

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 642 201**

51 Int. Cl.:

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/495 (2006.01)

A61K 31/505 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.03.2014 PCT/GB2014/050655**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.09.2014 WO14135876**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2014 E 14710620 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2017 EP 2964638**

54 Título: **Inhibidores de quinazolina de formas mutantes de activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico**

30 Prioridad:
06.03.2013 WO PCT/CN2013/072250

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.11.2017

73 Titular/es:
**ASTRAZENECA AB (100.0%)
SE-151 85 Södertälje, SE**

72 Inventor/es:
**LI, DAVID, YUNZHI;
WANG, JIABING;
YANG, ZHENFAN;
ZENG, QINGBEI y
ZHANG, XIAOLIN**

74 Agente/Representante:
ISERN JARA, Jorge

ES 2 642 201 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

Inhibidores de quinazolina de formas mutantes de activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico

5 La presente invención se refiere a ciertos compuestos de 4-(anilino sustituido)-6-O-piperizina sustituida-carbonil)quinazolina y sales farmacéuticas de los mismos que pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de una enfermedad o afección médica a través de formas mutantes de activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), por ejemplo, el mutante de activación L858R y/o el mutante de activación de eliminación del exón 19. Dichos compuestos y sales de los mismos pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de varios
10 cánceres diferentes. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, o una sal farmacéutica de los mismos, formas cristalinas de estos compuestos, o una sal farmacéutica de los mismos, intermedios útiles en la fabricación de dichos compuestos, o una sal farmacéutica de los mismos, y a métodos de tratamiento de enfermedades mediadas por formas mutantes de activación del EGFR usando dichos compuestos, o una sal farmacéutica de los mismos.

15 El EGFR (conocido de otro modo como ErbB1 o HER1) es una proteína transmembrana tirosina cinasa que es miembro de la familia del receptor erbB. Tras la unión de un ligando factor de crecimiento, tal como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el receptor puede homodimerizar con otra molécula de EGFR o heterodimerizar con otro miembro de la familia, tal como erbB2 (HER2), erbB3 (HER3) o erbB4 (HER4).

20 La homo- y/o heterodimerización de receptores erbB provoca la fosforilación de restos de tirosina clave en el dominio intracelular y da lugar a la estimulación de numerosas rutas de transducción de señales intracelulares implicadas en la proliferación y supervivencia celular. La ausencia de regulación de la señalización de la familia de erbB promueve la proliferación, invasión, metástasis, angiogénesis y supervivencia de las células tumorales y se ha descrito en
25 muchos cánceres humanos, incluyendo de pulmón, de cabeza y cuello y de mama.

La familia de erbB, por lo tanto, representa una diana racional para el desarrollo de fármacos antineoplásicos y ahora hay varios agentes dirigidos a EGFR o erbB2 clínicamente disponibles, incluyendo gefitinib (IRESSA™), erlotinib (TARCEVA™) y lapatinib (TYKERB™, TYVERB™). Se proporcionan revisiones detalladas de la señalización del receptor erbB y su implicación en la tumorigénesis en New England Journal of Medicine Vol. 358; 1160-74 y
30 Biochemical and Biophysical Research Communications Vol. 319: 1-11.

En 2004 se informó (Science Vol. 304: 1497-500 y New England Journal of Medicine Vol. 350; 2129-39) de que las mutaciones de activación en EGFR se correlacionaban con la respuesta a tratamiento con gefitinib en carcinoma broncopulmonar no microcítico (CPNM). Aproximadamente un 90 % de las mutaciones de EGFR asociadas a CPNM consisten en dos mutaciones principales de EGFR (eliminación E746-A750 en el exón 19 y mutación de sustitución L858R en el exón 21) (Pao et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America [2004], Vol. 13: 306-11 y Kosada et al. Cancer Research [2004] Vol. 64: 8919-23). Estas mutaciones de activación producen un aumento en la afinidad por inhibidores de tirosina cinasa de molécula pequeña tales como gefitinib y erlotinib y una disminución en la afinidad por adenosina trifosfato (ATP) respecto al EGFR de tipo silvestre (WT).

40 Sin embargo, se informó de efectos adversos, tales como erupción cutánea y diarrea, que se consideran relacionados con la inhibición de las rutas de señalización de WT EGFR en células normales de piel e intestino, en >60 % de los pacientes con CPNM tratados con gefitinib o erlotinib (Zhou CC et al. Journal of Clinical Oncology [2011], Vol. 12: 735-42; Mok TS et al. New England Journal of Medicine [2009], Vol. 361: 947-57). Además, tanto el gefitinib como el erlotinib mostraron efectos limitados en el tratamiento de pacientes con CPNM con metástasis cerebral, ya que ninguno de ellos cruza de forma eficaz la barrera hematoencefálica (BHE) (McKillop D et al. Xenobiotica [2004], Vol. 34: 983-1000; Jackman DM et al. Journal of Clinical Oncology [2006], Vol. 24: 4517-20 Grommes C et al. Neuro-Oncology [2011], Vol. 13: 1364-9), aunque varios informes demuestran que la metástasis cerebral de carcinoma broncopulmonar está surgiendo como una necesidad médica insatisfecha (Gavrilovic et al., Journal of Neurooncology [2005], Vol. 75: 5-14; Barnholtz-Sloan JS et al. Journal of Clinical Oncology [2004], 22: 2865-72; Schouten LJ et al., Cancer [2002], Vol. 94: 2698-705).

55 Se produce metástasis leptomeníngea cuando el cáncer se propaga a las meninges, las capas de tejido que cubren el cerebro y la médula espinal. La metástasis puede propagarse a las meninges a través de la sangre o puede provenir de metástasis cerebral, transportada por el líquido cefalorraquídeo (LCR) que fluye a través de las meninges. Si entran células tumorales en el LCR y sobreviven, pueden viajar por todo el sistema nervioso central, causando problemas neurológicos (Le Rhun et al. Surg Neurol Int. [2013], Vol. 4: S265-88). La incidencia de metástasis leptomeníngea está aumentando, parcialmente porque los pacientes con cáncer están viviendo más
60 tiempo, pero también porque muchas quimioterapias y tratamientos de dianas moleculares son incapaces de alcanzar suficientes concentraciones en el líquido cefalorraquídeo para eliminar las células tumorales. Los tratamientos tradicionalmente han sido ineficaces y la supervivencia se ha medido en semanas. AstraZeneca ha investigado sapitinib (AZD8931), un inhibidor equipotente de EGFR, los receptores HER2 y HER3, para su uso en cáncer de mama. Hasta la fecha, se ha estudiado sapitinib en tres ensayos clínicos en fase II; el primero en combinación con paclitaxel frente a paclitaxel en solitario en pacientes con cáncer de mama avanzado que expresan bajos niveles de HER2; el segundo en combinación con anastrozol frente a anastrozol en solitario en cáncer de
65

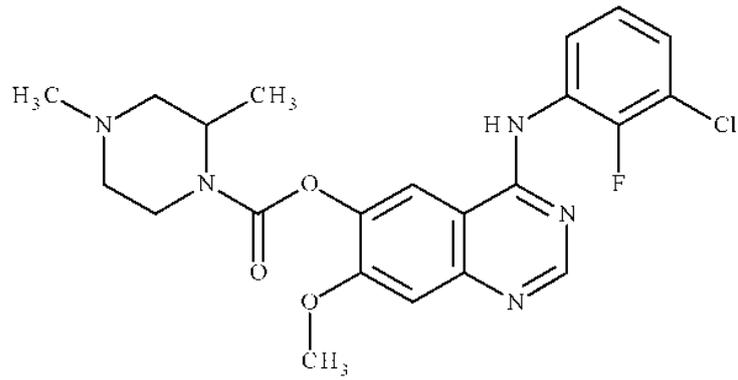
mama avanzado positivo al receptor de hormonas; y el tercero en combinación con paclitaxel frente a paclitaxel en solitario en cáncer gástrico metastásico o de la unión gastroesofágica que progresan después del tratamiento de primera línea y no son elegibles para tratamiento con trastuzumab por el estado HER2. El compuesto de la presente invención es estructuralmente distinto de sapitinib y posee propiedades potenciadas de penetración en el cerebro que lo hacen potencialmente útil en el tratamiento de cánceres que han metastatizado al sistema nervioso central [SNC], particularmente aquellos que han metastatizado al cerebro y aquellos que producen metástasis leptomeníngea.

Actualmente, algunos inhibidores irreversibles de EGFR de quinazolina, tales como afatinib y dacomitinib, están en desarrollo clínico. Aunque estos compuestos mostraron efectos comparables sobre las mutaciones de activación de EGFR en pacientes con CPNM en tratamiento con gefitinib y erlotinib, mostraron efectos adversos más graves, tales como erupción cutánea (>90 % de erupción cutánea y diarrea) (Zhou CC et al. Journal of Clinical Oncology [2011], Vol. 12: 735-42; Mok TS et al. New England Journal of Medicine [2009], Vol. 361: 947-57; Miller VA et al. Lancet Oncology [2012], Vol. 13: 528-38; Ramalingam SS et al. Journal of Clinical Oncology [2012], Vol. 30: 3337-44). Los compuestos de la presente invención son inhibidores reversibles y, por lo tanto, se espera que tengan menos efectos adversos relacionados con EGFR que el afatinib y el dacomitinib.

Se han divulgado ciertos compuestos de quinazolina, por ejemplo "Preparation of quinazoline derivatives for treatment of tumors" (documento US 20080177068 A1), "Preparation of quinazoline derivatives for treatment of tumors" (documento US 20080167328 A1), "Preparation of saccharide derivatives of quinazolines as protein tyrosine kinase inhibitors" (documento CN 101857618 A), "Preparation of chlorofluoroanilinomethoxy-N-methylcarbamoylmethylpiperidinyloxyquinazoline derivatives for use as antitumor agents" (documento WO 2010061208 A2), "Preparation of 4-aminoquinazoline derivatives as antineoplastic agents" (documento CN 101367793 A), "Preparation of proline quinazoline derivatives as antiproliferative agents" (documento BR 2006002275 A), "Preparation of quinazoline derivatives as protein kinase inhibitors" (documento WO 2005097137 A2), "Preparation of quinazoline derivatives as protein kinase inhibitors" (documento WO 2005097134 A2), "Preparation of quinazoline derivatives as EGFR tyrosine kinase inhibitors" (documento WO 2005028469 A1), "Preparation of phenylamino-substituted quinazolines as inhibitors of EGF and ErbB-2 kinases" (documento WO 2005028470 A1), "Preparation of quinazoline derivatives as EGFR tyrosine kinase inhibitors" (documento WO 2005026156 A1), "Preparation of piperidyl-quinazoline derivatives as tyrosine kinase inhibitors for the treatment of tumors" (documento WO 2005012290 A1), "Preparation of 4-anilinoquinazolines as antiproliferative agents" (documento WO 2003082831 A1), "Preparation of aminoquinazolines as epidermal growth factor receptor signal transduction inhibitors" (documento WO 2002018351 A1), "Preparation of quinazolines as aurora 2 kinase inhibitors" (documento WO 2001021594 A1), "Quinazolines and other bicyclic heterocycles, pharmaceutical compositions containing these compounds as tyrosine kinase inhibitors, and processes for preparing them" (documento WO 2000055141 A1), "Preparation of quinazoline derivatives and their receptor tyrosine kinase inhibitory properties" (documento WO 9738994 A1), "Quinazoline derivatives as antitumor agents" (documento WO 9730034 A1), "Preparation of haloanilinoquinazolines as Class I receptor tyrosine kinase inhibitors" (documento WO 9633980 A1) y "Quinazoline derivatives useful for treatment of neoplastic disease" (documento US 5457105).

Los compuestos de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en comparación con otros inhibidores de EGFR clínicamente disponibles, muestran ciertas propiedades mejoradas, por ejemplo, mayor penetración en la BHE (haciéndolos, por tanto, potencialmente útiles para el tratamiento de cánceres que han metastatizado al SNC, en particular, metástasis cerebral y metástasis leptomeníngea); muestran mejor selectividad entre WT EGFR y EGFR mutante (que puede producir menor efectos secundarios por el tratamiento de erupción cutánea y diarrea); manteniendo al mismo tiempo una actividad equivalente o mejorada contra el EGFR mutante de activación (por ejemplo, el mutante de activación L858R y/o los mutantes de activación de eliminación del exón 19 de EGFR). Por lo tanto, dichos compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden ser especialmente útiles en el tratamiento de patologías en que están implicadas estas mutaciones de activación de EGFR, por ejemplo, en el tratamiento del cáncer.

Por consiguiente, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I):

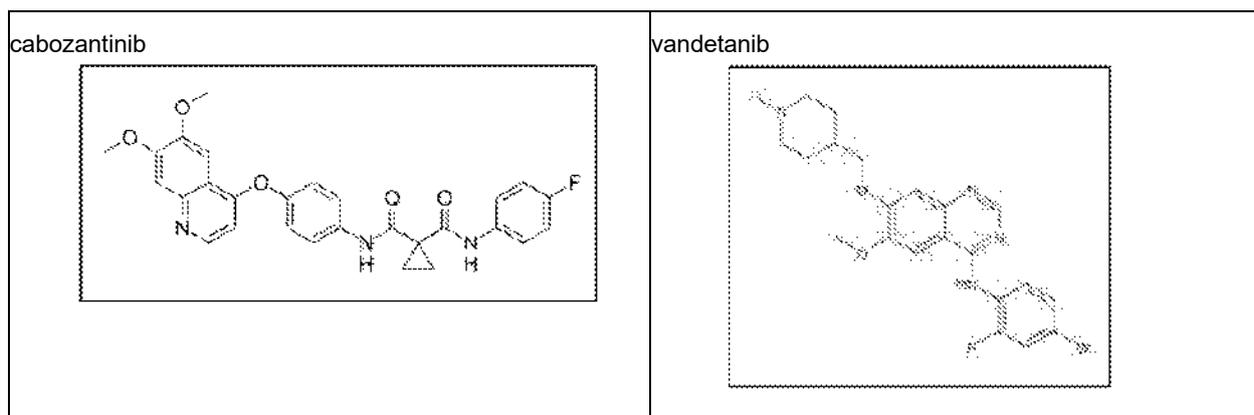


(I)

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

- 5 Las estructuras de los compuestos clínicos a los que se ha hecho referencia anteriormente son como de indican a continuación:

<p>gefitinib</p>	<p>erlotinib</p>
<p>lapatinib</p>	<p>sapitinib</p>
<p>afatinib</p>	<p>dacomitinib</p>



Una sal farmacéuticamente aceptable adecuada de un compuesto de la invención es, por ejemplo, una sal de adición de ácidos, por ejemplo un ácido inorgánico u orgánico, por ejemplo ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico, cítrico, L-tartárico, glicólico, fumárico, succínico o maleico, especialmente ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico, cítrico, L-tartárico, glicólico, fumárico o maleico. Una sal farmacéuticamente aceptable particular de un compuesto de la invención es una sal de ácido clorhídrico. Una sal farmacéuticamente aceptable particular adicional de un compuesto de la invención es una sal de ácido succínico. El experto apreciaría que también pueden ser posibles sales de adición de ácidos adicionales, por ejemplo, pero sin limitación, aquellas mostradas en los ejemplos.

Pueden formarse sales de los compuestos de fórmula (I), por ejemplo, haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (I) con una cantidad de ácido, en un medio, tal como uno en el que la sal precipite o en un medio acuoso seguido de liofilización.

Los compuestos de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, tienen un centro quiral. Debe apreciarse que la invención abarca todos los estereoisómeros (enantiómeros y diaestereoisómeros) de los compuestos de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que posean actividad inhibidora de EGFR mutante activador. La invención también se refiere a cualquiera y a todas las formas tautoméricas de los compuestos de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que posean actividad inhibidora de EGFR mutante activador. En un aspecto más de la invención se proporciona un enantiómero de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, sustancialmente exento de otros enantiómeros cualesquiera. En un aspecto más de la invención se proporciona el enantiómero (R) de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, sustancialmente exento de otros enantiómeros cualesquiera. En un aspecto más de la invención se proporciona el enantiómero (S) de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, sustancialmente exento de otros enantiómeros cualesquiera.

En una realización de la invención donde la mezcla comprende proporciones molares desiguales de enantiómeros, la mezcla puede tener un exceso enantiomérico seleccionado entre >50 %, >70 %, >90 % y >95 %. En particular, la mezcla puede tener un exceso enantiomérico de >98 %. Más particularmente, la mezcla puede tener un exceso enantiomérico de >99 %. Más particularmente, la mezcla puede tener un exceso enantiomérico de >99,5 %.

También se entiende que ciertos compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden existir en formas solvatadas, así como no solvatadas tales como, por ejemplo, formas hidratadas. Tiene que entenderse que la invención abarca todas estas formas solvatadas que poseen actividad inhibidora del EGFR mutante de activación.

Debe entenderse adicionalmente que la invención abarca todas las formas isotópicas de los compuestos descritos en el presente documento. Por ejemplo hidrógeno incluye deuterio y carbono incluye ^{12}C y ^{13}C .

