

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 667 847**

51 Int. Cl.:

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/16 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.02.2015 PCT/CN2015/072179**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.08.2015 WO15117547**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.02.2015 E 15746902 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.04.2018 EP 3102571**

54 Título: **Pirimidinas sustituidas útiles como inhibidores de cinasa de EGFR-T790M**

30 Prioridad:

04.02.2014 US 201461965584 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.05.2018

73 Titular/es:

**JIANGSU MEDOLUTION LTD. (100.0%)
National New Drug Research Foundation Twin
Building Room 1610 China Medical City Road
One
Taizhou, Jiangsu 225300, CN**

72 Inventor/es:

ZHANG, DAWEI

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 667 847 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

Pirimidinas sustituidas útiles como inhibidores de cinasa de EGFR-T790M.

5 **Referencia cruzada**

La presente invención reivindica los derechos de la solicitud provisional de patente US nº 61/965.584 presentada el 4 de febrero de 2014.

10 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a inhibidores de cinasa y sales farmacéuticamente aceptables, solvatos e hidratos de los mismos, a la preparación de los mismos y a la utilización de dichos compuestos en el tratamiento de enfermedades y afecciones mediadas por cinasas, tales como el cáncer.

15

Antecedentes de la invención

Las proteínas cinasas representan una gran familia de enzimas que catalizan la fosforilación de los sustratos proteínas diana. La fosforilación habitualmente es una reacción de transferencia de un grupo fosfato de ATP al sustrato proteína. Debido a su actividad en numerosos procesos celulares, las proteínas cinasas se han considerado importantes dianas terapéuticas.

20

El factor de crecimiento epidérmico (EGF) es un factor de crecimiento ampliamente distribuido que en el cáncer puede estimular la proliferación de las células de cáncer, bloquear la apoptosis, activar la invasión y la metástasis y estimular la angiogénesis (Citri *et al.*, Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 7:505, 2006; Hynes *et al.*, Nat. Rev. Cancer 5:341, 2005). El receptor del EGF (EGFR o ErbB) es un receptor de tirosina cinasa transmembranaria que pertenece a una familia de cuatro receptores relacionados. La mayoría de cánceres epiteliales humanas están marcados por la activación funcional de factores de crecimiento y receptores de dicha familia (Ciardiello *et al.*, New Eng. J. Med. 358:1160, 2008) de manera que el EGF y el EGFR son dianas naturales para la terapia del cáncer. La familia de tirosinas cinasas del receptor del factor de crecimiento epidérmico humano (HER) consiste en cuatro receptores celulares estructuralmente relacionados: el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, HER1), HER2 (ErbB2), HER3 (ErbB3) y HER4.

25

30

Los inhibidores del EGFR, erlotinib y gefitinib, así como el inhibidor doble de EGFR/HER2, lapatinib, son fármacos para el cáncer aprobados por el FDA que resultan eficaces contra múltiples cánceres de tumor sólido. Sin embargo, su eficacia también se encuentra limitada por la resistencia a fármacos que frecuentemente aparece después del tratamiento. Las mutaciones puntuales en el dominio cinasa del EGFR así como la regulación positiva de las rutas de señalización de by-pass son mecanismos de resistencia frecuentemente observados en los pacientes tratados con gefitinib y erlotinib. Una única mutación puntual en la posición de acceso, T790M, en el dominio cinasa de EGFR explica aproximadamente el 50% de las resistencias adquiridas.

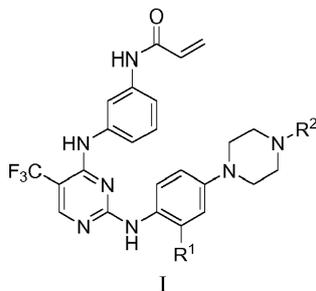
40

De esta manera, resultan altamente deseables los compuestos que pueden inhibir las proteínas cinasas mutantes, tal como la actividad de EGFR-T790M, con una eficacia mejorada o superar la resistencia farmacológica.

45

Sumario de la invención

La presente invención proporciona compuestos de fórmula I:



50

o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un estereoisómero, tautómero o metabolito de los mismos, en los que:

55 R^1 es hidrógeno,

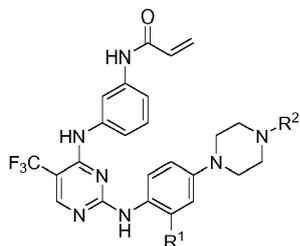
R² es alquilo C₁-C₆.

La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I mencionado anteriormente y un portador farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona además métodos para regular la transducción de señales de cinasas, que comprenden administrar en un sujeto mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos de fórmula I indicados anteriormente.

