -OCH<sub>3</sub>;

(c) R<sup>2</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>;

15 (d) R<sup>3</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>; o

(e) R<sup>4</sup> es -CF<sub>3</sub> o -Cl;

preferiblemente que tiene al menos dos definiciones seleccionadas de (a), (b), (c), (d) o (e), más preferiblemente que tiene al menos tres definiciones seleccionadas de (a), (b), (c), (d) o (e), más preferiblemente que tiene al menos cuatro definiciones seleccionadas de (a), (b), (c), (d) o (e).

20 3. Compuesto según la reivindicación 1, que tiene al menos una definición seleccionada de (a), (b), (c), (d) o (e):

(a) W es -NH-;

(b) R<sup>1</sup> es -OCH<sub>3</sub>;

(c) R<sup>2</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>;

25 (d) R<sup>3</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>; o

(e) R<sup>4</sup> es -CF<sub>3</sub> o -Cl;

preferiblemente que tiene al menos dos definiciones seleccionadas de (a), (b), (c), (d) o (e), más preferiblemente que tiene al menos tres definiciones seleccionadas de (a), (b), (c), (d) o (e), más preferiblemente que tiene al menos cuatro definiciones seleccionadas de (a), (b), (c), (d) o (e).

30 4. Compuesto según la reivindicación 1, que tiene al menos una definición seleccionada de (a), (b), (c), (d) o (e):

(a) W es -O- o -NH-;

(b) R<sup>1</sup> es -OCH<sub>3</sub>;

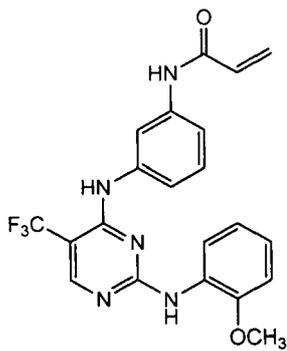
(c) R<sup>2</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>;

(d) R<sup>3</sup> es hidrógeno u -OCH<sub>3</sub>; o

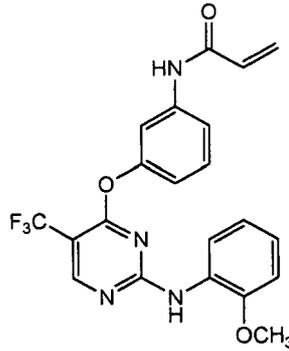
(e) R<sup>4</sup> es -CF<sub>3</sub> o -Cl;

5. preferiblemente que tiene al menos dos definiciones seleccionadas de (a), (b), (c), (d) o (e), más preferiblemente que tiene al menos tres definiciones seleccionadas de (a), (b), (c), (d) o (e), más preferiblemente que tiene al menos cuatro definiciones seleccionadas de (a), (b), (c), (d) o (e).

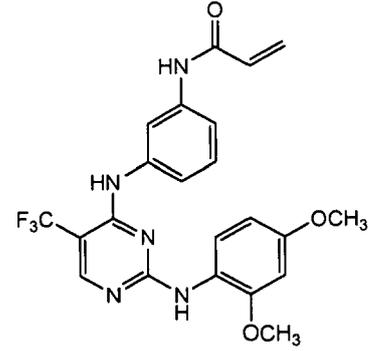
5. Compuesto según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se selecciona de:



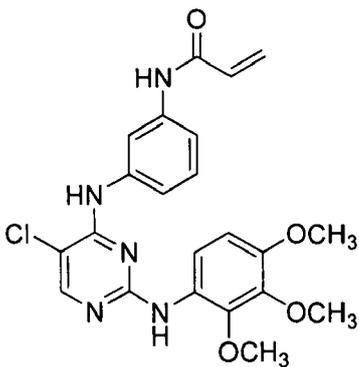
**I-1**



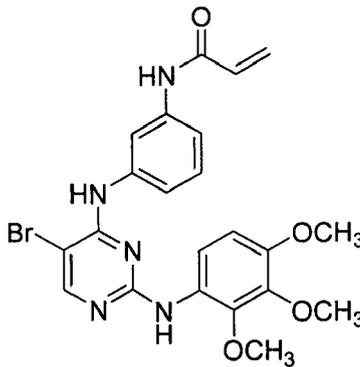
**I-2**



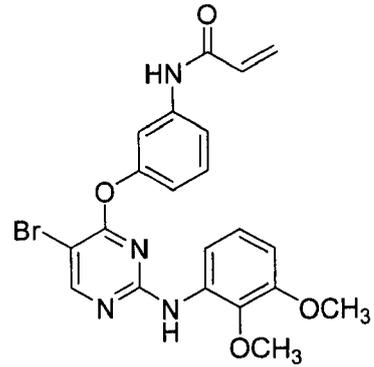
**I-3**



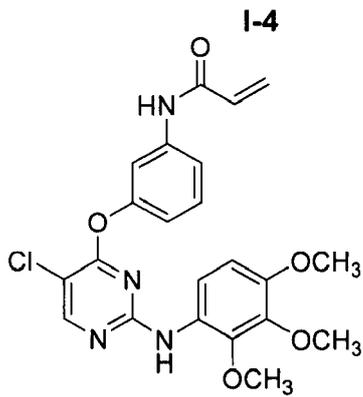
**I-4**



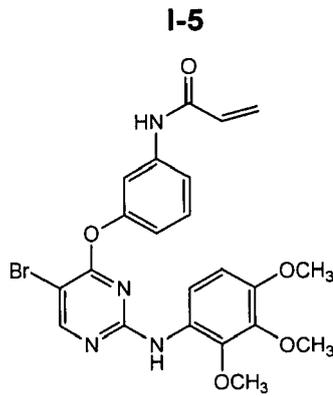
**I-5**



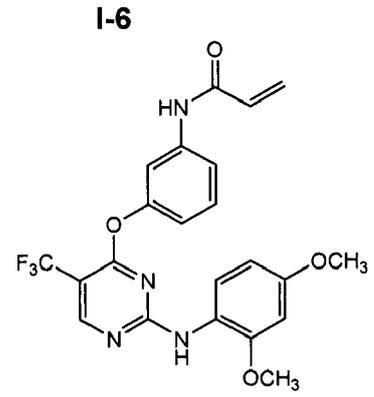
**I-6**



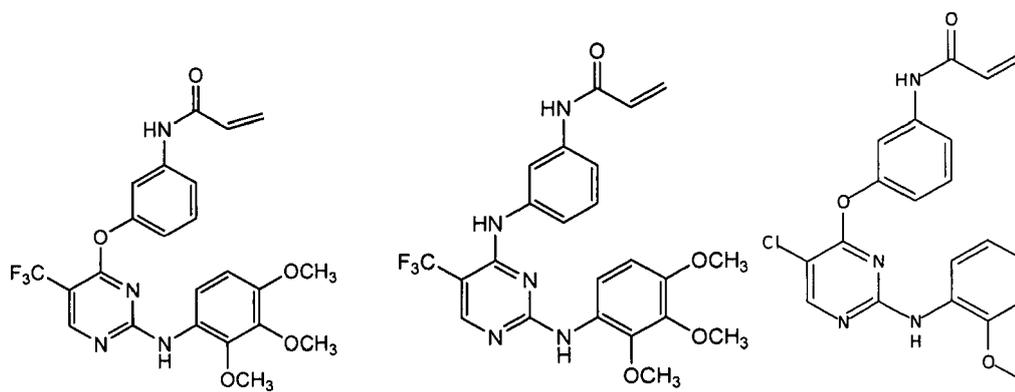
**I-7**



**I-8**



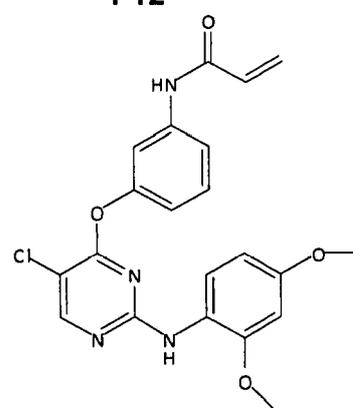
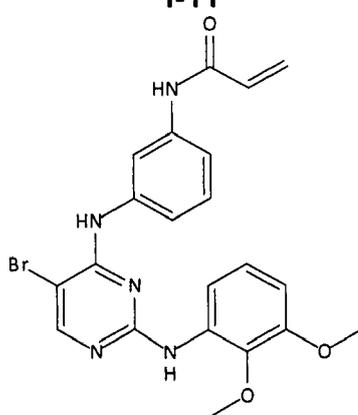
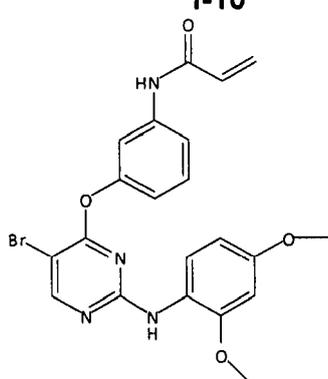
**I-9**