En otro aspecto de la invención, son compuestos particulares de la invención uno cualquiera de los Ejemplos o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otro aspecto de la invención, se seleccionan compuestos particulares de la invención entre:

- (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo;
- (2S)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo; y
- (±) 2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otro aspecto de la invención, se seleccionan compuestos particulares de la invención entre:

- 5 (2*R*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo;
 (2*S*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo; y
 (±) 2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre una sal farmacéuticamente aceptable de (2*R*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

10 En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre clorhidrato de (2*R*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

15 En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre succinato de (2*R*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre (2*R*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

20 En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre una sal farmacéuticamente aceptable de (2*S*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

25 En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre (2*S*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre una sal farmacéuticamente aceptable de (-)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

30 En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre (-)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

35 En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre una sal farmacéuticamente aceptable de (+)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre (+)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

40 En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre una sal farmacéuticamente aceptable de (±) 2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

45 En otro aspecto de la invención, un compuesto particular de la invención se selecciona entre (±) 2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

En el presente documento, cuando se citan rotaciones ópticas de (+) o (-), particularmente, estas se miden a c10 donde c es la concentración en g/ml, en DMSO a 25 °C. También debe entenderse que determinados compuestos de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden existir en determinadas formas cristalinas. En particular, (2*R*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo, se ha identificado como poseedor de varias formas cristalinas - particularmente la Forma A, Forma E, Forma I y Forma J. Además la sal clorhidrato de (2*R*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo también puede existir en forma cristalina - particularmente la Forma A₁ de sal mono-HCl y la sal succinato de (2*R*)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo también pueden existir en forma cristalina - particularmente Forma A₃ de sal succinato. Debe apreciarse que la presente invención abarca todas estas formas cristalinas de los compuestos de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que posean actividad inhibidora de EGFR mutante activador.

60 (2*R*)-2,4-Dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina, Forma A

La Forma A se caracteriza por proporcionar al menos uno de los siguientes valores 2θ medidos usando radiación de CuK α : 23,3 y 14,3°. La Forma A se caracteriza por proporcionar un patrón de difracción de polvo de rayos X, sustancialmente como se muestra en la Figura 1. En la Tabla A se muestran diez picos de difracción de polvo de rayos X:

5

Tabla A

Ángulo 2-Theta (2θ)	Intensidad %
23,3	100,00
14,3	83,70
9,4	78,08
18,6	61,70
16,3	60,41
21,5	39,61
12,4	38,89
26,1	38,18
19,8	35,71
27,4	31,12

Diez picos de difracción de polvo de rayos X para la Forma A

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos dos picos específicos a aproximadamente $2\text{-theta} = 23,3^\circ$ y $14,3^\circ$.

10

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a aproximadamente $2\text{-theta} = 23,3, 14,3, 9,4, 18,6, 16,3, 21,5, 12,4, 26,1, 19,8, 27,4^\circ$.

15

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente igual al patrón de difracción de polvo de rayos X mostrados en la Figura 1.

20

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos dos picos específicos a $2\text{-theta} = 23,3^\circ$ y $14,3^\circ$ en el que dichos valores pueden ser más o menos $0,2^\circ 2\text{-theta}$.

25

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a $2\text{-theta} = 23,3, 14,3, 9,4, 18,6, 16,3, 21,5, 12,4, 26,1, 19,8, 27,4^\circ$ en el que dichos valores pueden ser más o menos $0,2^\circ 2\text{-theta}$.

30

El análisis de DSC de la Forma A muestra una endotermia de fusión con un inicio de $192,4^\circ\text{C}$ y un pico a $195,8^\circ\text{C}$ (Figura 2).

(2R)-2,4-Dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina, Forma E

35

La Forma E se caracteriza por proporcionar al menos uno de los siguientes valores 2θ medidos usando radiación CuK α : 7,3 y $13,7^\circ$. La Forma E se caracteriza por proporcionar un patrón de difracción de polvo de rayos X, sustancialmente como se muestra en la Figura 3. En la Tabla B se muestran nueve picos de difracción de polvo de rayos X:

Tabla B

Ángulo 2-Theta (2θ)	Intensidad %
7,3	100,00
13,7	81,83
13,4	74,07
17,6	28,89

Ángulo 2-Theta (2θ)	Intensidad %
5,6	28,02
10,8	19,08
21,7	19,04
26,5	17,10
28,4	13,41

Nueve picos de difracción de polvo de rayos X para la Forma A

5 De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma E, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos dos picos específicos a aproximadamente 2-theta = 7,3° y 13,7°.

10 De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma E, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a aproximadamente 2-theta = 7,3, 13,7, 13,4, 17,6, 5,6, 10,8, 21,7, 26,5, 28,4°.

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma E, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente igual al patrón de difracción de polvo de rayos X mostrados en la Figura 3.

15 De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma E, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos dos picos específicos a 2-theta = 7,3° y 13,7° en el que dichos valores pueden ser más o menos 0,2° 2-theta.

20 De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma E, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a 2-theta = 7,3, 13,7, 13,4, 17,6, 5,6, 10,8, 21,7, 26,5, 28,4° en el que dichos valores pueden ser más o menos 0,2° 2-theta.

25 El análisis de DSC de Forma E muestra una endotermya de fusión con un inicio de 194,2 °C y un pico a 196,3 °C (Figura 4).

(2R)-2,4-Dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina, Forma I

30 La Forma I se caracteriza por proporcionar al menos uno de los siguientes valores 2θ medidos usando radiación CuKα: 3,5 y 7,0°. La Forma I se caracteriza por proporcionar un patrón de difracción de polvo de rayos X, sustancialmente como se muestra en la Figura 5. En la Tabla C se muestran diez picos de difracción de polvo de rayos X:

Tabla C

Ángulo 2-Theta (2θ)	Intensidad %
3,5	100,00
7,0	41,22
9,5	32,57
6,4	32,54
14,3	25,70
18,0	24,80
16,4	22,12
15,3	10,95
4,7	7,05
21,3	4,54

35

Diez picos de difracción de polvo de rayos X para la Forma I

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma I, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos tres picos específicos a aproximadamente 2-theta 3,5°, 7,0° y 9,5°.

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma I, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a aproximadamente 2-theta = 3,5, 7,0, 9,5, 6,4, 14,3, 18,0, 16,4, 15,3, 4,7, 21,3°.

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma I, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente igual al patrón de difracción de polvo de rayos X mostrados en la Figura 5.

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma I, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos tres picos específicos a 2-theta 3,5°, 7,0° y 9,5° en el que dichos valores pueden ser más o menos 0,2° 2-theta.

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma I, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a 2-theta = 3,5, 7,0, 9,5, 6,4, 14,3, 18,0, 16,4, 15,3, 4,7, 21,3° en el que dichos valores pueden ser más o menos 0,2° 2-theta.

El análisis de DSC de la Forma I muestra una endotermia de fusión con un inicio de 193,3 °C y un pico a 195,9 °C (Figura 6).

(2R)-2,4-Dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina, Forma J

La Forma J se caracteriza por proporcionar al menos uno de los siguientes valores 2θ medidos usando radiación CuKα: 7,8 y 7,0°. La Forma J se caracteriza por proporcionar un patrón de difracción de polvo de rayos X, sustancialmente como se muestra en la Figura 7. En la Tabla D se muestran diez picos de difracción de polvo de rayos X:

Tabla D

Ángulo 2-Theta (2θ)	Intensidad %
7,8	100,00
7,0	49,36
4,9	45,57
15,9	27,11
17,7	20,89
3,4	17,30
20,7	16,71
9,8	14,59
13,9	14,11
12,7	10,83

Diez picos de difracción de polvo de rayos X para la Forma J

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma J, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos dos picos específicos a aproximadamente 2-theta = 7,8° y 7,0°.

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma J, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a aproximadamente 2-theta = 7,8, 7,0, 4,9, 15,9, 17,7, 3,4, 20,7, 9,8, 13,9, 12,7°.

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma J, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente igual al patrón de difracción de polvo de rayos X mostrados en la Figura 7.

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma J, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos dos picos específicos a $2\text{-theta} = 7,8^\circ$ y $7,0^\circ$ en el que dichos valores pueden ser más o menos $0,2^\circ$ 2-theta .

5 De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma J, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a $2\text{-theta} = 7,8, 7,0, 4,9, 15,9, 17,7, 3,4, 20,7, 9,8, 13,9, 12,7^\circ$ en el que dichos valores pueden ser más o menos $0,2^\circ$ 2-theta .

10 El análisis de DSC de la Forma J muestra una endotermia de fusión con un inicio de $193,3^\circ\text{C}$ y un pico a $195,8^\circ\text{C}$ (Figura 8).

Sal clorhidrato de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina, Forma A₁ de sal mono-HCl

15 La Forma A₁ de sal mono-HCl se caracteriza por proporcionar al menos uno de los siguientes valores 2θ medidos usando radiación de CuK α : $12,3$ y $13,9^\circ$. La Forma A₁ de sal mono-HCl se caracteriza por proporcionar un patrón de difracción de polvo de rayos X, sustancialmente como se muestra en la Figura 9. En la Tabla E se muestran nueve picos de difracción de polvo de rayos X:

20

Tabla E

Ángulo 2-Theta (2θ)	Intensidad %
12,3	100,00
13,9	40,45
9,3	29,34
23,3	26,42
18,7	20,54
16,0	17,94
24,6	10,24
26,8	8,94
28,0	7,90

Nueve picos de difracción de polvo de rayos X para la Forma A₁ de sal mono-HCl

25 De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A₁ de sal mono-HCl que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos dos picos específicos a aproximadamente $2\text{-theta} = 12,3^\circ$ y $13,9^\circ$.

30 De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A₁ de sal mono-HCl que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a aproximadamente $2\text{-theta} = 12,3, 13,9, 9,3, 23,3, 18,7, 16,0, 24,6, 26,8, 28,0^\circ$.

35 De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A₁ de sal mono-HCl que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente igual al patrón de difracción de polvo de rayos X mostrados en la Figura 9.

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A₁ de sal mono-HCl que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos dos picos específicos a $2\text{-theta} = 12,3^\circ$ y $13,9^\circ$ en el que dichos valores pueden ser más o menos $0,2^\circ$ 2-theta .

40 De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A₁ de sal mono-HCl que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a $2\text{-theta} = 12,3, 13,9, 9,3, 23,3, 18,7, 16,0, 24,6, 26,8, 28,0^\circ$ en el que dichos valores pueden ser más o menos $0,2^\circ$ 2-theta .

45 El análisis de DSC de la Forma A₁ de sal mono-HCl muestra una endotermia de fusión con un inicio de $259,6^\circ\text{C}$ y un pico a $261,4^\circ\text{C}$ (Figura 10).

Sal succinato de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina, Forma A₈ de sal succinato

La Forma A₈ de sal succinato de se caracteriza por proporcionar al menos uno de los siguientes valores 2θ medidos usando radiación de CuKα: 6,5 y 17,7. La Forma A₈ de sal succinato se caracteriza por proporcionar un patrón de difracción de polvo de rayos X, sustancialmente como se muestra en la Figura 11. En la Tabla F se muestran nueve picos de difracción de polvo de rayos X:

5

Tabla F

Ángulo 2-Theta (2θ)	Intensidad %
6,5	100,00
17,7	31,30
14,7	24,91
9,2	21,73
26,5	14,13
20,2	12,03
13,1	11,74
27,3	9,72
24,0	5,56

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A₈ de sal succinato, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos tres picos específicos a aproximadamente 2-theta = 6,5°, 17,7° y 14,7°.

10

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A₈ de sal succinato, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a aproximadamente 2-theta = 6,5, 17,7, 14,7, 9,2, 26,5, 20,2, 13,1, 27,3, 24,0°.

15

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A₈ de sal succinato, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente igual al patrón de difracción de polvo de rayos X mostrados en la Figura 11.

20

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A₈ de sal succinato, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos tres picos específicos a 2-theta = 6,5°, 17,7° y 14,7°, en el que dichos valores pueden ser más o menos 0,2° 2-theta.

25

De acuerdo con la presente invención se proporciona una forma cristalina, Forma A₈ de sal succinato, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a 2-theta = 6,5, 17,7, 14,7, 9,2, 26,5, 20,2, 13,1, 27,3, 24,0°, en el que dichos valores pueden ser más o menos 0,2° 2-theta.

El análisis de DSC muestra que la Forma A₈ de sal succinato muestra una endotermia de fusión con un inicio de 191,8 °C y un pico a 194,2 °C (Figura 12).

30

Leyendas para las Figuras:

Figura 1: Patrón de difracción de polvo de rayos X de la Forma A

Figura 2: Termograma DSC de la Forma A

35

Figura 3: Patrón de difracción de polvo de rayos X de la Forma E

Figura 4: Termograma DSC de la Forma E

Figura 5: Patrón de difracción de polvo de rayos X de la Forma I

Figura 6: Termograma DSC de la Forma I

Figura 7: Patrón de difracción de polvo de rayos X de la Forma J

40

Figura 8: Termograma DSC de la Forma J

Figura 9: Patrón de difracción de polvo de rayos X de la Forma A₁ de sal mono-HCl

Figura 10: Termograma DSC de la Forma A₁ de sal mono-HCl

Figura 11: Patrón de difracción de polvo de rayos X de la Forma A₈ de sal succinato

Figura 12: Termograma DSC de la Forma A₈ de sal succinato

45

Cuando se indica que la presente invención se refiere a una forma cristalina, el grado de cristalinidad es convenientemente mayor a aproximadamente un 60 %, more convenientemente mayor a aproximadamente un 80 %, convenientemente mayor a aproximadamente un 90 % y más convenientemente mayor a aproximadamente un 95 %. El grado de cristalinidad más conveniente es mayor de aproximadamente un 98 %.

Se entenderá que los valores de 2-theta del patrón de difracción de polvo de rayos X pueden variar ligeramente de una máquina a otra o de una muestra a otra, y por tanto los valores indicados no deben interpretarse como absolutos. Se entiende que puede obtenerse un patrón de difracción de polvo de rayos X que tenga uno o más errores de medición dependiendo de las condiciones de medición (tales como el equipo o máquina usados). En particular, se sabe generalmente que las intensidades en un patrón de difracción de polvo de rayos X pueden fluctuar dependiendo de las condiciones de medición. Por lo tanto, debe entenderse que las formas polimórficas de la presente invención no se limitan a los cristales que proporcionan patrones de difracción de polvo de rayos X idénticos al patrón de difracción de polvo de rayos X mostrado en las figuras, y entran dentro del alcance de la presente invención cualquiera de los cristales que proporcionan patrones de difracción de polvo de rayos X sustancialmente iguales a los mostrados en las figuras. Un experto en la técnica de difracción de polvo de rayos X es capaz de juzgar la identidad sustancial de patrones de difracción de polvo de rayos X.

Las personas expertas en la técnica de difracción de polvo de rayos X se darán cuenta de que la intensidad relativa de picos puede verse afectada por, por ejemplo, granos con un tamaño por encima de 30 micrómetros y relaciones de aspecto no unitarias, que pueden afectar al análisis de las muestras. El experto también se dará cuenta de que la posición de reflexiones puede verse afectada por la altura precisa a la que la muestra se sitúe en el difractómetro y la calibración cero del difractómetro. La planaridad superficial de la muestra también puede tener un pequeño efecto. Por tanto, los datos de patrón de difracción presentados no deben tomarse como valores absolutos. (Jenkins, R & Snyder, R.L. "Introduction to X-Ray Powder Diffractometry" John Wiley & Sons 1996; Bunn, C.W. (1948), Chemical Crystallography, Clarendon Press, Londres; Klug, H. P. & Alexander, L. E. (1974), X-Ray Diffraction Procedures).

De manera general, un error de medición de un ángulo de difracción en un difractograma de polvo de rayos X es aproximadamente más o menos $0,2^\circ$ 2-theta, y tal grado de error de medición debe tenerse en cuenta cuando se consideran patrones de difracción de polvo de rayos X mostrados en las figuras y tablas. Además, debe entenderse que las intensidades pueden fluctuar dependiendo de las condiciones experimentales y la preparación de la muestra (orientación preferida).

Por lo tanto, en un aspecto adicional de la invención se proporciona (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina.

En un aspecto más de la invención, se proporciona una sal farmacéuticamente aceptable de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina.

En un aspecto más de la invención se proporciona una sal clorhidrato de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina.

En un aspecto de la invención, (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en la forma de Forma A.

En un aspecto de la invención, (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma E.

En un aspecto de la invención, (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma I.

En un aspecto de la invención, (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma J.

En un aspecto de la invención, la sal clorhidrato de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma A₁ de sal mono-HCl

En un aspecto de la invención, la sal succinato de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma A₈ de sal succinato.

En un aspecto de la invención, (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma A y está sustancialmente exento de cualquier otra de las Formas.

En un aspecto de la invención, (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma E y está sustancialmente exento de cualquier otra de las Formas.

En un aspecto de la invención, (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma I y está sustancialmente exento de cualquier otra de las Formas.

En un aspecto de la invención, (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma J y está sustancialmente exento de cualquier otra de las Formas.