Descripción detallada de la invención

En algunas formas de realización de la presente invención se proporcionan compuestos de fórmula I:



I

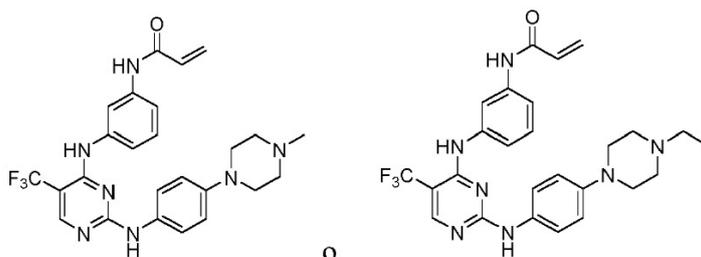
o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un estereoisómero, tautómero o metabolito de los mismos, en el que:

R¹ es hidrógeno,

R² es alquilo C₁-C₆.

En determinadas formas de realización, R¹ es hidrógeno. En otras formas de realización, R² es metilo o etilo. En otras formas de realización, R³ es metilo. En algunas formas de realización, R¹ es metoxi y R² es metilo o etilo.

En determinadas formas de realización se proporcionan compuestos de manera no limitativa seleccionados de entre el grupo que consiste en:



y similares, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En algunas formas de realización, el compuesto seleccionado se encuentra en forma de sal farmacéuticamente aceptable. En algunas formas de realización, el compuesto seleccionado se encuentra en forma de un solvato.

En algunas formas de realización, el compuesto seleccionado se encuentra en forma de estereoisómero. En otras formas de realización, el compuesto seleccionado es un tautómero.

En algunas formas de realización, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I y un portador farmacéuticamente aceptable. En determinadas formas de realización, las composiciones están destinadas al tratamiento de una enfermedad regulada por una proteína cinasa. En determinadas formas de realización, las composiciones están destinadas al tratamiento de un trastorno hiperproliferativo. En otras formas de realización, las composiciones farmacéuticas resultan adecuadas para la administración oral, parenteral o intravenosa.

En algunas formas de realización, se utiliza el compuesto o compuestos de fórmula I para tratar un sujeto mediante la administración del compuesto o compuestos en forma de una composición farmacéutica. Con este fin, el compuesto o compuestos, en una forma de realización, se agrupan con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, incluyendo portadores, diluyentes o adyuvantes, para formar una composición adecuada, que se describe en mayor detalle en la presente memoria.

En algunas formas de realización, la presente invención proporciona las composiciones reivindicadas para la utilización en la regulación de la transducción de señales de cinasa, que comprende administrar en un sujeto mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I.

En otras formas de realización, la presente invención proporciona las composiciones reivindicadas para la utilización en el tratamiento o la prevención de un trastorno mediado por cinasas HER (incluyendo todas las cinasas mutantes), en las que dicho método comprende administrar en un sujeto mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I.

En todavía otro aspecto, en la presente memoria se proporcionan las composiciones reivindicadas para la utilización en la inhibición de las cinasas de EGFR, en las que dicho método comprende administrar en un sujeto mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I.

En otras formas de realización, la presente invención proporciona en la presente memoria las composiciones reivindicadas para la utilización en el tratamiento de neoplasias, que comprende administrar en un sujeto mamífero que lo necesita, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I. En determinadas formas de realización, la neoplasia se selecciona de entre cáncer hepático, cáncer de piel, leucemia, carcinoma de colon, carcinoma de células renales, cáncer del estroma gastrointestinal, cáncer de tumor sólido, mieloma, cáncer de mama, carcinoma pancreático, cáncer pulmonar de células no pequeñas, linfoma no de Hodgkin, carcinoma hepatocelular, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal y cáncer de próstata. En determinadas formas de realización, la neoplasia es cáncer pulmonar de células no pequeñas. En algunas formas de realización, el método comprende además la administración de uno o más agentes anticáncer.

En otras formas de realización se proporcionan las composiciones reivindicadas para la utilización en el tratamiento o la prevención de un trastorno hiperproliferativo, que comprende administrar en un sujeto mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I.

Las definiciones siguientes deberían ayudar a entender la invención descrita en la presente memoria.

El término "alquilo" pretende incluir grupos hidrocarburo lineales, ramificados y cíclicos, que contienen únicamente enlaces sencillos carbono-carbono y que pueden estar no sustituidos u opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales. La longitud de cadena preferente de un grupo alquilo es de 1 a 6 átomos de carbono. El término alquilo C₁-C₆ pretende incluir los grupos alquilo C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ y C₆. Los alquilos pueden estar sustituidos o no sustituidos. Entre los grupos sustituyentes típicos se incluyen cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, mercapto, alquiltio, ariltio, ciano, halo, carbonilo, tiocarbonilo, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, nitro, sililo, amino y -NR^XR^Y, en el que R^X y R^Y se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, carbonilo, acetilo, sulfonilo, trifluorometanosulfonilo y, en el caso de que se agrupen R^X y R^Y, un anillo heteroalíclico de cinco o seis elementos. Entre los grupos alquilo sustituidos ilustrativos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, aminometilo, aminoetilo, hidroximetilo, metoximetilo, 2-fluoroetilo y 2-metoxietilo, etc.