**I-10**

**I-11**

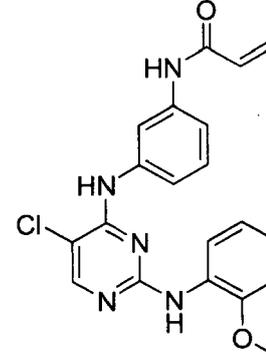
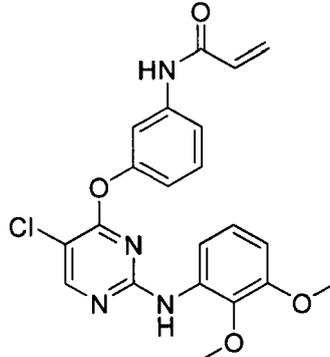
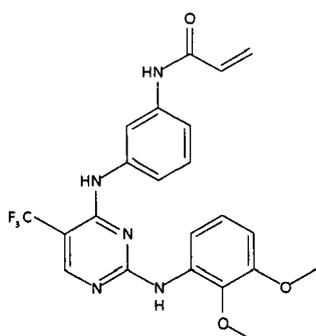
**I-12**



**I-13**

**I-14**

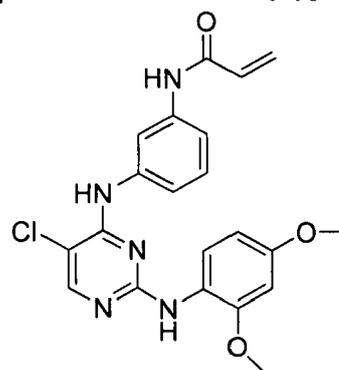
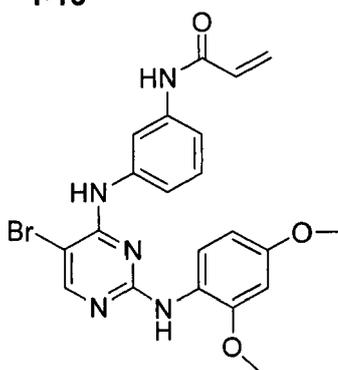
**I-15**



**I-16**

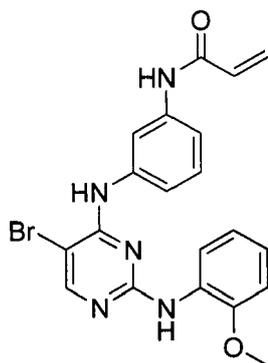
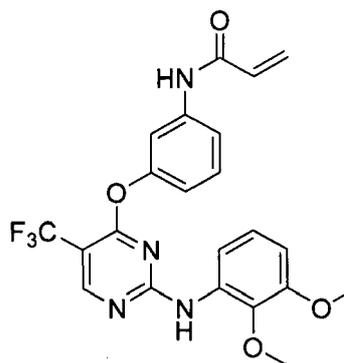
**I-17**