5 En un aspecto de la invención, la sal clorhidrato de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma A₁ de sal mono-HCl y está sustancialmente exento de cualquier otra de las Formas.

10 En un aspecto de la invención, la sal succinato de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo en forma cristalina está en forma de la Forma A₈ de sal succinato y está sustancialmente exento de cualquier otra de las Formas.

15 La expresión "sustancialmente exento" se refiere a menos del 10 % de otra Forma o Formas, enantiómero o enantiómeros, particularmente menos del 5 %. En otro aspecto "sustancialmente exento" se refiere a menos del 1 % de otra Forma o Formas, enantiómero o enantiómeros. Aquí en la Forma también incluye la Forma amorfa.

20 Como se indica anteriormente en este documento, los compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, definidos en la presente invención, poseen actividad antineoplásica que se cree que surge de la actividad inhibidora del EGFR mutante de activación, y otras propiedades, de los compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Estas propiedades pueden evaluarse, por ejemplo, usando los procedimientos expuestos a continuación.

Ensayo 1: Ensayos de fosforilación celular

25 La línea celular de pulmón humano NCI-H3255 (L858R) se obtuvo de la American Type Culture Collection. Las células NCI-H3255 se mantuvieron en medio BEBM (Lonza; CC-3171), que contenía suero bovino fetal (FBS) al 10 % (Gibco; 10099-141), complementado con kit BEGM (Lonza; CC-4175). La línea celular de pulmón humano PC-9 (EGFR con eliminación del exón 19) se obtuvo de la American Type Culture Collection. Las células PC-9 se mantuvieron en RPMI 1640 (Gibco; 22400-089), que contenía suero bovino fetal al 10 %. La línea celular de pulmón humano NCI-H838 (EGFR de tipo silvestre) se obtuvo de la American Type Culture Collection. Las células NCI-H838 se mantuvieron en RPMI 1640 (Gibco; 22400-089), que contenía suero bovino fetal al 10 %.

35 Todas las células se cultivaron en una incubadora humidificada a 37 °C con un 5 % de CO₂. Los ensayos para medir la fosforilación celular de p-EGFR endógeno en lisados celulares se realizaron de acuerdo con el protocolo descrito en el kit PathScan® de ELISA de tipo sándwich de fosforreceptor de EGF (Tyr1068) (kit de señalización celular, número de catálogo n.º 7240).

40 Se sembraron 100 µl de células (32 000 células/pocillo) en RPMI 1640 + suero bovino fetal al 1 % en placas de cultivo celular de 96 pocillos Corning Costar y se incubaron a 37 °C con un 5 % de CO₂ durante una noche. Las células se dosificaron acústicamente usando un Tecan, con compuestos diluidos en serie en DMSO al 100 %. Las placas de células se incubaron durante 4 h adicionales después de añadir los compuestos, (para NCI-H838: se añadió rhEGF (R&D número de catálogo n.º 236-EG) a la placa de células con una concentración final de 100 ng/ml de rhEGF para estimular 5 minutos), entonces, después de la aspiración del medio, se añadieron 110 µl de tampón de lisis IP (tampón de lisis IP: añadir cóctel de inhibidor de fosfatasa 2 y 3 1:100 (Sigma número de catálogo P5726&P0044), cóctel de inhibidor de proteasa 1:100 (Sigma número de catálogo P8340) a tampón de lisis Pierce IP (Thermo número de catálogo n.º 87788)) a cada pocillo. Las placas se pusieron a 4 °C con rotación a 300 rpm durante 0,5-1 hora. Se transfirieron 100 µl/pocillo de lisis celular a placas recubiertas (kit de señalización celular, número de catálogo n.º 7240) y se incubaron durante una noche a 4 °C con rotación a 300 rpm. Las placas se llevaron de 4 °C a 37 °C con rotación a 300 rpm durante 1 hora. Después de la aspiración y el lavado de las placas con tampón de lavado 1 x, se añadieron 100 µl de anticuerpo de detección (kit de señalización celular número de catálogo n.º 7240) a cada pocillo. La placa se precintó con cinta y se incubó durante 2 horas a 37 °C con rotación a 300 rpm. Después de la aspiración y el lavado de las placas con tampón de lavado 1 x, se añadieron 100 µl de anticuerpo secundario unido a HRP (kit de señalización celular, número de catálogo n.º 7240) a cada pocillo. La placa se precintó con cinta y se incubó durante 1 hora a 37 °C con rotación a 300 rpm. Después de la aspiración y el lavado de las placas con tampón de lavado 1 x, se añadieron 100 µl de sustrato TMB (kit de señalización celular, número de catálogo n.º 7240) a cada pocillo. La placa se precintó con cinta y se incubó durante 30 minutos a 37 °C con 300 rpm. Se añadieron 100 µl de solución de parada (kit de señalización celular, número de catálogo n.º 7240) a las placas y se leyó la absorbancia a 450 nm en 30 minutos en el lector de placa SpectraMax M5e.

60 Los datos obtenidos con cada compuesto se exportaron a un paquete de software adecuado (tal como H-BASE) para realizar el análisis de ajuste de curva. A partir de estos datos, se determinó un valor de CI₅₀ por cálculo de la concentración de compuesto que se requiere para dar un 50 % de efecto.

65 Los datos del ensayo (µM) en el ensayo 1 para los ejemplos de esta solicitud, así como los obtenidos para gefitinib y erlotinib se muestran en la siguiente tabla (donde n = la cantidad de veces que se repitió el experimento):

Compuesto	Cl ₅₀ (NCI-H3255)	Cl ₅₀ (PC-9)	Cl ₅₀ (NCI-H838)
Ejemplo 1	0,0072 ± 0,0013 (n = 12)	0,0074 ± 0,0013 (n = 12)	0,065 ± 0,009 (n = 13)
Ejemplo 3	0,005 (n=1)	0,008 (n=1)	0,04 (n=1)
Ejemplo 4	0,001 (n=1)	0,004 (n=1)	0,04 (n=1)
gefitinib	0,0065 ± 0,002 (n = 42)	0,0062 ± 0,0019 (n = 42)	0,03 ± 0,01 (n = 42)
erlotinib	0,0081 ± 0,0019 (n = 10)	0,0061 ± 0,0019 (n = 10)	0,033 ± 0,007 (n = 10)

Esto demuestra que el ejemplo 1, el ejemplo 2 y el ejemplo 3 tienen potencia comparable a gefitinib y erlotinib.

Ensayo 2: Ensayo de penetración de la barrera hematoencefálica

5

Tanto $K_{p,uu}$ de cerebro como $K_{p,uu}$ de LCR deben ser los parámetros principales medidos y optimizados en el descubrimiento de fármacos para el SNC (Di L et al., Journal of Medicinal Chemistry [2013], 56: 2-12). La $K_{p,uu}$ de cerebro, la relación entre las concentraciones de fármaco no unido en cerebro y en sangre, predice la acción del fármaco sobre tumores metastásicos en cerebro. La metástasis leptomeningea (LM) resulta de la propagación metastásica del cáncer a las leptomeninges, dando lugar a funcionamiento anómalo del sistema nervioso central. La $K_{p,uu LCR}$ representa la distribución del fármaco en el LCR en comparación con el que hay en la sangre, que impulsa la respuesta al fármaco durante el tratamiento de la metástasis leptomeningea.

10

15

20

25

Se realizó ensayo de unión *in vitro* en sangre y cerebro en una placa de HT-diálisis (Gales Ferry, CT) con membrana semipermeable. A sangre diluida (1: 1 con DPBS pH 7,4) y homogeneizado de cerebro (1:3 con DPBS pH 7,4) se les añadió compuesto de ensayo 5 μ M (por triplicado) y se dializaron frente a un volumen igual de tampón PBS 100 mM (pH 7,4) a 37 °C durante 4 horas en una placa de rotación lenta. Al final de la incubación, se recogió una alícuota de 50 μ l del lado receptor y una de 5 μ l de la cámara donante. La muestra de 5 μ l se diluyó adicionalmente con 45 μ l de sangre u homogeneizado cerebral sin tratar. Muestras emparejadas se acoplaron a la matriz con tampón o sangre/homogeneizado cerebral sin tratar y se mezclaron durante 2 min, y después se precipitaron con 150 μ l de acetonitrilo frío con 100 ng/ml de tolbutamida como patrón interno. Después de centrifugar a 4000 rpm durante 20 min, el sobrenadante se diluyó con solución acuosa de ácido fórmico al 0,1 % y se analizó para CL/EM/EM (API 4000, Applied Biosystems, Foster City). La fracción no unida (f_u) del compuesto de ensayo en el homogeneizado cerebral y la sangre diluida se calculó por la relación de respuesta secundaria al tampón a la respuesta lateral al homogeneizado cerebral/sangre, y la fracción no unida ($f_{u,bl}$ y $f_{u,br}$) del compuesto de ensayo en sangre no diluida y tejido se calculó a partir de la f_u medida en homogeneizado y sangre diluida con la siguiente ecuación: $f_{u,bl}(f_{u,br}) = (1/D) / [(1/f_u - 1) + 1/D]$. D es el factor de dilución.

30

35

Un modelo de absorción oral corta (SOA) es un modelo de cribado *in vivo* para identificar la penetración cerebral de un compuesto. A seis ratas Han Wistar macho adquiridas de Beijing Vital River se les dosificó por vía oral el compuesto a 2 mg/kg en metilcelulosa al 1 %. A las 0,25, 0,5, 1,2, 4 y 7 horas después de la dosis, se recogió líquido cefalorraquídeo (LCR) de la cisterna magna y se recogieron muestras de sangre (>60 μ l/punto temporal/cada sitio) mediante punción cardíaca, en tubos coagulados con EDTA diferentes, y después se diluyeron inmediatamente con 3 volúmenes de agua. El tejido cerebral se recogió y homogeneizó en 3 volúmenes de solución salina tamponada con fosfato 100 mM (pH 7,4). Todas las muestras se almacenaron a ~-70 °C antes del análisis por CL/EM/EM.

40

45

Los patrones se prepararon añadiendo sangre, homogeneizado cerebral y LCR artificial sin tratar cubriendo de 0,2 a 500 ng/ml. El tejido cerebral homogeneizado junto con las muestras de sangre se precipitaron añadiendo 3 volúmenes de acetonitrilo frío que contenía patrón interno (40 ng/ml de dexametasona y 40 ng/ml de diclofenaco), y se precipitaron 10 μ l de muestras de LCR con 100 μ l de acetonitrilo frío que contenía patrón interno. Después de 2 min de agitación con vórtice y 5 min de centrifugación a 14 000 rpm, se analizó el sobrenadante por CL/EM/EM (API 4000, Applied Biosystems, Foster City). Se procesaron dos conjuntos de curvas patrón al inicio y al final de cada lote de análisis de muestras de sangre. Para muestras de cerebro y LCR, se analizó una curva patrón junto con las muestras de ensayo.

50

Los niveles cerebrales totales, expresados como relación de cerebro/sangre ($K_{p,cerebro}$) se midieron por $ABC_{cerebro}/ABC_{sangre}$ en roedores después de administración oral. La fracción libre de compuesto de ensayo en matriz biológica se determinó por ensayo de unión *in vitro* en sangre y cerebro. La $K_{p,uu}$ de cerebro $K_{p,uu}$ de LCR se calcularon por la siguiente ecuación: $K_{p,uu \text{ cerebro}} = ABC_{cerebro}/ABC_{sangre} \times (f_{u,cerebro}/f_{u,sangre})$ y $K_{p,uu \text{ LCR}} = ABC_{LCR}/(ABC_{sangre} \times f_{u,sangre})$.

Los datos del ensayo en el ensayo 2 para los ejemplos de esta solicitud, así como los datos obtenidos para sapitinib (forma de base libre) se muestran en la siguiente tabla:

Compuesto	$K_{p,uu}$ cerebro	$K_{p,uu}$ LCR
Ejemplo 1	0,8-1,3 (n = 2)	1,0-1,3 (n = 2)
Ejemplo 3	1,6 (n = 1)	2,6 (n = 1)
sapitinib	0,13 (n = 1)	Por debajo del límite de cuantificación

que demuestran las propiedades superiores de penetración de la barrera hematoencefálica de los compuestos de la presente invención, en comparación con sapitinib.

5 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 La composición puede estar en una forma adecuada para administración oral, por ejemplo, como un comprimido o cápsula, para inyección parenteral (incluyendo intravenosa, subcutánea, intramuscular, intravascular o infusión) como una solución estéril, suspensión o emulsión, para administración tópica como una pomada o crema o para administración rectal como un supositorio. Particularmente, la composición puede estar en una forma adecuada para administración oral.

15 En general, las composiciones anteriores pueden prepararse de una manera convencional usando excipientes convencionales.

20 El compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administrará a un animal de sangre caliente a una dosis unitaria dentro del intervalo de 0,01-2000 mg/kg, particularmente 2,5-1000 mg/kg, particularmente 5-500 mg/kg, y esta debe proporcionar una dosis terapéuticamente eficaz. Sin embargo, la dosis diaria necesariamente variará dependiendo del hospedador tratado, la vía particular de administración y la gravedad de la enfermedad que se está tratando. Por consiguiente, la dosificación óptima puede determinarse por el médico que está tratando a cualquier paciente particular.

25 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento, para su uso en un método de tratamiento del organismo humano o animal por terapia.

30 Como resultado de su actividad inhibidora del EGFR mutante de activación, los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se espera que sean útiles en el tratamiento de enfermedades o afecciones mediadas solamente o en parte por EGFR mutante de activación, por ejemplo, cáncer. Los tipos de cáncer que pueden ser susceptibles a tratamiento usando los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, incluyen, pero sin limitación, cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucemia, linfoma, linfoma no hodgkiniano, carcinoma broncopulmonar, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer renal, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma y mesotelioma. En una realización particular de la invención, el tipo de cáncer que puede ser susceptible a tratamiento usando el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es carcinoma broncopulmonar no microcítico (CPNM). En una realización particular adicional, las células de CPNM en el animal de sangre caliente poseen o han demostrado previamente poseer mutaciones de activación en el gen de EGFR.

45 El compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es útil en el tratamiento de patologías en que está implicado el EGFR mutante de activación. En un aspecto de la invención donde se menciona el EGFR mutante de activación, este se refiere a una o más mutaciones en el sitio de unión de ATP (dominio cinasa) del gen de EGFR, particularmente alrededor de los exones 18-21, tal como las descritas en el documento WO 2005/094357. En un aspecto de la invención donde se menciona el EGFR mutante de activación, este se refiere al EGFR mutante de activación L858R y/o el EGFR mutante de activación de eliminación del exón 19. En un aspecto de la invención donde se menciona el EGFR mutante de activación, este se refiere al EGFR mutante de activación L858R y el EGFR mutante de activación de eliminación del exón 19. En un aspecto de la invención donde se menciona el EGFR mutante de activación, este se refiere al EGFR mutante de activación L858R. En otro aspecto de la invención donde se menciona el EGFR mutante de activación, este se refiere al EGFR mutante de activación de eliminación del exón 19.

55 Se contempla que, para los métodos de tratamiento del cáncer mencionados en este documento, los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se administrarán a un mamífero, más particularmente un ser humano. De forma similar, los usos de los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para el tratamiento del cáncer mencionado en este documento, se

contempla que los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se administrarán a un mamífero, más particularmente un ser humano.

5 De acuerdo con otro aspecto de la invención, por lo tanto, se proporcionan los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, como se define anteriormente en este documento, para su uso como medicamento.

10 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento en la fabricación de un medicamento para la inhibición del EGFR mutante de activación en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano.

15 De acuerdo con este aspecto de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento en la fabricación de un medicamento para la producción de un efecto antineoplásico en un animal de sangre caliente tal como el ser humano.

20 De acuerdo con una característica adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucemia, linfoma, linfoma no hodgkiniano, carcinoma broncopulmonar, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer renal, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma y mesotelioma.

25 De acuerdo con una característica adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de CPNM.

30 De acuerdo con una característica adicional de este aspecto de la invención, se proporciona un método de inhibición del EGFR mutante de activación en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano, que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento.

35 De acuerdo con una característica adicional de este aspecto de la invención, se proporciona un método para producir un efecto antineoplásico en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano, que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento.

40 De acuerdo con una característica adicional de este aspecto de la invención, se proporciona un método para producir un efecto antineoplásico en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano, que necesita dicho tratamiento, que comprende (1) determinar si el animal de sangre caliente tiene o no una mutación de activación de EGFR en la célula tumoral y (2) si es así, administrar a dicho animal una cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento.

45 De acuerdo con una característica adicional de este aspecto de la invención, se proporciona un método de tratamiento de cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucemia, linfoma, linfoma no hodgkiniano, carcinoma broncopulmonar, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer renal, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma y mesotelioma, en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano, que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento.

50 De acuerdo con una característica adicional de este aspecto de la invención, se proporciona un método de tratamiento de CPNM, en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano, que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento.

60 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento para su uso en la inhibición del EGFR mutante de activación en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano.

De acuerdo con este aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento para su uso en la producción de un efecto antineoplásico en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano.