El término "alcoxi" se refiere tanto a un grupo -O-(alquilo) como a un grupo -O-(cicloalquilo no sustituido). El término alcoxi C₁-C₆ pretende incluir los grupos alquilo C₁-C₆, en los que alquilo C₁-C₆ ha sido definido anteriormente. Entre los ejemplos representativos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, ciclopropiloxi, ciclobutiloxi, ciclopentiloxi, ciclohexiloxi y similares.

El término halógeno se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.

La expresión "que comprende" pretende ser abierta e incluir el componente o componentes indicados aunque sin exclusión de otros elementos.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" utilizada en referencia a un compuesto de fórmula I pretende referirse a una forma del compuesto que es segura para la administración en un sujeto. Por ejemplo, una base libre, una forma de sal, un solvato, un hidrato, un profármaco o una forma derivada de un compuesto de fórmula I, que ha sido autorizada para el uso en mamíferos, mediante la ingestión oral o cualquier otra vía de administración, por una autoridad gubernamental o agencia reguladora, tal como la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos, como farmacéuticamente aceptable.

El término "excipiente", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a cualquier aditivo, portador, adyuvante u otro ingrediente adecuado farmacéuticamente aceptable diferente del ingrediente farmacéutico activo (IFA), que se incluye típicamente con fines de formulación y/o administración. Los términos "diluyente" y "adyuvante" se definen posteriormente en la presente memoria.

Los términos "tratar", "tratando", "tratamiento" y "terapia" tal como se utilizan en la presente memoria se refieren

a la terapia, incluyendo, aunque sin limitación, la terapia curativa, la terapia profiláctica y la terapia preventiva. El tratamiento profiláctico generalmente constituye prevenir la aparición misma de los trastornos o el retraso de la aparición de un estadio preclínicamente evidente de los trastornos en el individuo.

5 La expresión "cantidad eficaz" pretende referirse a la cuantificación de la cantidad de cada agente, que conseguirá el objetivo de mejora de la gravedad del trastorno y la frecuencia de incidencia con el tratamiento con cada agente solo, evitando simultáneamente los efectos secundarios adversos típicamente asociados a las terapias alternativas. La cantidad eficaz, en una forma de realización, se administra en una forma de dosis única o en formas de múltiples dosis.

10 La protección de grupos funcionales con grupos protectores, los grupos protectores mismos y sus reacciones de eliminación (comúnmente denominadas "desprotección") se describen en, por ejemplo, obras de referencia estándar, tales como J.F.W. McOmie, Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press, London y New York, 1973; en T.W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, New York, 1981; en The Peptides, volumen nº 3, E. Gross y J. Meienhofer, editores, Academic Press, London y New York, 1981.

15 Todos los procedimientos sintéticos descritos en la presente memoria pueden llevarse a cabo bajo condiciones de reacción conocidas, ventajosamente bajo las indicadas en la presente memoria, en ausencia o en presencia (habitual) de solventes o diluyentes.

20 La invención comprende además compuestos "intermedios", incluyendo estructuras producidas a partir de los procedimientos sintéticos descritos, aislados o no, antes de la obtención del compuesto finalmente deseado. Las estructuras que resultan de llevar a cabo etapas a partir de un material de partida transitorio, las estructuras que resultan de la divergencia respecto del método o métodos descritos en cualquier etapa, y las estructuras que forman materiales de partida bajo las condiciones de reacción son todos "intermediarios" incluidos en la invención. Además, las estructuras producidas mediante la utilización de los materiales iniciales en forma de un derivado o sal reactivo o producidas a partir de un compuesto obtenible mediante el procedimiento según la invención y las estructuras que resultan del procesamiento de los compuestos de la invención *in situ* también se encuentran comprendidos dentro del alcance de la invención.

30 Los materiales de partida nuevos y/o los intermediarios, así como los procedimientos de preparación de los mismos, de manera similar son el objeto de la presente invención. En formas de realización seleccionadas se utilizan dichos materiales de partida y se seleccionan las condiciones de reacción para obtener el compuesto o compuestos deseados.

35 Los materiales de partida de la invención son conocidos, se encuentran disponibles comercialmente o pueden sintetizarse análogamente o según métodos que son conocidos de la técnica. Muchos materiales de partida pueden prepararse según procedimientos conocidos y, en particular, pueden prepararse utilizando procedimientos descritos en los ejemplos. Al sintetizar materiales de partida, en algunos casos se protegen grupos funcionales con grupos protectores adecuados en caso necesario. Los grupos protectores, y su introducción y eliminación se han descrito anteriormente.