**I-18**



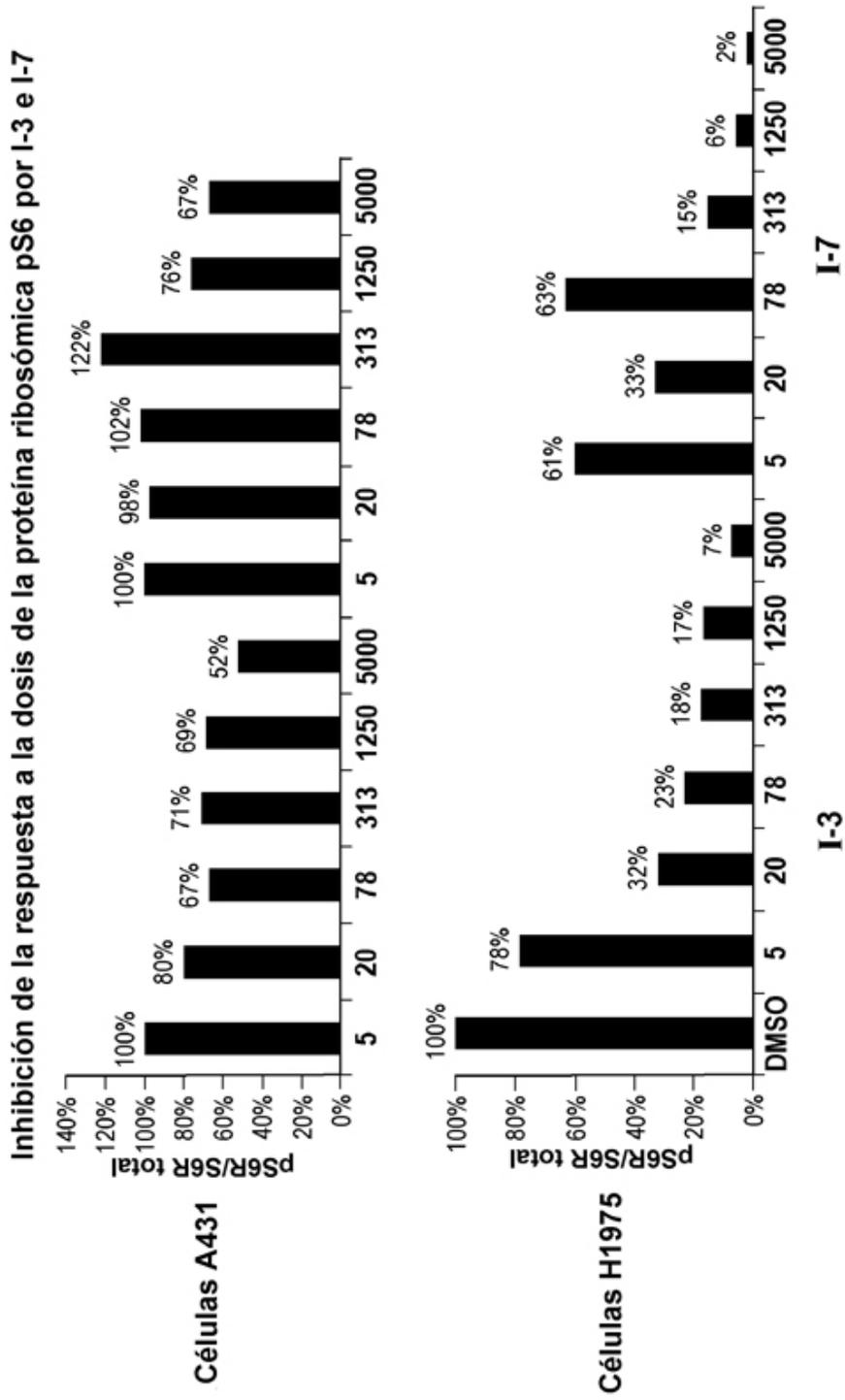
**I-20**

**I-21**

**I-22****I-23**

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

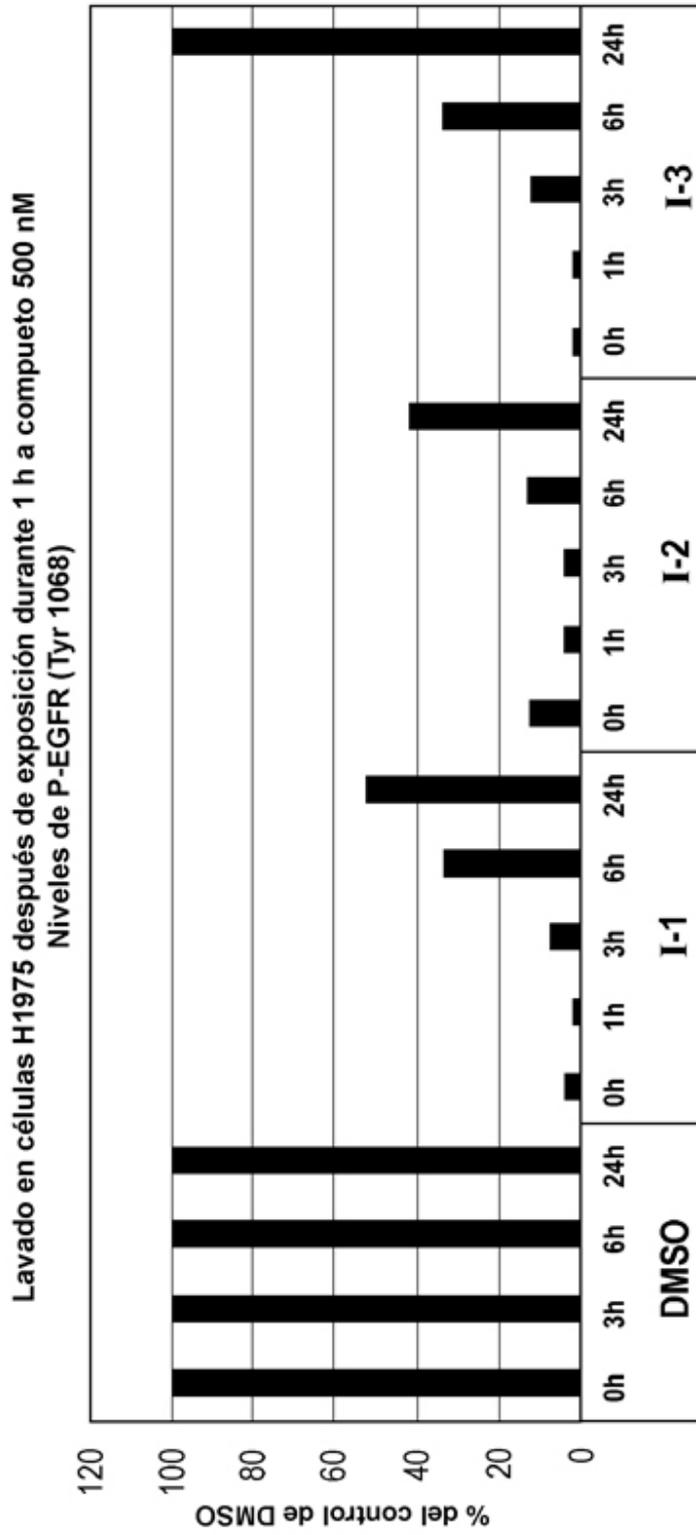
- 5 6. Composición que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.
7. Composición según la reivindicación 6, en combinación con un agente terapéutico adicional, preferiblemente en la que el agente terapéutico adicional es un agente quimioterápico.
8. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o composición del mismo, para su uso en la inhibición de al menos un mutante de EGFR selectivamente en comparación con EGFR WT, en una muestra biológica o en un paciente.
- 10 9. Compuesto según la reivindicación 8, en el que dicho método inhibe poco a EGFR WT, o: en el que el al menos un mutante es T790M.
10. Compuesto según la reivindicación 8, en el que el al menos un mutante de EGFR es un mutante activante, preferiblemente en el que el al menos un mutante de EGFR es un mutante de delección, más preferiblemente en el que el al menos un mutante activante es delE746-A750.
- 15 11. Compuesto según la reivindicación 10, en el que el al menos un mutante de EGFR es una mutación puntual, preferiblemente en el que el al menos un mutante activante es L858R, o en el que el al menos un mutante activante es G719S.
12. Compuesto según la reivindicación 8, en el que el compuesto inhibe selectivamente al menos un mutante activante y T790M, preferiblemente en el que el al menos un mutante de EGFR es un mutante de delección, más preferiblemente en el que el al menos un mutante activante es delE746-A750.
- 20 13. Compuesto según la reivindicación 12, en el que el al menos un mutante de EGFR es una mutación puntual.
14. Compuesto según la reivindicación 13, en el que el al menos un mutante activante es L858R, o en el que el al menos un mutante activante es G719S.
- 25 15. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 10 o 11, en el que el compuesto inhibe poco a EGFR WT.
16. Composición según la reivindicación 6 para su uso en el tratamiento de un trastorno o estado mediado por EGFR mutante en un paciente, preferiblemente en la que el trastorno o estado es un cáncer, más preferiblemente en la que el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas.
- 30