De acuerdo con una característica adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento en el tratamiento de cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucemia, linfoma, linfoma no hodgkiniano, carcinoma broncopulmonar, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer renal, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma y mesotelioma.

De acuerdo con una característica adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento en el tratamiento de CPNM.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en la inhibición del EGFR mutante de activación en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en la producción de un efecto antineoplásico en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucemia, linfoma, linfoma no hodgkiniano, carcinoma broncopulmonar, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer renal, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma y mesotelioma en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente en este documento, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de CPNM en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones mencionados en este documento donde se menciona cáncer, dicho cáncer puede seleccionarse de cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucemia, linfoma, linfoma no hodgkiniano, carcinoma broncopulmonar, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer renal, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma y mesotelioma.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones mencionadas en este documento, donde se menciona cáncer, particularmente dicho cáncer puede seleccionarse de carcinoma broncopulmonar. En un aspecto adicional, particularmente dicho cáncer puede seleccionarse de carcinoma broncopulmonar no microcítico. En un aspecto adicional, particularmente dicho cáncer puede seleccionarse de carcinoma broncopulmonar no metastásico. En un aspecto adicional, particularmente dicho cáncer puede seleccionarse de carcinoma broncopulmonar no microcítico metastásico.

El compuesto de la presente invención puede aplicarse en el contexto de tratamiento con adyuvante y/o de 1.^a línea y/o de 2.^a línea de pacientes con CPNM que portan el EGFR mutante de activación, con o sin metástasis al SNC, particularmente metástasis cerebral y/o metástasis leptomenígea.

En otro aspecto, el cáncer está en un estado no metastásico.

En otro aspecto, el cáncer está en un estado metastásico.

En otro aspecto de la invención, particularmente la metástasis es metástasis al SNC.

En otro aspecto, particularmente la metástasis al SNC es metástasis cerebral.

En otro aspecto, particularmente la metástasis al SNC es metástasis leptomenígea. Ciertos pacientes con CPNM con metástasis al SNC, particularmente metástasis cerebral y/o metástasis leptomenígea, muestran síntomas del SNC, tales como cefalea y vómitos. Para estos pacientes, puede usarse radioterapia en todo el cerebro (WBRT) para mejorar estos síntomas. El compuesto de la presente invención puede ser capaz de potenciar el efecto antitumoral de WBRT, así como mejorar adicionalmente los síntomas del SNC cuando se usa en combinación con WBRT.

El tratamiento de la actividad del EGFR mutante de activación definido anteriormente en este documento puede aplicarse como monoterapia o puede implicar, además del compuesto de la invención, cirugía convencional o radioterapia (por ejemplo, WBRT como se describe anteriormente en este documento) o quimioterapia. Dicha quimioterapia puede incluir uno o más de los siguientes agentes antitumorales:

- (i) un anticuerpo anti-CTLA-4;
- (ii) (2-hidroxietoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3*H*-benzoimidazol-5-carboxílico (como se divulga en el documento WO 2007/076245) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- (iii) un anticuerpo anti-PD-L1;
- (iv) 1-[(1*S*)-1-(imidazo[1,2-*a*]piridin-6-il)etil]-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]pirazina (compuesto 270 del documento WO 2011/079804) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- (v) un anticuerpo anti-PD-1; o
- (vi) un anticuerpo agonista de OX40.

Particularmente, un anticuerpo anti-CTLA-4 es tremelimumab (como se divulga en el documento US 6.682.736). En otro aspecto de la invención, particularmente un anticuerpo anti-CTLA-4 es ipilimumab (comercializado por Bristol Myers Squibb como YERVOY®).

Particularmente, la "(2-hidroxietoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3*H*-benzoimidazol-5-carboxílico (como se divulga en el documento WO 2007/076245) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo" es la sal de hidrogenosulfato de la (2-hidroxietoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3*H*-benzoimidazol-5-carboxílico. Más particularmente la sal de hidrogenosulfato es compuesto:H₂SO₄ 1:1.

Particularmente, un anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo como se divulga en el documento US 20130034559 (MedImmune). En otro aspecto de la invención, particularmente un anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo como se divulga en el documento US 2010/0203056 (Genentech/Roche). En otro aspecto de la invención, particularmente un anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo como se divulga en el documento US 20090055944 (Medarex). En otro aspecto de la invención, particularmente un anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo como se divulga en el documento US 20130323249 (Sorrento Therapeutics).

Particularmente, un anticuerpo anti-PD-1 es MRK-3475 como se divulga en el documento WO 2009/114335 y el documento US 8.168.757 (Merck). En otro aspecto de la invención, particular es Nivolumab, un anticuerpo anti-PD-1 como se divulga en el documento WO 2006/121168 o el documento US 8.008.449 (Medarex). En otro aspecto de la invención, particularmente un anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo como se divulga en el documento WO2009/101611 (CureTech). En otro aspecto de la invención, particularmente un anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo como se divulga en el documento WO2012/145493 (Amplimmune). En otro aspecto de la invención, particularmente un anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo como se divulga en el documento US 7.488.802 (Wyeth/MedImmune).

Particularmente, un anticuerpo anti-OX40 es un anticuerpo como se divulga en el documento US20110123552 (Crucell). En otro aspecto de la invención, particularmente un anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo como se divulga en el documento US 20130280275 (Board of Regents, Univ. of Texas). En otro aspecto de la invención, particularmente un anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo como se divulga en el documento WO 99/42585 (Agonox) y el documento WO 95/12673 y el documento WO 95/21915.

De acuerdo con este aspecto de la invención, se proporciona una combinación adecuada para su uso en el tratamiento del cáncer, que comprende un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente en este documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno cualquiera de los agentes antitumorales enumerados en (i) - (iv) anteriores.

Por lo tanto, en un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con un agente antitumoral seleccionado de uno enumerado en (i) - (iv) en este documento anteriormente. En este documento, cuando se usa el término "combinación", debe entenderse que este se refiere a administración simultánea, separada o secuencial. En un aspecto de la invención, "combinación" se refiere a administración simultánea. En otro aspecto de la invención, "combinación" se refiere a administración separada. En un aspecto adicional de la invención, "combinación" se refiere a administración

secuencial. Cuando la administración es secuencial o separada, el retardo en la administración del segundo componente no debe ser tal que pierda el efecto beneficioso de la combinación.

5 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con un agente antitumoral seleccionado de uno enumerado en (i) - (iv) en este documento anteriormente, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con un agente antitumoral seleccionado de uno enumerado en (i) - (iv) en este documento anteriormente, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en la producción de actividad de EGFR mutante de activación.

15 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con un agente antitumoral seleccionado de uno enumerado en (i) - (iv) en este documento anteriormente, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en la producción de un efecto antineoplásico.

20 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con un agente antitumoral seleccionado de uno enumerado en (i) - (iv) en este documento anteriormente, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucemia, linfoma, linfoma no hodgkiniano, carcinoma broncopulmonar, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer renal, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma y mesotelioma.

30 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con un agente antitumoral seleccionado de uno enumerado en (i) - (iv) en este documento anteriormente, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de CPNM.

35 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un kit que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con un agente antitumoral seleccionado de uno enumerado en (i) - (iv) en este documento anteriormente.

40 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un kit que comprende:

- 45 a) un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en una primera forma de dosificación unitaria;
- b) un agente antitumoral seleccionado de uno enumerado en (i) - (iv) en este documento anteriormente; en una segunda forma de dosificación unitaria; y
- c) un medio de recipiente para contener dichas primera y segunda formas de dosificación unitaria.

50 Además de su uso en medicina terapéutica, los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, también son útiles como herramientas farmacológicas en el desarrollo y normalización de sistemas de ensayo *in vitro* e *in vivo* para la evaluación de los efectos de la actividad inhibidora del EGFR mutante de activación en animales de laboratorio tales como gatos, perros, conejos, monos, ratas y ratones, como parte de la investigación de nuevos agentes terapéuticos.

55 En las demás composiciones farmacéuticas, procesos, métodos, usos y características de fabricación de medicamentos anteriores, también se aplican las realizaciones alternativas y preferidas de los compuestos de la invención descritos en este documento.

Ejemplos

60 Ahora la invención se ilustrará en los siguientes Ejemplos en los que, generalmente:

- (i) en general, el curso de las reacciones se siguió por cromatografía líquida espectrometría de masas (CLEM) o cromatografía de capa fina (TLC); los tiempos de reacción que se dan no son necesariamente los mínimos posibles;
- 65 (ii) cuando es necesario, las soluciones orgánicas se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro o sulfato sódico anhidro, se realizaron procedimientos de tratamiento usando técnicas de separación de capas tradicionales, se realizaron evaporaciones tanto por evaporación rotatoria a presión reducida como en un Genevac HT-4 / EZ-2.

(iii) los rendimientos, cuando están presentes, no son necesariamente los máximos posibles, y cuando es necesario, las reacciones se repitieron si se requería una cantidad mayor del producto de reacción;

(iv) en general, las estructuras de los productos finales se confirmaron por resonancia magnética nuclear (RMN) y/o técnicas espectrales de masas; se obtuvieron datos espectrales de masas de electronebulización usando un espectrómetro de masas Waters ZMD o Waters ZQ LC adquiriendo datos tanto de ion positivo como negativo, generalmente, solo se indican los iones relacionados con la estructura precursora; se midieron valores de desplazamiento químico de RMN de protón en la escala delta a 400 MHz usando un espectrómetro Bruker NMR o un espectrómetro Varian NMR. Se han usado las siguientes abreviaturas: s, singlete; d, doblete; dp, doblete parcial; t, triplete; c, cuadruplete; m, multiplete; a, ancho. Los protones intercambiables no siempre se observan o se indican en la RMN de productos finales debido a intercambio con disolvente deuterado o agua deuterada ventajosa en el disolvente o la señal se resuelve pobremente y/o es muy ancha;

(v) los intermedios no necesariamente se purificaron por completo pero sus estructuras y pureza se ensayaron mediante TLC, HPLC analítica y/o análisis de RMN;

(vi) a menos que se indique otra cosa, se realizaron cromatografía en columna (por el procedimiento ultrarrápido) y cromatografía líquida de media presión (MPLC) en gel de sílice Merck Kiesel (Art. 9385) o usando cartuchos de sílice preempaquetados en un equipo de cromatografía ultrarrápida semiautomatizada (SFC) (por ejemplo un CombiFlash Companion); y

(vii) se han usado las siguientes abreviaturas:

Boc	<i>terc</i> -butiloxicarbonilo;
CD ₃ OD	deuterometanol;
DMSO-d ₆	hexadeuterodimetilsulfóxido
CDCl ₃	deuterocloroformo;
PE	éter de petróleo;
IPA	isopropanol;
iPrOAc	acetato de isopropilo;
MTBE	metil <i>terc</i> -butil éter;
DCM	diclorometano;
THF	tetrahidrofurano;
TA	temperatura ambiente;
MeOH	metanol;
EtOH	etanol; y
EtOAc	acetato de etilo.

Difracción de polvo de rayos X

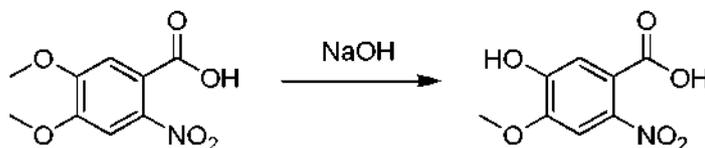
Instrumento analítico: Panalytical Empyrean. El difractograma de polvo de rayos X se determinó montando una muestra del material cristalino en un solo portacrystal de Si y dispersando la muestra en una capa fina con la ayuda de una platina de microscopio. La posición de 2θ se calibró frente a un patrón de polvo de Si Panalytical 640. La muestra se irradió con rayos X generados mediante un tubo de foco largo y fino de cobre operado a 45 kV y 40 mA con una longitud de onda de Kα1 = 1,540598 angstroms y Kα2 = 1,544426 angstroms (la relación de intensidad Kα2/Kα1 es 0,50). La fuente de rayos X colimada se pasó a través de una rendija de divergencia programada ajustada a 10 mm y la radiación reflejada se dirigió a través de una rendija antidispersión de 5,5 mm. La muestra se expuso durante 12,7 segundos por incremento de 2-theta de 0,0167° (modo de exploración continua) a lo largo del intervalo de 3 grados a 40 grados 2-theta en modo theta-theta. El tiempo de ejecución fue de 3 minutos y 57 segundos. El instrumento se equipó con un detector RTMS (X'Celerator). El control y la captura de datos fueron por medio de un Dell Optiplex 780 XP funcionando con un software de recogida de datos. Las personas expertas en la técnica de difracción de polvo de rayos X se darán cuenta de que la intensidad relativa de picos puede verse afectada por, por ejemplo, granos con un tamaño por encima de 30 micrómetros y relaciones de aspecto no unitarias que pueden afectar al análisis de las muestras. El experto también se dará cuenta de que la posición de reflexiones puede verse afectada por la altura precisa a la que la muestra se sitúa en el difractómetro y la calibración cero del difractómetro. La planaridad superficial de la muestra también puede tener un pequeño efecto. Por tanto, los datos de patrón de difracción presentados no deben tomarse como valores absolutos.

Calorimetría de exploración diferencial

Instrumento analítico: TA Instruments Q200 o Q2000 DSC. Típicamente menos de 5 mg de material contenido en una bandeja de aluminio convencional equipada con una tapa se calentó a lo largo del intervalo de temperaturas de 25 °C a 300 °C a una tasa de calentamiento constante de 10 °C por minuto. Se usó un gas de purga usando nitrógeno - caudal 50 ml por minuto.

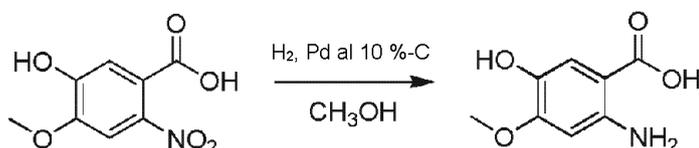
Intermedio 1Ácido 5-hidroxi-4-metoxi-2-nitrobenzoico

5



Se disolvió ácido 4,5-dimetoxi-2-nitrobenzoico (145 g, 0,639 mol) en una solución de hidróxido sódico (6 N, 600 ml) y se calentó a 100 °C durante 3 h. La mezcla se enfrió a TA y se vertió en una mezcla de ácido clorhídrico concentrado y hielo picado (pH<2). La mezcla se filtró y la torta de filtro se secó para dar el Intermedio 1 (149 g, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo, que se usó sin purificación adicional. RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 7,34 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 3,80 (s, 3H).

10

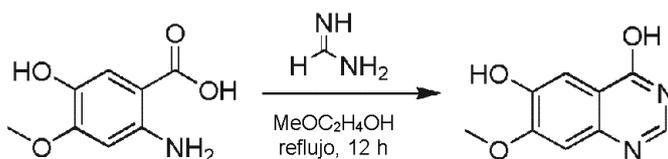
Intermedio 215 Ácido 2-amino-5-hidroxi-4-metoxibenzoico

Una mezcla del Intermedio 1 (50 g, 93,85 mmol) y Pd al 10 %/C (5 g) en MeOH (1,2 l) se agitó en una atmósfera de H₂ (0,34 MPa (50 psi)) a TA durante 4 h. La mezcla se filtró y se lavó con MeOH (10 x 1 l). Los extractos de MeOH combinados se concentraron para proporcionar el Intermedio 2 (27,7 g, rendimiento del 64 %) en forma de un sólido de color negro que se usó sin purificación adicional.

20

Intermedio 3

25

7-Metoxiquinazolin-4,6-diol

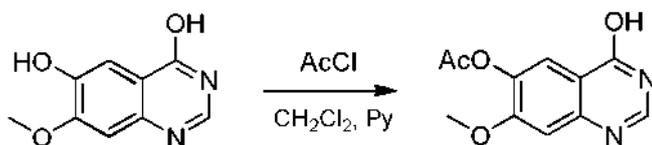
A una suspensión del Intermedio 2 (88 g, 0,48 mol) en 2-metoxietanol (2 l) se añadió formamidina (101 g, 0,96 mol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante una noche. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con agua (1,5 l) y se neutralizó (a pH = 7) con amoníaco. La mezcla se filtró y el precipitado se lavó con agua. El precipitado se secó a presión reducida para proporcionar el Intermedio 3 en forma de un sólido de color pardo (62 g, rendimiento del 67 %). RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 7,89 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 3,88 (s, 3H).

30

35

Intermedio 4Acetato de 4-hidroxi-7-metoxiquinazolin-6-ilo

40



A una suspensión del Intermedio 3 (52 g, 0,27 mol) y piridina (53,6 g, 0,68 mol) en DCM anhidro (1 l) se le añadió gota a gota cloruro acético (52,9 g, 0,68 mol) y la mezcla se agitó durante una noche a TA. La mezcla se vertió en agua (1 l) y se extrajo con DCM varias veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron para proporcionar el Intermedio 4 en forma de un sólido de color negro (63,2 g,

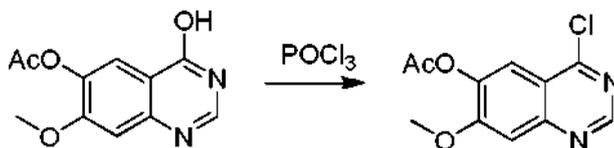
45

rendimiento del 100 %). RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 8,62 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,37 (s, 1H), 3,95 (s, 3H), 2,74 (s, 3H).