40 Los compuestos de la presente invención en algunas formas de realización también se representan en múltiples formas tautoméricas. La invención incluye expresamente todas las formas tautoméricas de los compuestos indicados en la presente memoria.

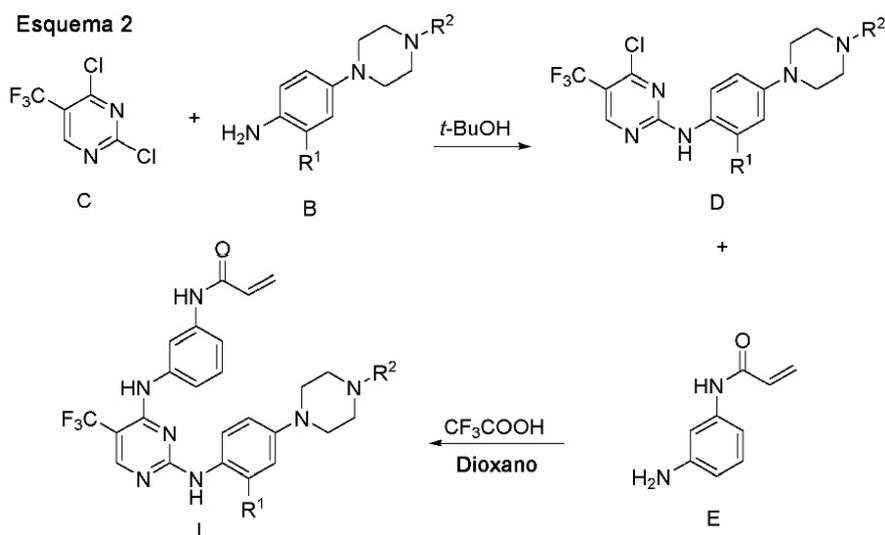
45 Los compuestos en una forma de realización también se observan en forma isomérica de doble enlace cis- o trans- o E- o Z-. La totalidad de dichas formas isoméricas de dichos compuestos se encuentran expresamente incluidas en la presente invención.

50 Indicación

La presente invención proporciona compuestos que son capaces de modular una o más rutas de transducción de señales que comprenden, aunque sin limitarse a ellas, EGFR y/o todos los mutantes del mismo, tal como EGFR-T790M.

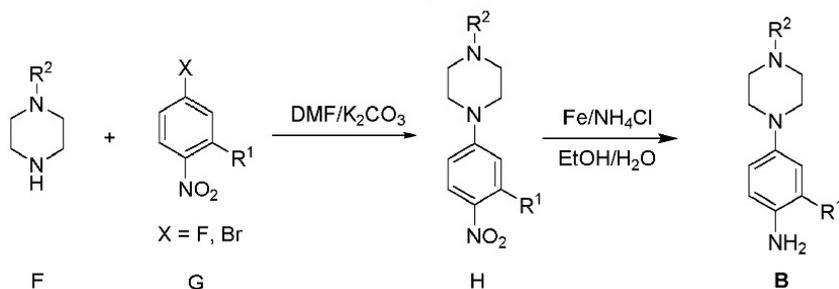
55 Mediante el término "modular" se hace referencia a que la actividad funcional de la ruta (o un componente del mismo) se modifica en presencia de un compuesto de fórmula I en comparación con su actividad normal en ausencia del compuesto. Dicho efecto incluye cambios en cualquier calidad o grado de modulación, incluyendo, incrementando, actuando como agonista, aumentando, potenciando, facilitando, estimulando, reduciendo, bloqueando, inhibiendo, reduciendo, disminuyendo y antagonizando, etc.

60 Los compuestos de la presente invención también pueden modular uno o más de los procedimientos siguientes, incluyendo, aunque sin limitación, por ejemplo, el crecimiento celular (incluyendo, por ejemplo, la diferenciación, la supervivencia celular y/o la proliferación), el crecimiento de las células tumorales (incluyendo, por ejemplo, la diferenciación, la supervivencia celular y/o la proliferación), la regresión tumoral, el crecimiento de las célula



5 La síntesis del compuesto B se describe en el esquema 3. La sustitución del flúor del compuesto G por compuesto F proporcionó compuesto H. El grupo nitro del compuesto H se redujo con un metal, tal como hierro, generando el compuesto B.

Esquema 3



Descripción de formas de realización

10

Espectros de RMN de protones

15 A menos que se indique lo contrario, todos los espectros de RMN ¹H se llevaron a cabo en un instrumento Varian series Mercury 300 de 400 MHz o un instrumento Bruker series de 400 MHz. En donde se caracterizan, todos los protones observados se expresan en partes por millón (ppm) campo abajo del tetrametilsilano (TMS) u otra referencia interna en el solvente apropiado indicado.