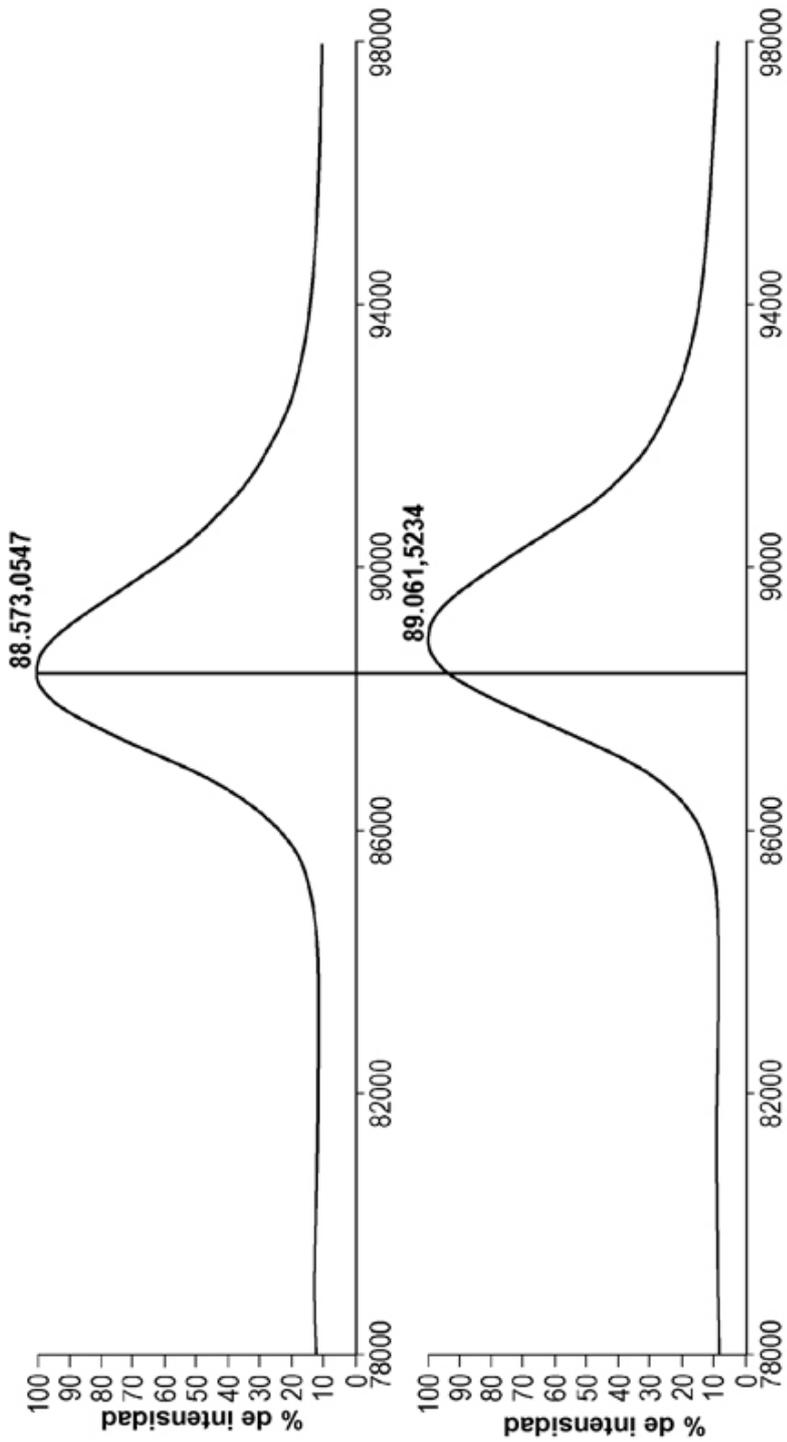
**Fig. 1**

ID DE COMPUESTO	H1975 (EGFR <sup>L858R/T790M</sup> ) CE <sub>50</sub> (nM)		A431(EGFR <sup>WT</sup> ) CE <sub>50</sub> (nM)	
	pEGFR	pS6 ribosómica	pEGFR	pS6 ribosómica
I-3	10-100	10-100	> 1000	> 1000
I-7	10-100	10-100	> 1000	> 1000

**Fig. 2**



**Fig. 3**



**Fig. 4**