Intermedio 5

5

Acetato de 4-cloro-7-metoxiquinazolin-6-ilo

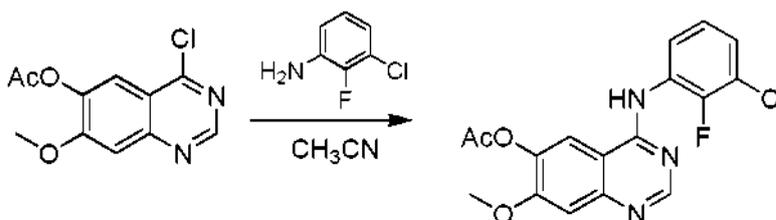


10 Una suspensión del Intermedio 4 (75,6 g, 0,323 mol) en POCl₃ (287 ml) se calentó a reflujo durante 0,5 h. La mezcla de reacción se concentró y se diluyó con DCM (500 ml), se vertió en agua (500 ml), se filtró y se lavó con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación por cromatografía (EP/EtOAc = 1/1) dio el Intermedio 5 (55 g, rendimiento del 67 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 8,95 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 4,02 (s, 1H), 2,39 (s, 1H).

15

Intermedio 6

Acetato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo



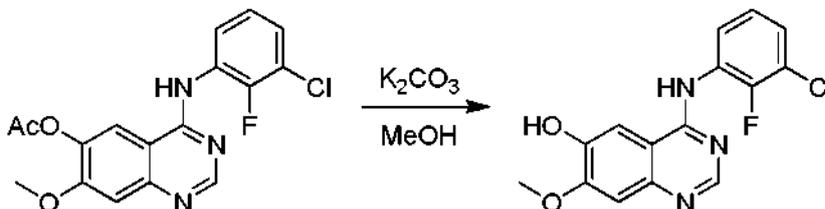
20

A una suspensión del Intermedio 5 (100 g, 0,396 mol) en acetonitrilo (4 l) se le añadió 2-fluoro-3-cloroanilina (60,5 g, 0,416 mol) y la mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante una noche. El precipitado se recogió por filtración y se secó al vacío para proporcionar el Intermedio 6 (181 g, pureza del 80 %) en forma de un sólido de color blanco que se usó para la siguiente etapa directamente sin purificación. RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 8,93 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 7,67-7,63 (m, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,56-7,52 (m, 1H), 7,39-7,35 (m, 1H), 4,02 (s, 3H), 2,39 (s, 3H).

25

Intermedio 7

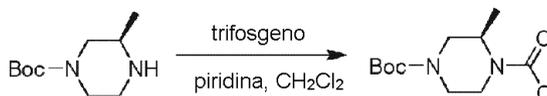
4-[(3-Cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ol



35 A una solución del Intermedio 6 (181 g, 0,396 mol) en MeOH (2 l) se le añadió carbonato potásico (138 g, 1 mol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche. La mezcla de reacción se filtró y el sólido se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el Intermedio 7 (280 g, pureza del 60 %, contenía carbonato potásico). RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 8,01 (s, 1H), 7,61-7,58 (m, 1H), 7,27-7,24 (m, 1H), 7,17-7,13 (m, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 3,79 (s, 3H).

Intermedio 8

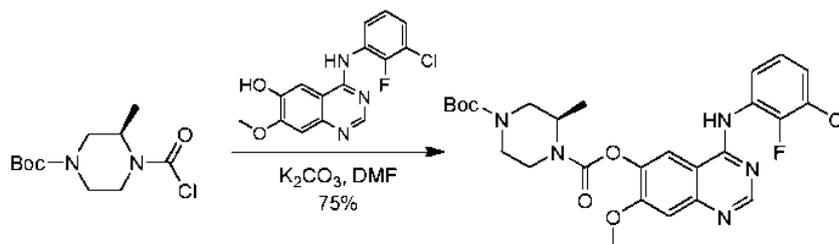
(3R)-4-(Clorocarbonil)-3-metilpiperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo



A una mezcla de trifosgeno (23 g, 75 mmol) en DCM anhidro (250 ml) se le añadió gota a gota piridina (18 g, 225 mmol), seguido de la adición de (3R)-3-metilpiperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo (15 g, 75 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó durante una noche a TA. La TLC mostró que el material de partida se había consumido. La mezcla se concentró para proporcionar el Intermedio 8 en forma de un sólido de color amarillo, que se usó sin purificación adicional.

Intermedio 9

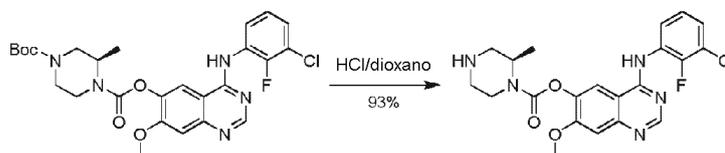
1-[4-Cloro-2-fluorofenil]amino]-7-metoxiquinazolin-6-il} (2R)-2-metilpiperazin-1,4-dicarboxilato de 4-*tert*-butilo



Una mezcla del Intermedio 7 (19,2 g, 60 mmol), el Intermedio 8 preparado de acuerdo con el procedimiento anterior y carbonato potásico (16,6 g, 120 mmol) en DMF anhidra (300 ml) se agitó durante una noche a TA. La mezcla de reacción se vertió en agua (250 ml) y se filtró, y la torta de filtro se secó al vacío para proporcionar el Intermedio 9 (25 g, rendimiento del 75 %) en forma de un sólido de color amarillo. HPLC: $t_R = 2,68$ min en cromatografía 10-80AB_6 min (Ultimate XB-C18, 3,0 x 50 mm, 3 μ m). CLEM: $t_R = 0,792$ min en cromatografía 5-95AB_1,5 min (Welch Xtimate C18, 2,1 x 30 mm, 3 μ m), EM (IEN) m/z 546,0 $[M+H]^+$.

Intermedio 10

(2R)-2-Metilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo

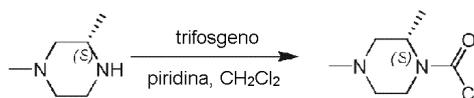


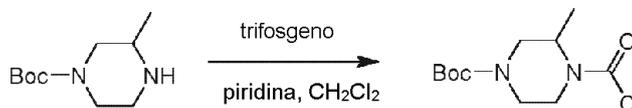
Una mezcla del Intermedio 9 (8,3 g, 15 mmol) en DCM (100 ml) y HCl/dioxano (10 ml, 4 M) se agitó durante 30 min a TA. Después de la filtración, el sólido se recogió y se redisolvió en agua, y después se ajustó a pH = 8 con NaHCO_3 saturado. El precipitado se recogió y se lavó con CH_2Cl_2 . El sólido se secó al vacío para dar el Intermedio 10 (8 g, pureza del 85 %) en forma de un sólido de color amarillo. Este producto en bruto se usó para la siguiente etapa sin purificación.

Intermedio 11

Cloruro de (S)-2,4-dimetilpiperazin-1-carbonilo

A una solución de trifosgeno (1,04 g, 3,5 mmol) en DCM (20 ml) en una atmósfera de nitrógeno se le añadió gota a gota piridina (2,3 g, 28,0 mmol) a 0 °C, seguido de la adición de (S)-1,3-dimetilpiperazina (800 mg, 7,0 mmol) en DCM (30 ml), la mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó durante una noche mientras se controlaba por TLC ($F_R = 0,9$, PE: EtOAc = 1:1). La mezcla se concentró para dar el Intermedio 11 (3 g, en bruto) que se usó sin purificación.

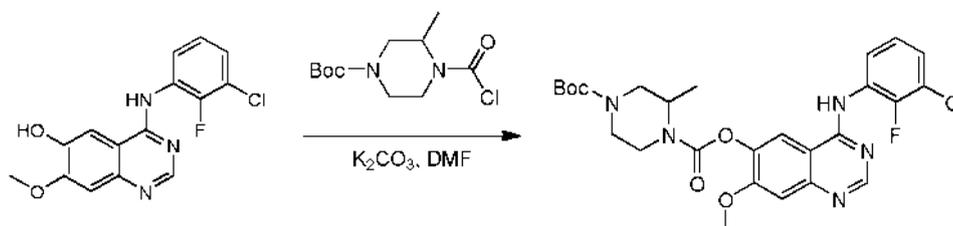


Intermedio 12(4-(Clorocarbonil)-3-metilpiperazin-1-carboxilato de (±)-terc-butilo

5

A una mezcla de trifosgeno (23 g, 75 mmol) en DCM anhidro (250 ml) se le añadió gota a gota piridina (18 g, 225 mmol) seguido de la adición de 3-metilpiperazin-1-carboxilato de (±)-terc-butilo (15 g, 75 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó durante una noche a TA. La TLC mostró que el material de partida se había consumido. La mezcla se concentró para proporcionar el Intermedio 12 en forma de un sólido de color amarillo, que se usó sin purificación adicional.

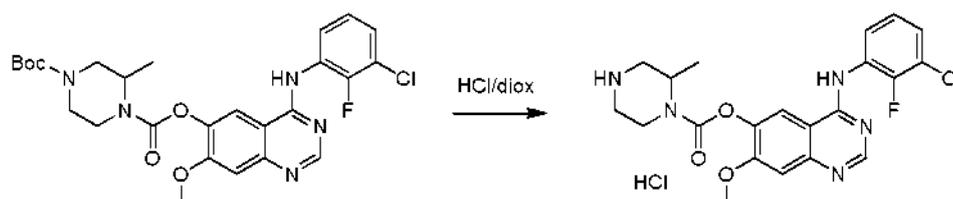
10

Intermedio 1315 1-[4-[2-Fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-il]2-metilpiperazin-1,4-dicarboxilato de (±)-4-terc-butilo

20

Una mezcla del Intermedio 7 (19,2 g, 60 mmol), el Intermedio 12 preparado de acuerdo con el procedimiento anterior y carbonato potásico (16,6 g, 120 mmol) en DMF anhidra (300 ml) se agitó durante una noche a TA. La mezcla de reacción se vertió en agua (250 ml) y se filtró, y la torta de filtro se secó al vacío para proporcionar el Intermedio 13 (25 g, rendimiento del 75 %) en forma de un sólido de color amarillo. HPLC: t_R = 2,68 min en cromatografía 10-80AB_6 min (Ultimate XB-C18, 3,0 x 50 mm, 3 μm). CLEM: t_R = 0,792 min en cromatografía 5-95AB_1,5 min (Welch Xtimate C18, 2,1 x 30 mm, 3 μm), EM (IEN) m/z 546,0 [M+H]⁺.

25

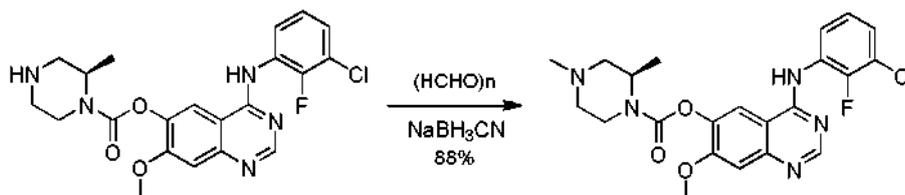
Intermedio 14:(±)-4-[(3-Cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-il-2-metilpiperazin-1-carboxilato

30

Una mezcla del Intermedio 13 (25 g, 46 mmol) en una solución de HCl/dioxano (250 ml, 4 M) se agitó durante 30 min a TA. El sólido resultante se recogió y se redisolvió en agua, y después se ajustó a pH = 8 con NaHCO₃ saturado. El precipitado se recogió y se lavó con CH₂Cl₂. El sólido se secó al vacío para dar el producto (19 g, rendimiento del 93 %) en forma de un sólido de color amarillo. HPLC: t_R = 1,58 min en cromatografía 10-80AB_6 min (Ultimate XB-C18, 3,0 x 50 mm, 3 μm). CLEM: t_R = 0,638 min en cromatografía 5-95AB_1,5 min (Welch Xtimate C18, 2,1 x 30 mm, 3 μm), EM (IEN) m/z 445,1 [M+H]⁺. RMN ¹H (CD₃OD 400 MHz): δ 8,44 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,60 (t, 1H), 7,39 (t, 1H), 7,27-7,20 (m, 2H), 4,41 (s, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,08-2,79 (m, 4H), 1,43 (s a, 3H).

35

40 Ejemplo 1(2R)-2,4-Dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo



A una mezcla del Intermedio 10 (8 g, 15 mmol, pureza del 85 %) y paraformaldehído (1 g, 32 mmol) en MeOH (100 ml) se le añadió cianoborohidruro sódico (2 g, 32 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío, el residuo se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa de fase inversa (columna: Synergi 77 x 250, 10 μ m, gradiente: 5-35 % de B (A = agua/ácido fórmico al 0,05 %, B = acetonitrilo), caudal: 140 ml/min). La fracción que contenía el producto deseado se neutralizó con carbonato potásico saturado y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se concentró al vacío y se criodesecó para proporcionar el Ejemplo 1 (4 g, rendimiento del 58 % en 2 etapas) en forma de un sólido de color blanco.

CL-EM: $t_R = 1,406$ min en cromatografía de 4 min, EM (IEN) m/z 460,0 [M+H]⁺

SFC: $t_R = 1,637$ min en cromatografía de 3 min (Chiralpak AD-3, D.I. 50 x 4,6 mm, 3 μ m), EM (IEN) m/z 460,1 [M+H]⁺

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 8,76 (s, 1H), 8,53-8,48 (m, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,19 - 7,15 (m, 2H), 4,51-4,50 (m, 1H), 4,20-4,05 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,50-3,30 (m, 1H), 2,87 (d, 1H), 2,73 (d, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,35-2,25 (m, 1H), 2,13-2,11 (m, 1H), 1,47 (s, 3H).

Ejemplo 1, Forma A

El material de la Forma A se produjo calentando el Ejemplo 1 a 140 °C. Aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1 se pusieron en una bandeja de aluminio. La bandeja se calentó a 140 °C con la tasa de calentamiento de 10 °C/min usando calorimetría de exploración diferencial (DSC) y posteriormente se enfrió a TA en una atmósfera de gas de nitrógeno.

El material de la Forma A también se produjo mediante evaporación lenta del Ejemplo 1 en IPA. Aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1 se pesaron en un vial de 3 ml, se añadieron 0,25 ml de IPA para disolver el sólido. Después de evaporar a TA durante 24 horas, se obtuvo el Ejemplo 1 (Forma A).

El material de la Forma A también se produjo suspendiendo el Ejemplo 1 en MTBE durante 24 horas a 50 °C. Aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1 se pesaron en un vial de 3 ml, se añadió 1 ml de MTBE y después la suspensión se agitó durante 24 horas a 50 °C para obtener el Ejemplo 1 (Forma A).

El material de la Forma A también se produjo mediante adición de un antidisolvente de EtOAc/heptano. Aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1 se pesaron en un vial de 5 ml, se añadió 1 ml de EtOAc para disolver el sólido y se añadieron lentamente los 4 ml de heptano antidisolvente al vial. La mezcla se agitó durante 24 horas a TA para obtener el Ejemplo 1 (Forma A).

Los espectros de difracción de polvo de rayos X para el Ejemplo 1 (Forma A) mostraron que el material era cristalino. El material tenía un punto de fusión de 192,4 °C (inicio).

Ejemplo 1, Forma E

Aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1 se pesaron en un vial de 5 ml, se añadieron 0,25 ml de THF para disolver el sólido, después se añadieron 4 ml de heptano antidisolvente al vial y la mezcla se agitó durante 24 horas a TA antes de aislarse el sólido. La muestra (Forma E) se determinó que era cristalina por XRPD y tenía un punto de fusión de 194,2 °C (inicio).

Ejemplo 1, Forma I

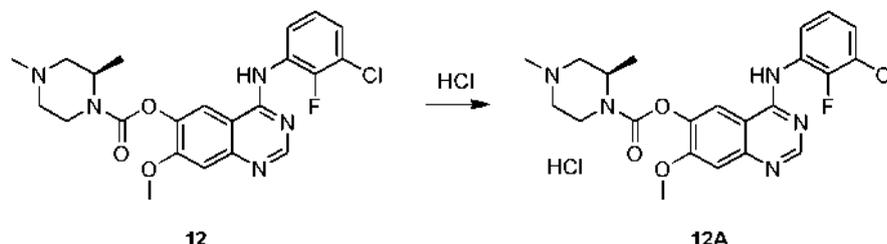
Aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1 se pesaron en un vial de 3 ml, se añadió 1 ml de H₂O al vial y la suspensión se agitó durante 24 horas a 50 °C antes de aislarse el sólido. La muestra (Forma I) se determinó que era cristalina por XRPD y tenía un punto de fusión de 193,3 °C (inicio).

Ejemplo 1, Forma J

Aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1 se pesaron en un vial de 3 ml, se añadió 1 ml de H₂O al vial y la suspensión se agitó durante 24 horas a TA antes de aislarse el sólido. La muestra (Forma J) se determinó que era cristalina por XRPD y tenía un punto de fusión de 193,3 °C (inicio).