Abreviaturas

20

DMF se refiere a N,N-dimetilformamida

DCM se refiere a diclorometano

25

DCE se refiere a dicloroetano

DIPEA se refiere a diisopropiletilamina

THF se refiere a tetrahidrofurano

30

TEA se refiere a trietilamina

TFA se refiere a ácido trifluoroacético

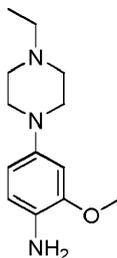
35

AE se refiere a acetato de etilo

TA se refiere a temperatura ambiente

Ejemplo 1 (ejemplo comparativo):

Preparación de 4-(4-etilpiperazín-1-il)-2-metoxianilina (compuesto 1)



5

Etapa 1: a una solución de 1-etilpiperazina (1,6 g, 14,0 mmoles) y carbonato de potasio (3,2 g, 23,4 mmoles) en DMF (10 ml) se añadió 4-fluoro-2-metoxi-1-nitrobenzoceno (2,0 g, 11,7 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a 100°C durante 3 días; después se dejó enfriar hasta la TA, se diluyó con H₂O y se extrajo con acetato de éter. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto, 1-etil-4-(3-metoxi-4-nitrofenil)piperazina, se utilizó para la etapa siguiente sin purificación adicional.

10

Etapa 2: se disolvió 1-etil-4-(3-metoxi-4-nitrofenil)piperazina y NH₄Cl (1,3 g, 23,4 mmoles) en etanol (20 ml) y agua (20 ml). La mezcla de reacción se calentó a 50°C y después se añadió hierro (2,6 g, 46,8 mmoles). La mezcla de reacción se calentó bajo reflujo durante 4 horas, se enfrió a 50°C, se filtró y el residuo se lavó con etanol. El filtrado recolectado se evaporó bajo vacío en primer lugar para eliminar parte del solvente (por lo menos la mitad del mismo). Se ajustó el pH de la solución resultante a 8-9 y se extrajo con acetato de etilo (6x30 ml). Se agruparon las capas orgánicas, se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna flash en gel de sílice, proporcionando 4-(4-etilpiperazín-1-il)-2-metoxianilina (720 mg).

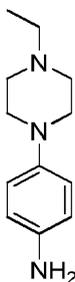
15

20

Ejemplo 2 (ejemplo comparativo):

Preparación de 4-(4-etilpiperazín-1-il)anilina (compuesto 2)

25



30

A una solución de 1-etilpiperazina (2,1 g, 18,0 mmoles, 1,2 eq.) y carbonato de potasio (4,2 g, 30,0 mmoles, 2,0 eq.) en DMF (10 ml) se añadió 1-bromo-4-nitrobenzoceno (3,0 g, 15,0 mmoles, 1,0 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 100°C durante 3 días, se dejó enfriar hasta la TA, se diluyó con H₂O y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna flash en gel de sílice, proporcionando 1-etil-4-(4-nitrofenil)piperazina en forma de un aceite amarillo (3,2 g).

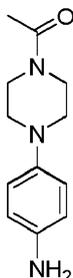
35

Se disolvió 1-etil-4-(4-nitrofenil)piperazina (3,2 g, 11,9 mmoles, 1,0 eq.) y NH₄Cl (1,3 g, 23,8 mmoles, 2,0 eq.) en etanol (30 ml) y agua (30 ml). La mezcla de reacción se calentó a 50°C, después se añadió hierro (2,7 g, 47,6 mmoles, 4,0 eq.). A continuación, se calentó la mezcla de reacción bajo reflujo durante 3 horas, se enfrió hasta 50°C, se filtró y el residuo se lavó con etanol. Se eliminó bajo vacío la mayor parte del solvente de la solución recolectada y después se ajustó el pH de la solución resultante a 8-9. La solución resultante se extrajo con acetato de etilo (3x100 ml). Las capas orgánicas se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna flash en gel de sílice, proporcionando 4-(4-etilpiperazín-1-il)anilina (1,2 g).

40

Ejemplo 3 (ejemplo comparativo):

Preparación de 1-(4-(4-aminofenil)piperazín-1-il)etanona (compuesto 3)



5

A una solución de 1-(piperazín-1-il)etanona (2,3 g, 18,0 mmoles, 1,2 eq.) y carbonato de potasio (4,2 g, 30,0 mmoles, 2,0 eq.) en DMF (10 ml) se añadió 1-bromo-4-nitrobenzoceno (3,0 g, 15,0 mmoles, 1,0 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 100°C durante 3 días, se dejó que se enfriase hasta la TA, se diluyó con H₂O y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice, proporcionando 1-(4-(4-nitrofenil)piperazín-1-il)etanona (1,8 g) en forma de un aceite amarillo.

10

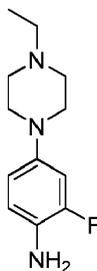
Se disolvió 1-(4-(4-nitrofenil)piperazín-1-il)etanona (1,8 g, 7,2 mmoles, 1,0 eq.) y NH₄Cl (770 mg, 14,4 mmoles, 2,0 eq.) en etanol (35 ml) y agua (35 ml). La mezcla de reacción se calentó hasta 50°C y se añadió hierro (1,6 g, 28,8 mmoles, 4,0 eq.). A continuación, la mezcla de reacción se calentó bajo reflujo durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 50°C, se filtró y se lavó con etanol. Se eliminó bajo vacío la mayor parte del solvente del filtrado recolectado y se ajustó el pH de la solución resultante a 8-9; a continuación se extrajo con acetato de etilo (3x100 ml). Se agruparon las capas orgánicas, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna flash en gel de sílice, proporcionando 1-(4-(4-aminofenil)piperazín-1-il)etanona (1,2 g).

15

20

Ejemplo 4 (ejemplo comparativo):

25 Preparación de 4-(4-etilpiperazín-1-il)-2-fluoroanilina (compuesto 4)



30

Se añadió 2,4-difluoro-1-nitrobenzoceno (2,0 g, 12,6 mmoles, 1,0 eq.) a una solución de 1-etilpiperazina (1,7 g, 15,1 mmoles, 1,2 eq.) y carbonato de potasio (3,5 g, 25,2 mmoles, 2,0 eq.) en DMF (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 100°C durante 3 días, se enfrió hasta la TA, se diluyó con H₂O y se extrajo con acetato de etilo. Se secaron las capas orgánicas sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice, proporcionando 1-etil-4-(3-fluoro-4-nitrofenil)piperazina (2,9 g) en forma de un aceite amarillo.

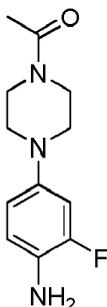
35

Se disolvió 1-etil-4-(3-fluoro-4-nitrofenil)piperazina (2,9 g, 11,5 mmoles, 1,0 eq.) y NH₄Cl (1,2 g, 23,0 mmoles, 2,0 eq.) en etanol (15 ml) y agua (15 ml). La mezcla de reacción se calentó hasta 50°C y después se añadió hierro (2,6 g, 45,8 mmoles, 4,0). A continuación, la mezcla de reacción se calentó bajo reflujo durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 50°C, se filtró y el residuo se lavó con etanol. Se eliminó bajo vacío la mayor parte del solvente de la solución recolectada y se ajustó el pH de la solución resultante a 8-9 y después se extrajo la solución resultante con acetato de etilo (3x100 ml). Se agruparon las capas orgánicas, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna flash en gel de sílice, proporcionando 4-(4-etilpiperazín-1-il)-2-fluoroanilina (1,3 g).

40

Ejemplo 5 (ejemplo comparativo):

Preparación de 1-(4-(4-amino-3-fluorofenil)piperazín-1-il)etanona (compuesto 5)



5

Se añadió 2,4-difluoro-1-nitrobenzono (2,0 g, 12,5 mmoles, 1,0 eq.) a una mezcla de 1-(piperazín-1-il)etanona (1,6 g, 12,5 mmoles, 1,0 eq.) y carbonato de potasio (3,5 g, 25,0 mmoles, 2,0 eq.) en DMF (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a 100°C durante la noche, se dejó que se enfriase hasta la TA, se diluyó con H₂O y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice, proporcionando 1-(4-(3-fluoro-4-nitrofenil)piperazín-1-il)etanona (2,4 g) en forma de un aceite amarillo.

10

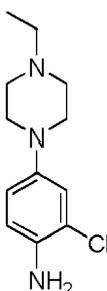
Se disolvió 1-(4-(3-fluoro-4-nitrofenil)piperazín-1-il)etanona (2,4 g, 8,96 mmoles, 1,0 eq.) y NH₄Cl (961 mg, 17,9 mmoles, 2,0 eq.) en etanol (35 ml) y agua (35 ml). La mezcla de reacción se calentó hasta 50°C y después se añadió hierro (2,0 g, 35,8 mmoles, 4,0 eq.) a la mezcla de reacción. A continuación, la mezcla de reacción se calentó bajo reflujo durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 50°C y se filtró a través de tierra diatomácea. La torta se lavó con etanol. Se eliminó bajo vacío la mayor parte del solvente de la solución resultante. Seguidamente se ajustó el pH de la solución a 8-9 y se extrajo con acetato de etilo (3x100 ml). Las capas orgánicas agrupadas se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice, proporcionando 1-(4-(4-amino-3-fluorofenil)piperazín-1-il)etanona (1,0 g).

15

20

Ejemplo 6 (ejemplo comparativo):

Preparación de 2-cloro-4-(4-etilpiperazín-1-il)anilina (compuesto 6)



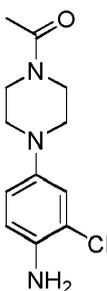
25

Se sintetizó el compuesto del título mediante el mismo procedimiento que el descrito en el ejemplo 4. Sin embargo se utilizaron los materiales de partida 1-(3-cloro-4-nitrofenil)-4-etilpiperazina y 1-etilpiperazina.