Ejemplo 2

Clorhidrato de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo



5 El Ejemplo 1 (1,8 g) se disolvió en acetonitrilo (5 ml), después se añadió lentamente HCl 1 N (5 ml), la solución se secó mediante liofilización para dar el Ejemplo 2 (1,93 g) en forma de un sólido de color amarillo. CL-EM: $t_R = 1,355$ min en cromatografía de 4 min, EM (IEN) m/z 460,1 $[M+H]^+$. SFC: $t_R = 1,773$ min en cromatografía de 3 min (Chiralpak AD-3, D.I. 50 x 4,6 mm, 3 μ m), EM (IEN) m/z 460,1 $[M+H]^+$. RMN 1H (CD_3OD 400 MHz): δ 8,55 (s, 1H), 8,33 - 8,16 (m, 1H), 7,56 (t, 1H), 7,45 (t, 1H), 7,33 (s, 1H), 7,28 - 7,20 (m, 1H), 4,81 - 4,59 (m, 1H), 4,52-4,15 (m, 1H), 4,10-3,95 (m, 3H), 3,74 - 3,48 (m, 3H), 3,35 (s a, 1H), 3,24 - 3,09 (m, 1H), 2,97 (s, 3H), 1,54 (s a, 3H). $[\alpha]_D^{25} = -14,96$ (c10, DMSO).

15 Formación de la Forma A₁ de sal mono-HCl del Ejemplo 2

A aproximadamente 10 mg de Ejemplo 1 se les añadieron 0,35 ml de IPA, seguido de 0,217 ml de ácido clorhídrico. La solución se cerró herméticamente firmemente con un tapón y se dejó en agitación en una placa de agitador magnética. Durante la agitación, se observó un poco de precipitado de color blanco. Después de aproximadamente 24 horas, la muestra se separó y se secó a TA mediante vacío. Esta forma (Forma A₁ de sal de mono-HCl) se determinó que era cristalina por XRPD y tenía un punto de fusión de 259,6 °C (inicio).

25 También se produjo la Forma A₁ de sal mono-HCl por cristalización de reacción del Ejemplo 1 y ácido clorhídrico en EtOH a TA. A aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1, se les añadieron 0,35 ml de EtOH para disolver el sólido, después se añadieron 0,217 ml de ácido clorhídrico a la solución. La solución se cerró herméticamente firmemente con un tapón y se dejó en agitación en una placa de agitador magnética. Durante la agitación, se observó un poco de precipitado de color blanco. Después de aproximadamente 24 horas, la muestra se separó y se secó a TA mediante vacío. Esta forma (Forma A₁ de sal de mono-HCl) se determinó que era cristalina por XRPD y tenía un punto de fusión de 259,6 °C (inicio).

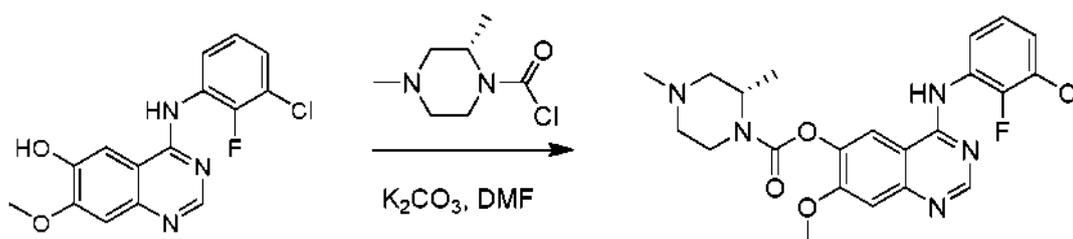
30 También se produjo la Forma A₁ de sal mono-HCl por cristalización de reacción del Ejemplo 1 y ácido clorhídrico en acetona a TA. A aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1, se les añadieron 0,35 ml de acetona para disolver el sólido, seguido de 0,217 ml de ácido clorhídrico. La solución se cerró herméticamente firmemente con un tapón y se dejó en agitación en una placa de agitador magnética. Durante la agitación, se observó un poco de precipitado de color blanco. Después de aproximadamente 24 horas, la muestra se separó y se secó a TA mediante vacío. Esta forma (Forma A₁ de sal de mono-HCl) se determinó que era cristalina por XRPD y tenía un punto de fusión de 259,6 °C (inicio).

40 También se produjo la Forma A₁ de sal mono-HCl por cristalización de reacción del Ejemplo 1 y ácido clorhídrico en THF a TA. A aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1, se les añadieron 0,35 ml de THF para disolver el sólido, después se añadieron 0,217 ml de ácido clorhídrico. La solución se cerró herméticamente firmemente con un tapón y se dejó en agitación en una placa de agitador magnética. Durante la agitación, se observó un poco de precipitado de color blanco. Después de aproximadamente 24 horas, la muestra se separó y se secó a TA mediante vacío. Esta forma (Forma A₁ de sal mono-HCl) se determinó que era cristalina por XRPD y se vio que era diferente a las formas vistas previamente. Este material tenía un punto de fusión de 259,6 °C (inicio).

Ejemplo 3

(2S)-2,4-Dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo

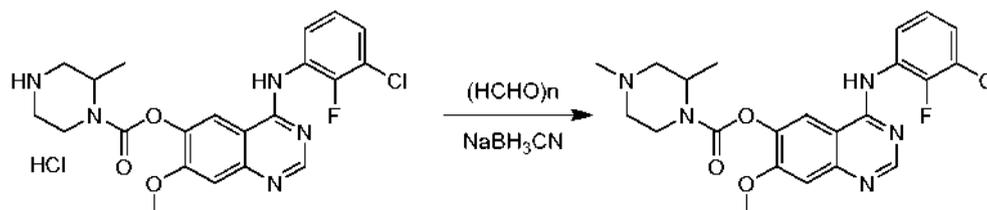
50



Una solución del Intermedio 7 (150 mg, 0,47 mmol), el Intermedio 11 (1 g, en bruto) y K_2CO_3 (130 mg, 0,94 mmol) en *N,N*-dimetil-formamida (10 ml) se agitó a 30 °C durante una noche mientras se controlaba por CLEM. La solución se filtró y se purificó por HPLC preparativa de fase inversa (columna: ASB 150 x 25 mm x 5 um, gradiente: 3-28 % de B (A = agua/HCl al 0,05 %, B = acetonitrilo), caudal: 30 ml/min) para dar el Ejemplo 3 (21,0 mg). t_R de CL-EM = 1,156 min en cromatografía de 4 min, EM (IEN) m/z 460,0 [M+H]⁺; SFC: t_R = 2,084 min en cromatografía de 3 min (Chiralpak AD-3, D.I. 50 x 4,6 mm, 3 um), EM (IEN) m/z 460,1 [M+H]⁺; RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz): δ 8,77 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 7,57-7,50 (m, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,32-7,28 (m, 1H), 4,51-4,21 (m, 1H), 4,10 (s, 3H), 3,77-3,35 (m, 5H), 3,27-3,17 (m, 1H), 2,99 (s, 3H), 1,58-1,49 (m, 3H).

Ejemplo 4

(±) 2,4-Dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo



Una mezcla del Intermedio 14 (1,0 g, 2,0 mmol, pureza del 96 %), paraformaldehído (200 mg, 6,6 mmol), ácido acético (400 mg, 6,6 mmol) en MeOH (15 ml) se agitó durante 2 horas a TA. Se añadió cianoborohidruro sódico (400 mg, 6,6 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 horas más. La mezcla se trató y se purificó por HPLC preparativa de fase inversa (columna: ASB, gradiente: 5-30% de B (A = agua/HCl al 0,05 %, B = acetonitrilo), caudal: 30 ml/min) para proporcionar el Ejemplo 4 (300 mg, 27 %) en forma de un sólido de color blanco. t_R de CL-EM = 1,099 min en cromatografía de 4 min, EM (IEN) m/z 460,1 [M+H]⁺; RMN ¹H (CD₃OD 400 MHz): δ 8,79 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,58-7,52 (dd, 2H), 7,45 (s, 1H), 7,34-7,30 (t, 1H), 4,71-4,30 (m, 2H), 4,13 (s, 3H), 3,75-3,58 (m, 3H), 3,55-3,42 (m, 1H), 3,27 (s, 1H), 3,02 (s, 3H), 1,62-1,53 (m, 3H).

Ejemplo 5

Formas cristalinas alternativas de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo

Forma de base libre	Métodos de preparación	Angulo 2-theta de XRPD (2θ)	Intensidad de XRPD (%)	Punto de fusión (°C)
Forma A	Base libre amorfa calentada a 135 °C (10 °C/min)	23,3, 14,3, 9,4	100,00, 83,70, 78,08	192,4
	Evaporación lenta: IPA, iPrOAc			
	Suspensión en heptano, MTBE, DCM/heptano (1/4, v/v), THF/heptano (1/4, v/v), iPrOAc/heptano (1/4, v/v) a TA			
Forma B	Suspensión en heptano, MTBE, acetona/H ₂ O (1/4, v/v), MeOH/H ₂ O (1/4, v/v), EtOH/H ₂ O (1/4, v/v), THF/H ₂ O (1/4, v/v), DCM/heptano (1/4, v/v), THF/heptano (1/4, v/v), iPrOAc/heptano (1/4, v/v), EtOH/heptano (1/4, v/v) a 50 °C	6,3, 3,1, 12,6	100,00, 52,07, 35,29	N/A
	Adición de antidisolvente (disolvente/antidisolvente): EtOAc/heptano, DCM/heptano			
	Molienda en húmedo: acetona, EtOAc			
Forma C	Suspensión en acetona/H ₂ O (1/4, v/v), MeOH/H ₂ O (1/4, v/v), EtOH/H ₂ O (1/4, v/v), THF/H ₂ O (1/4, v/v) a TA	15,6, 8,6,	100,00,	N/A
	Adición de antidisolvente (disolvente/antidisolvente): MeOH/H ₂ O, THF/H ₂ O, Dioxano/H ₂ O			
Forma C	Molienda en húmedo: EtOH/H ₂ O (1/1, v/v)			
Forma C	Evaporación lenta: THF			

Forma de base libre	Métodos de preparación	Ángulo 2-theta de XRPD (2θ)	Intensidad de XRPD (%)	Punto de fusión (°C)
	Adición de antidisolvente (disolvente/antidisolvente): dioxano/hepano	13,9	60,20, 34,59	
Forma D	Evaporación lenta: EtOH	7,3, 11,4,	100,00,	N/A
	Suspensión en EtOH/heptano (1/4, v/v) a TA	21,0	39,48,	
	Adición de antidisolvente (disolvente/antidisolvente): EtOH/MTBE		23,59	
Forma E	Adición de antidisolvente (disolvente/antidisolvente): THF/heptano	7,3, 13,7, 13,4	100,00, 81,83, 74,07	93,0
Forma F	Evaporación lenta: acetona	9,3, 16,0, 21,6	100,00, 69,50, 57,55	N/A
Forma G	Evaporación lenta: acetona	5,1, 7,2,	100,00,	N/A
	Molienda en húmedo: DCM	17,0	12,14, 8,13	
Forma H	Evaporación lenta: MeOH	7,7, 21,2,	100,00,	N/A
	Molienda en húmedo: MeOH	19,5	41,70, 39,40	
Forma I	Suspensión en H ₂ O a 50 °C	3,5, 7,0, 9,5	100,00, 41,22, 32,57	193,3
Forma J	Suspensión en H ₂ O a TA	7,8, 7,0, 4,9	100,00, 49,36, 45,57	N/A

Ejemplo 6

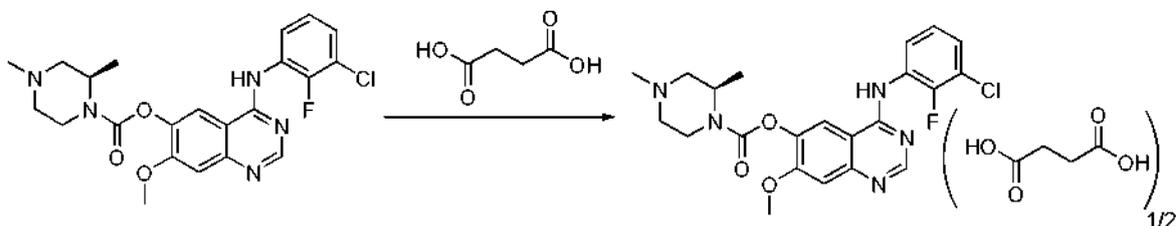
5 Formas de sal alternativas de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo

Forma de sal	Métodos de preparación	Ángulo 2-theta de XRPD (2θ)	Intensidad de XRPD (%)	Punto de fusión (°C)
Forma A ₁ de sal de HCl	Cristalización de reacción de la base libre y ácido clorhídrico en IPA, EtOH, acetona o THF a TA	12,3, 13,9, 9,3	100,00, 40,45, 29,34	259,6
Forma B ₁ de sal de HCl	Cristalización de reacción de la base libre y ácido clorhídrico en EtOH/H ₂ O (v/v, 19/1) a TA, después evaporación	6,6, 13,2, 12,6	100,00, 52,30, 38,68	N/A
Forma A ₂ de sulfato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido sulfúrico en IPA a TA	19,8, 20,4, 22,3	100,00, 36,69, 26,58	N/A
Forma B ₂ de sulfato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido sulfúrico en EtOH, acetona, THF o EtOH/H ₂ O (v/v, 19/1) a TA	7,2, 16,7, 14,5	100,00, 68,32, 45,68	223,7
Forma A ₃ de fosfato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido fosfórico en EtOH a TA	7,0, 16,5, 22,4	100,0, 61,81, 29,12	206,0
Forma B ₃ de fosfato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido fosfórico en EtOH/H ₂ O (v/v, 19/1) a TA	5,1, 23,4, 11,9	100,00, 18,27, 16,19	177,8
Forma A ₄ de maleato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido maleico en IPA a TA	4,9, 6,6, 12,6	100,00, 93,00, 30,51	108,1
	Cristalización de reacción de la base libre y ácido maleico en acetona a TA, después evaporación			
Forma B ₄ de maleato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido maleico en DCM o THF a TA	6,7, 4,5, 20,2	100,00, 26,67, 11,01	120,0

ES 2 642 201 T3

Forma de sal	Métodos de preparación	Ángulo 2-theta de XRPD (2θ)	Intensidad de XRPD (%)	Punto de fusión (°C)
Forma C ₄ de maleato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido maleico en EtOH/H ₂ O (v/v, 19/1) a TA, después evaporación	6,3, 8,5, 10,6	100,00, 87,86, 63,25	N/A
Forma A ₅ de tartrato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido tartárico en EtOH o EtOH/H ₂ O (v/v, 19/1) a TA	13,3, 6,6, 17,6	100,00, 63,41, 49,61	158,5
Forma A ₆ de fumarato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido fumárico en acetona a TA	6,6, 5,2, 20,4	100,00, 51,69, 29,49	212,8
	Cristalización de reacción de la base libre y ácido fumárico en IPA a TA, después evaporación			
Forma B ₆ de fumarato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido fumárico en DCM a TA	9,3, 9,8, 26,7	100,00, 58,74, 54,18	205,8
Forma C ₆ de fumarato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido fumárico en EtOH/H ₂ O (v/v, 19/1) a TA, después evaporación	7,2, 17,0, 6,2	100,00, 86,58, 54,86	199,2
Forma A ₇ de citrato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido cítrico en DCM a TA	28,3, 15,2, 22,2	100,00, 36,42, 26,50	157,9
Forma A ₈ de sal succinato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido succínico en acetona, DCM o EtOAc a TA	6,5, 17,7, 14,7	100,00, 31,30, 24,91	191,8
	Cristalización de reacción de la base libre y ácido succínico en EtOH a TA, después evaporación			
Forma B ₈ de sal succinato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido succínico en acetona/H ₂ O (v/v, 19/1) a TA, después evaporación	6,0, 24,3, 8,3	100,00, 70,58, 62,41	N/A
Forma A ₉ de adipato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido adípico en DCM a TA	5,0, 8,5, 16,6	100,00, 9,38, 6,46	133,4
	Cristalización de reacción de la base libre y ácido adípico en acetona o EtOAc a TA, después evaporación			
Forma B ₉ de adipato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido adípico en EtOH a TA, después evaporación	4,4, 6,2, 15,7	100,00, 43,19, 36,16	N/A
Forma A ₁₀ de mesilato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido metanosulfónico en acetona a TA	13,1, 16,9, 7,2	100,0, 72,46, 63,66	N/A
Forma B ₁₀ de mesilato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido metanosulfónico en DCM o EtOAc a TA	18,6, 23,0, 19,3	100,00, 94,62, 86,41	224,0
Forma A ₁₁ de malonato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido malónico en DCM o EtOAc a TA	15,0, 13,1, 10,2	100,00, 65,81, 50,20,	157,7
	Cristalización de reacción de la base libre y ácido malónico en acetona o EtOH a TA, después evaporación			
Forma A ₁₂ de benzoato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido benzoico en acetona, THF, EtOH, DCM o acetona/H ₂ O (v/v, 19/1) a TA, después evaporación	5,9, 17,0, 3,7	100,00, 38,62, 22,28	N/A
Forma B ₁₂ de benzoato	Cristalización de reacción de la base libre y ácido benzoico en EtOAc a TA, después evaporación	6,0, 26,3, 25,9	100,00, 56,07, 47,79	N/A

Ejemplo 7

Succinato de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo

5

El Ejemplo 1 (10 mg, 0,022 mmol) se disolvió en 0,44 ml de acetona en un vial. Se añadió ácido succínico (2,57 mg, 0,022 mmol) a la solución. La mezcla resultante se cerró herméticamente firmemente con un tapón y se dejó en agitación en una placa de agitador magnética. Durante la agitación, se observó un poco de precipitado de color blanco. Después de aproximadamente 24 horas, el sólido de color blanco se separó y se secó a temperatura ambiente al vacío. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) 9,74 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,51-7,47 (m, 2H), 7,34 (s, 1H), 7,30-7,26 (m, 1H), 4,4-4,2 (a, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,9-3,7 (a, 1H), 2,82-2,80 (d, 1H), 2,70-2,67 (s, 1H), 2,42 (s, 2H), 2,21 (s, 3H), 2,12-2,10 (m, 1H), 1,94-1,89 (m, 1H), 1,34 (s, 3H).