30

Ejemplo 7 (ejemplo comparativo):

Preparación de 1-(4-(4-amino-3-clorofenil)piperazín-1-il)etanona (compuesto 7)

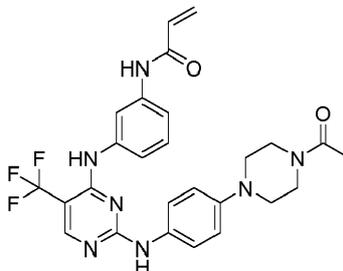


35

Se sintetizó el compuesto del título mediante un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 5. Se utilizaron los materiales de partida 2-cloro-4-fluoro-1-nitrobenzono y 1-(piperazín-1-il)etanona.

5 Ejemplo 8 (ejemplo comparativo):

Preparación de N-[3-[[2-[4-(4-acetilpiperazín-1-il)anilino]-5-(trifluorometil)pirimidín-4-il]amino]fenil]prop-2-enamida (compuesto 8)

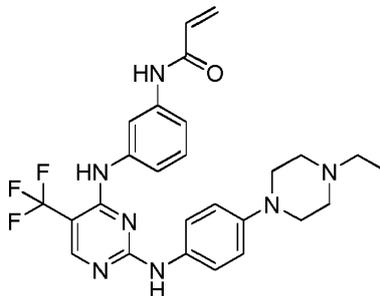


10 A una solución de 2,4-dicloro-5-(trifluorometil)pirimidina (325,5 mg, 1,5 mmoles, 1,0 eq.) en DCE/*t*-BuOH (8 ml/1 ml) a 0°C se añadió ZnCl₂ en éter (1,0 M, 3,3 ml, 3,3 mmoles, 2,2 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 hora y se añadió 1-(4-(4-aminofenil)piperazín-1-il)etanona (400 mg, 1,84 mmoles, 1,2 eq.) en DCE/*t*-BuOH (2 ml/2ml), seguido de una adición gota a gota de DIPEA (213 mg, 1,65 mmoles, 1,1 eq.). La
15 reacción se agitó a TA durante dos días y se realizó un seguimiento mediante CCF. Se eliminó el solvente bajo presión reducida y el residuo se disolvió en agua/etanol (26 ml, al 25%) y se calentó a 90°C. La solución se enfrió hasta la TA durante 2 horas, se filtró y se secó, proporcionando 1-[4-[4-[[4-cloro-5-(trifluorometil)pirimidín-2-il]amino]fenil]piperazín-1-il]etanona (560 mg).

20 A una solución de 1-[4-[4-[[4-cloro-5-(trifluorometil)pirimidín-2-il]amino]fenil]piperazín-1-il]etanona (400 mg, 1,0 mmol, 1,0 eq.) y N-(3-aminofenil)prop-2-enamida (192 mg, 1,0 mmol, 1,0 eq.) en 1,4-dioxano 810 ml) se añadió TFA (cantidad catalítica) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó hasta la TA y se agitó durante la noche. Se desactivó la reacción con agua. Se ajustó el pH de la mezcla de reacción a 8-9 y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x50 ml). Se agruparon las capas orgánicas, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se
25 filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna flash en sílice con AE, proporcionando 240 mg de producto en bruto. El producto en bruto se lavó con etanol (20 ml), proporcionando N-[3-[[2-[4-(4-acetilpiperazín-1-il)anilino]-5-(trifluorometil)pirimidín-4-il]amino]fenil]prop-2-enamida (160 mg). RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,20 ppm (s, 1H), 9,51 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,63-7,65 (d, *J* = 8,4Hz, 1H), 7,33-7,40 (m, 3H), 7,13 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 6,44-6,48 (m, 1H), 6,25-6,29 (d, *J* = 16,4Hz, 1H), 5,76-5,78 (d, *J* = 10,0Hz, 1H), 3,55-3,56 (m, 4H), 2,92-2,99 (m, 4H), 2,04 (s, 3H). EM *m/z* 526 [M+1].