10

15 Formación de la Forma A₈ de sal succinato del Ejemplo 7

La Forma A₈ de sal succinato se produjo mediante el procedimiento descrito anteriormente. Esta forma (Forma A₈ de sal succinato) se determinó que era cristalina por XRPD y tenía un punto de fusión de 191,8 °C (inicio).

20

También se produjo la Forma A₈ de sal succinato por cristalización de reacción del Ejemplo 1 y ácido succínico en EtOH a TA. A aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1, se les añadieron 0,59 ml de EtOH para disolver el sólido, después se añadieron 2,57 mg de ácido succínico a la solución. La solución se cerró herméticamente firmemente con un tapón y se dejó en agitación en una placa de agitador magnética. Después de aproximadamente 24 horas de agitación, la solución se evaporó a sequedad a TA. Esta forma (Forma A₈ de sal succinato) se determinó que era cristalina por XRPD y tenía un punto de fusión de 191,8 °C (inicio).

25

La Forma A₈ de sal succinato también se produjo por cristalización de reacción del Ejemplo 1 y ácido succínico en DCM a TA. A aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1, se les añadieron 0,25 ml de DCM para disolver el sólido, después se añadieron 2,57 mg de ácido succínico. La solución se cerró herméticamente firmemente con un tapón y se dejó en agitación en una placa de agitador magnética. Durante la agitación, se observó un poco de precipitado de color blanco. Después de aproximadamente 24 horas, la muestra se separó y se secó a TA mediante vacío. Esta forma (Forma A₈ de sal succinato) se determinó que era cristalina por XRPD y tenía un punto de fusión de 191,8 °C (inicio). La Forma A₈ de sal succinato también se produjo por cristalización de reacción del Ejemplo 1 y ácido succínico en EtOAc a TA. A aproximadamente 10 mg del Ejemplo 1, se les añadieron 0,25 ml de EtOAc para disolver el sólido, después se añadieron 2,57 mg de ácido succínico. La solución se cerró herméticamente firmemente con un tapón y se dejó en agitación en una placa de agitador magnética. Durante la agitación, se observó un poco de precipitado de color blanco. Después de aproximadamente 24 horas, la muestra se separó y se secó a TA mediante vacío. Esta forma (Forma A₈ de sal succinato) se determinó que era cristalina por XRPD y tenía un punto de fusión de 191,8 °C (inicio).

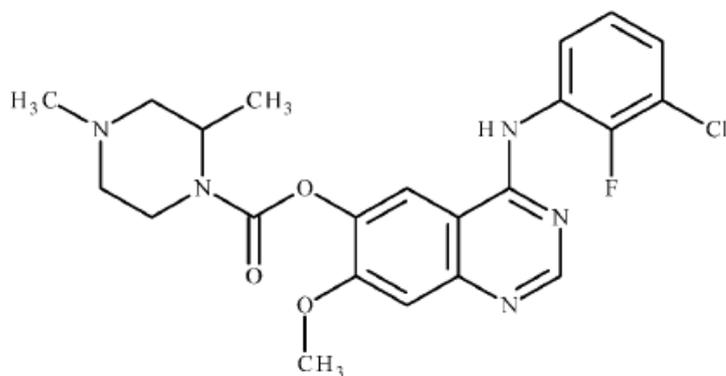
30

35

40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



(I)

5

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, que es (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

10

3. Una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, que es clorhidrato de (2R)-2,4-dimetilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo.

4. El compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 en forma cristalina.

15

5. Una sal mono-HCl del compuesto de fórmula (I), de acuerdo con la reivindicación 3, en forma cristalina que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos dos picos específicos a 2-theta = 12,3° y 13,9°, siendo un error de medición para cada ángulo de difracción más o menos 0,2°.

20

6. Una sal mono-HCl del compuesto de fórmula (I), de acuerdo con la reivindicación 3, en forma cristalina que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos específicos a 2-theta = 12,3, 13,9, 9,3, 23,3, 18,7, 16,0, 24,6, 26,8, 28,0° siendo un error de medición para cada ángulo de difracción más o menos 0,2°.

25

7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

8. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso como medicamento.

30

9. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en la inhibición del EGFR mutante de activación en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano.

35

10. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en la producción de un efecto antineoplásico en un animal de sangre caliente, tal como el ser humano.

40

11. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en el tratamiento de carcinoma broncopulmonar no microcítico.

12. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en el tratamiento de carcinoma broncopulmonar no microcítico metastásico.

45

13. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de carcinoma broncopulmonar no microcítico metastásico de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la metástasis es metástasis cerebral.

50

14. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de carcinoma broncopulmonar no microcítico metastásico de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la metástasis es metástasis leptomenígea.

5 15. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en combinación con un agente antitumoral seleccionado de:

(i) un anticuerpo anti-CTLA-4;

10 (ii) (2-hidroxietoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3*H*-benzimidazol-5-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

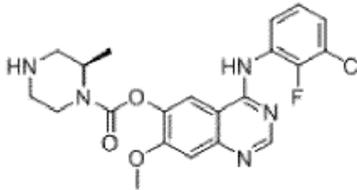
(iii) un anticuerpo anti-PD-L1;

(iv) 1-[(1*S*)-1-(imidazo[1,2-*a*]piridin-6-il)etil]-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]pirazina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

15 (v) un anticuerpo anti-PD-1; o

(vi) un anticuerpo agonista de OX40.

16. El compuesto (2*R*)-2-metilpiperazin-1-carboxilato de 4-[(3-cloro-2-fluorofenil)amino]-7-metoxiquinazolin-6-ilo:



20

Figura 1: Patrón de difracción de polvo de rayos X, Forma A

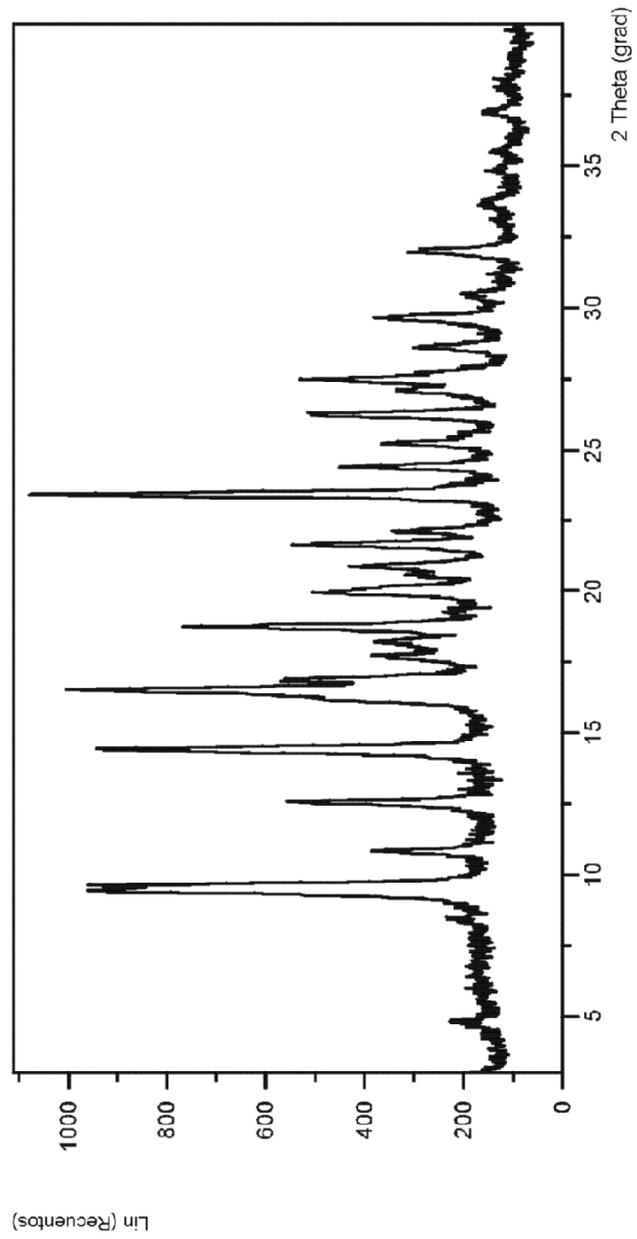


Figura 2: Termograma DSC, Forma A

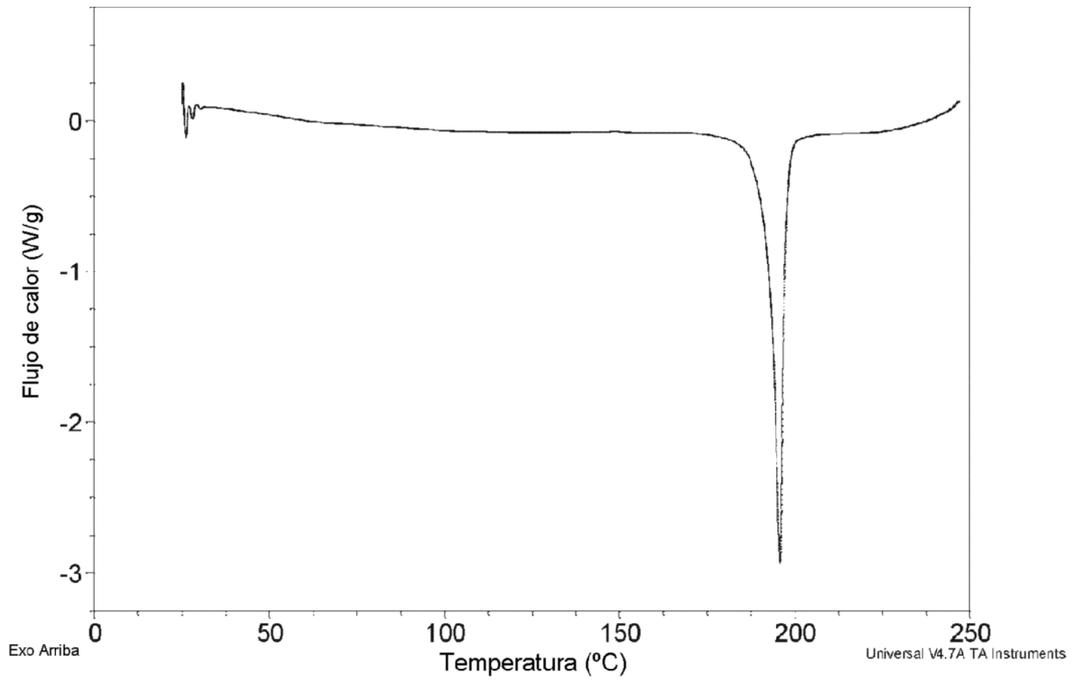


Figura 3: Patrón de difracción de polvo de rayos X, Forma E

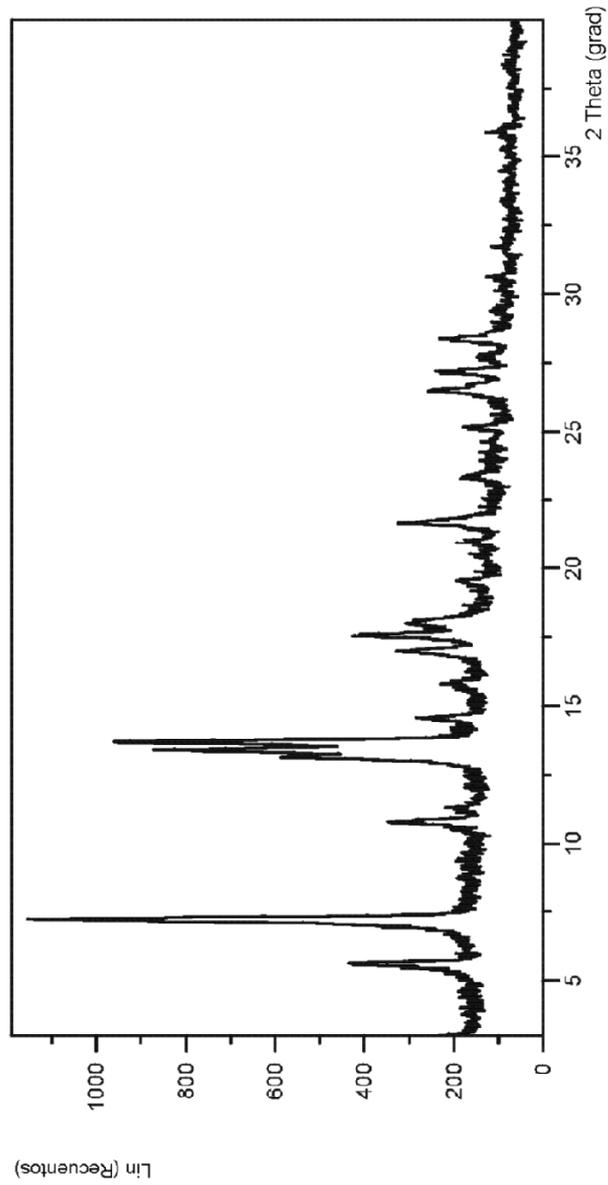


Figura 4: Termograma DSC, Forma E

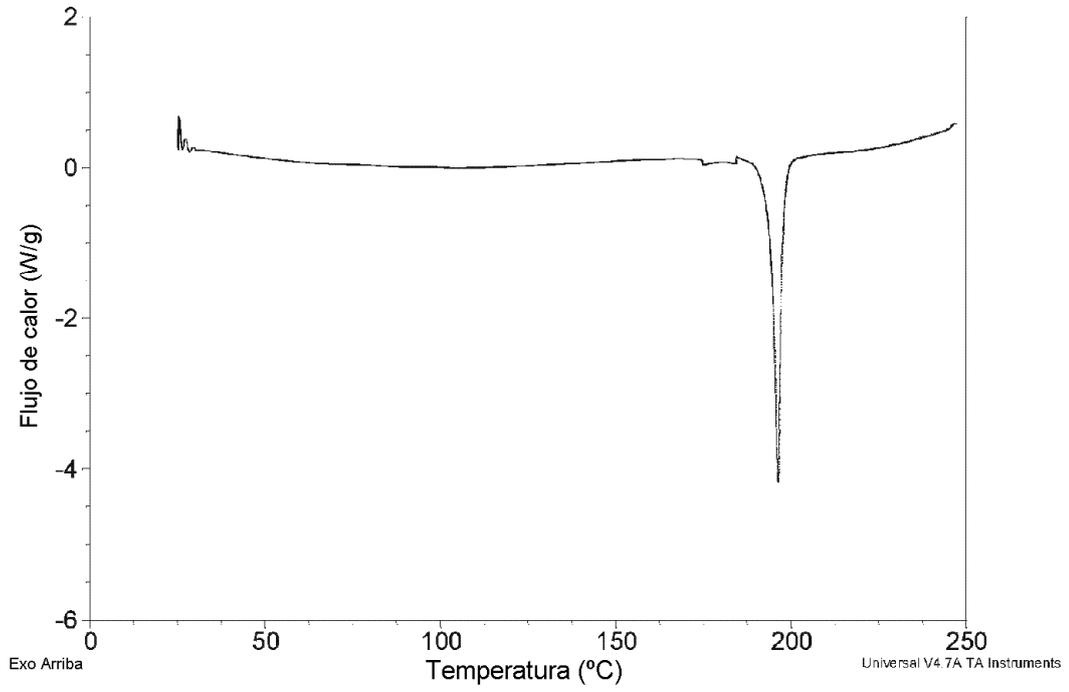


Figura 5: Patrón de difracción de polvo de rayos X, Forma I

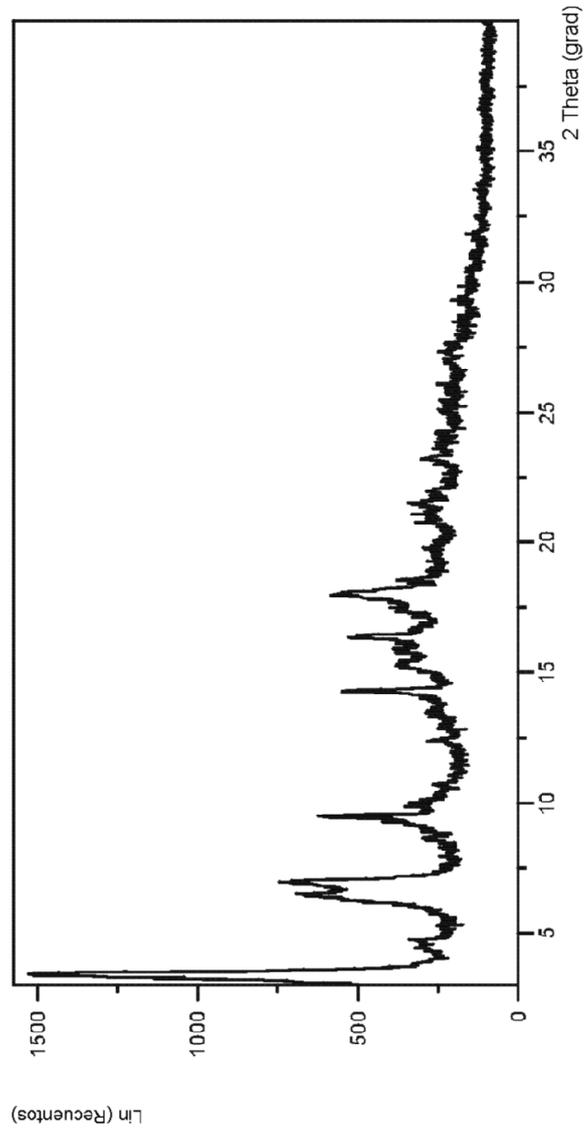


Figura 6: Termograma DSC, Forma I

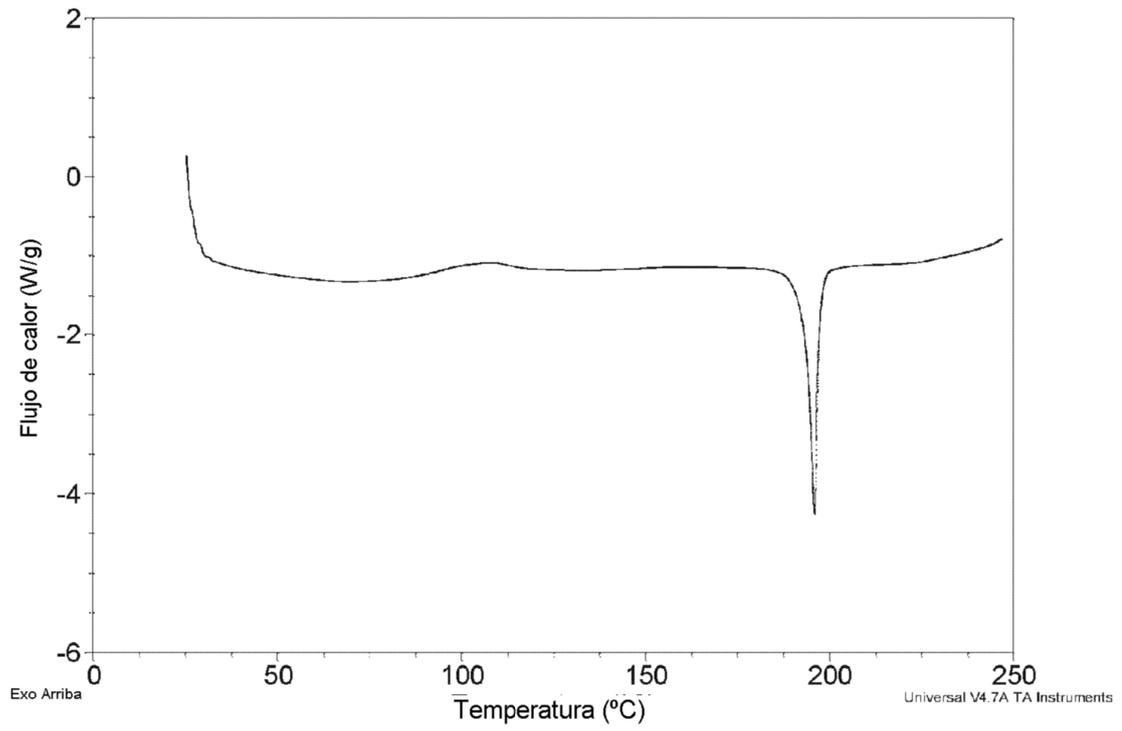


Figura 7: Patrón de difracción de polvo de rayos X, Forma J

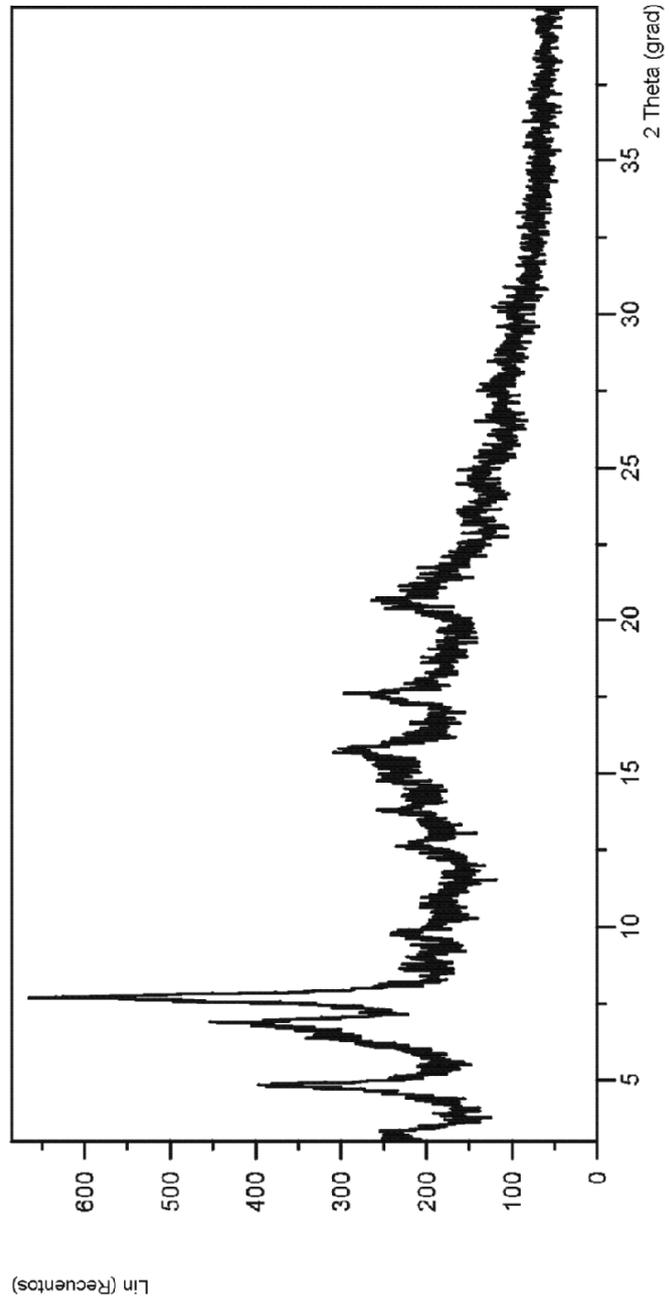


Figura 8: Termograma DSC, Forma J

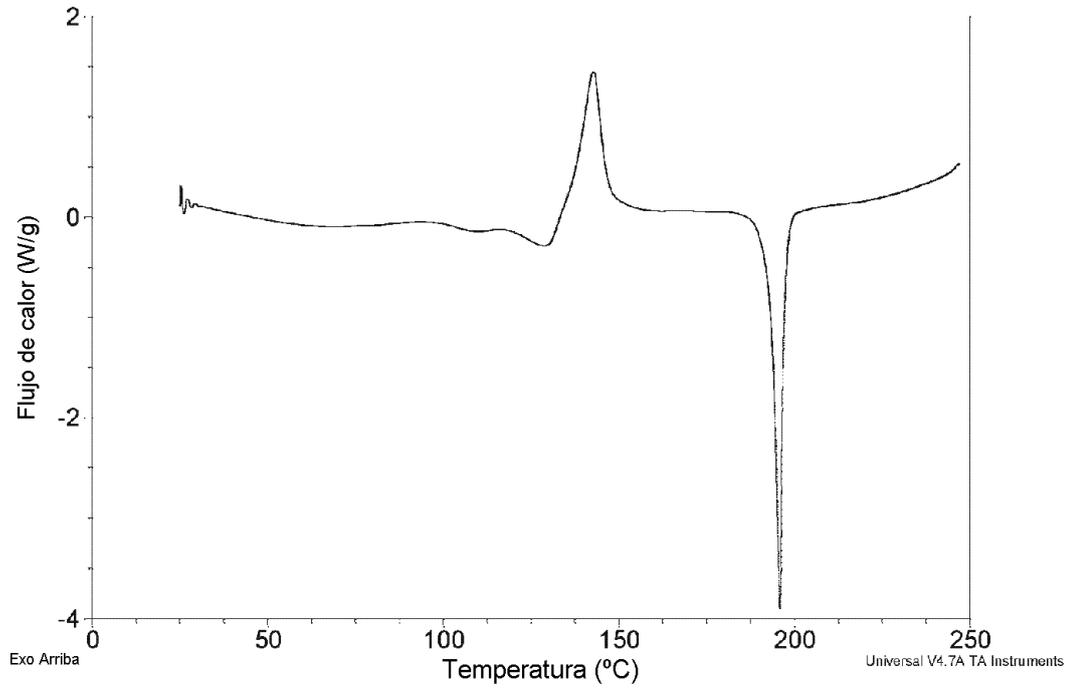


Figura 9: Patrón de difracción de polvo de rayos X, Forma A₁ de sal mono-HCl

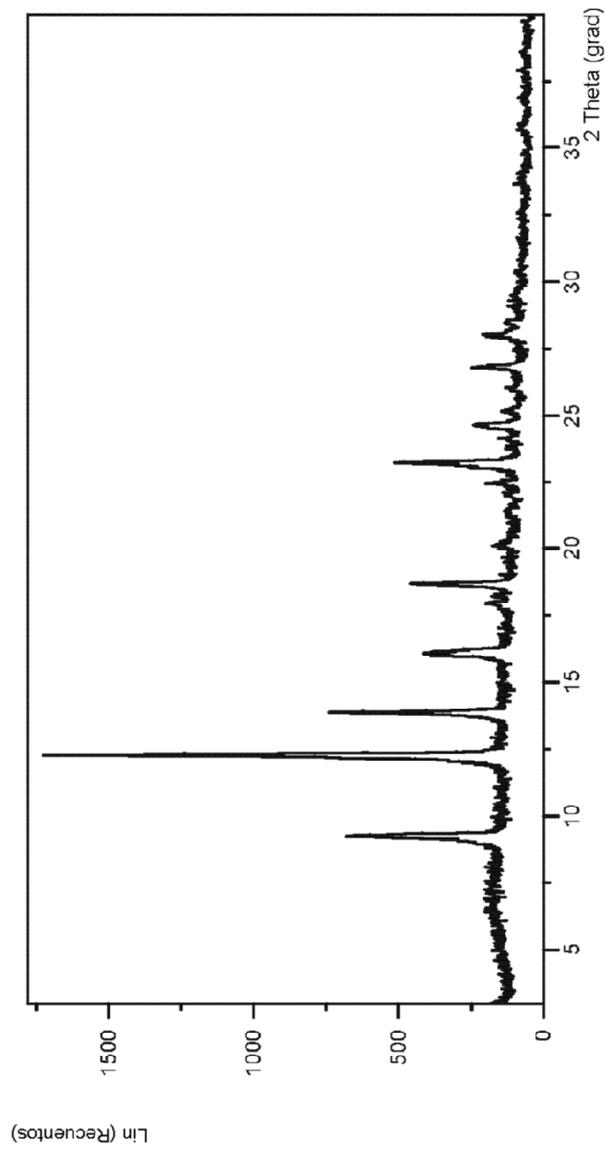


Figura 10: Termograma DSC, Forma A₁ de sal mono-HCl

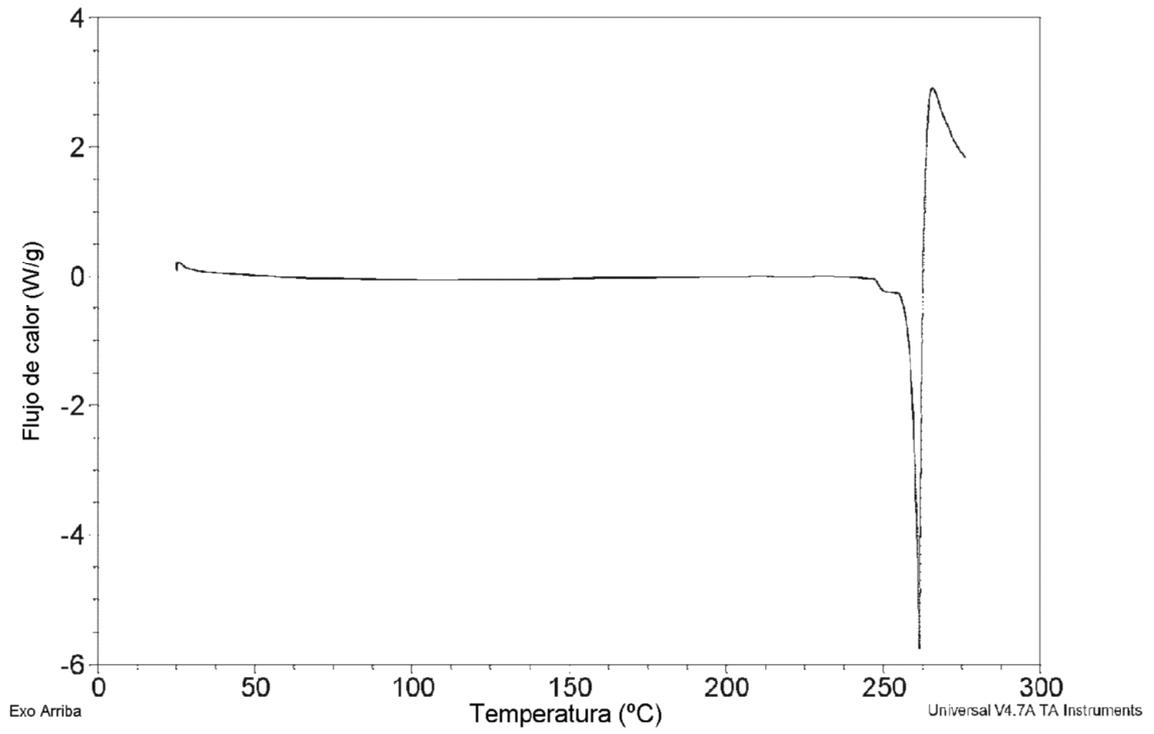


Figura 11: Patrón de difracción de polvo de rayos X, Forma A₈ de sal succinato

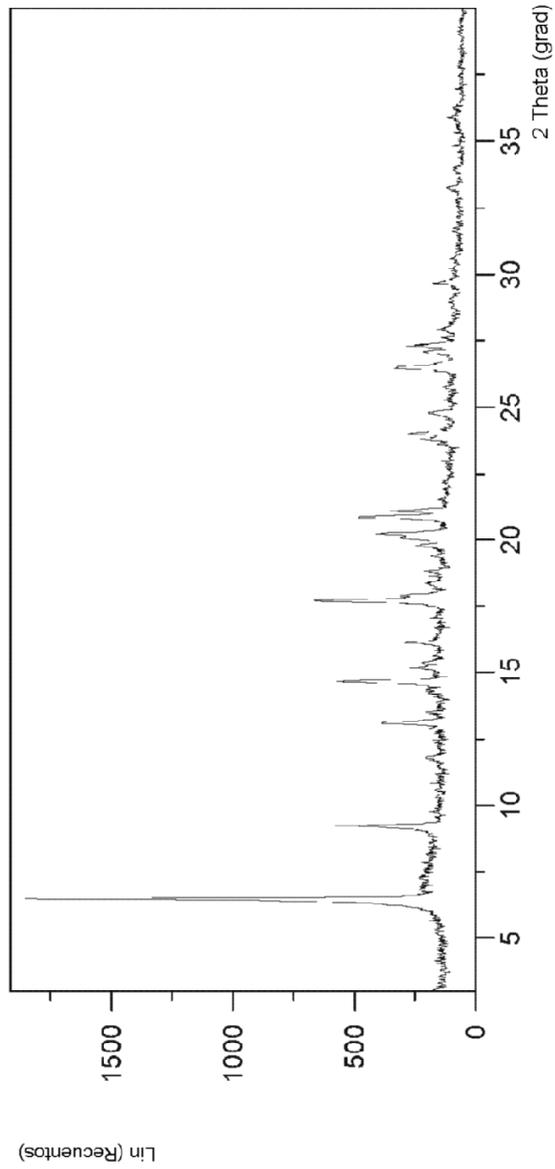


Figura 12: Termograma DSC, Forma A₈ de sal succinato