Ejemplo 9 (ejemplo según la invención):

35 Preparación de N-[3-[[2-[4-(4-etilpiperazín-1-il)anilino]-5-(trifluorometil)pirimidín-4-il]amino]fenil]prop-2-enamida (compuesto 9)

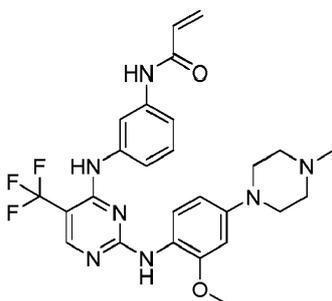


40 A una solución de 2,4-dicloro-5-(trifluorometil)pirimidina (434 mg, 2,0 mmoles, 1,0 eq.) en DCE/*t*-BuOH (8 ml/1 ml) a 0°C se añadió ZnCl₂ en éter (4,4 ml, 4,4 mmoles, 2,2 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 hora y se añadió 4-(4-etilpiperazín-1-il)anilina (410 mg, 2,0 mmoles, 1,0 eq.) en DCE/*t*-BuOH (2 ml/2 ml), seguido de una adición gota a gota de trietilamina (222 mg, 2,2 mmoles, 1,1 eq.). La reacción se agitó durante la noche a TA y se realizó un seguimiento de la misma mediante CCF. La reacción se desactivó con agua (30 ml), se extrajo con acetato de etilo (3x30 ml). Se agruparon las capas orgánicas, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de
45 columna flash en gel de sílice, proporcionando 4-cloro-N-[4-(4-etilpiperazín-1-il)fenil]-5-(trifluorometil)pirimidín-2-amina (200 mg).

5 A una solución de 4-cloro-N-[4-(4-etilpiperazín-1-il)fenil]-5-(trifluorometil)pirimidín-2-amina (184 mg, 0,48 mmoles, 1,0 eq.) y N-(3-aminofenil)prop-2-enamida (91,5 mg, 0,48 mmoles, 1,0 eq.) en 1,4-dioxano (10 ml) se añadió TFA (cantidad catalítica) a 0°C. Se calentó la mezcla de reacción a la TA y se agitó durante la noche. La reacción se desactivó con agua y se ajustó el pH de la solución a 8-9. La solución resultante se extrajo con acetato de etilo (3x30 ml). Se agruparon las capas orgánicas, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna flash en sílice con AE, proporcionando N-[3-[[2-[4-(4-etilpiperazín-1-il)anilín]-5-(trifluorometil)pirimidín-4-il]amino]fenil]prop-2-enamida (160 mg). RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,02 ppm (s, 1H), 9,61 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,37-7,29 (m, 4H), 7,04-7,00 (m, 1H), 6,90 (d, J = 8Hz, 2H), 6,50-6,43 (m, 1H), 6,28-6,23 (m, 1H), 5,76 (d, J = 2Hz, 1H), 4,12-4,08 (m, 1H), 3,19-3,11 (m, 7H), 2,41-2,36 (m, 2H), 1,05 (t, J= 7,2 Hz, 3H). EM m/z 512 [M+1].

Ejemplo 10 (ejemplo comparativo):

15 Preparación de N-[3-[[2-[4-(4-etilpiperazín-1-il)-2-metoxi-anilino]-5-(trifluorometil)pirimidín-4-il]amino]fenil]prop-2-enamida (compuesto 10)

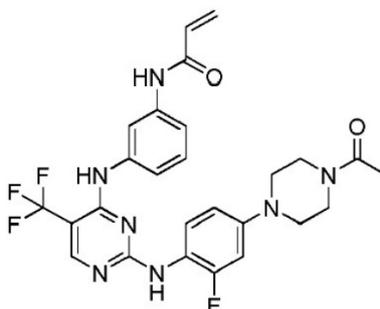


20 A una solución de 2,4-dicloro-5-(trifluorometil)pirimidina (434 mg, 2,0 mmoles, 1,0 eq.) en DCE/*t*-BuOH (8 ml/1 ml) a 0°C se le añadió ZnCl₂ en éter (4,4 ml, 4,4 mmoles, 2,2 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 hora y se añadió 4-(4-etilpiperazín-1-il)-2-metoxi-anilina (470 mg, 2,0 mmoles, 1,0 eq.) en DCE/*t*-BuOH (2 ml/2 ml), seguido de una adición gota a gota de trietilamina (222 mg, 2,2 mmoles, 1,1 eq.). La reacción se agitó durante la noche a TA y se realizó un seguimiento de la misma mediante CCF. La reacción se desactivó con agua (30 ml), se extrajo con acetato de etilo (3x30 ml). Se agruparon las capas orgánicas, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna flash en gel de sílice, proporcionando 4-cloro-N-[4-(4-etilpiperazín-1-il)fenil]-5-(trifluorometil)pirimidín-2-amina (200 mg).

30 A una solución de 4-cloro-N-[4-(4-etilpiperazín-1-il)fenil]-2-metoxi-fenil]-5-(trifluorometil)pirimidín-2-amina (184 mg, 0,48 mmoles, 1,0 eq.) y N-(3-aminofenil)prop-2-enamida (91,5 mg, 0,48 mmoles, 1,0 eq.) en 1,4-dioxano (10 ml) se le añadió TFA (cantidad catalítica) a 0°C. Se calentó la mezcla de reacción a la TA y se agitó durante la noche. La reacción se desactivó con agua y se ajustó el pH de la solución a 8-9. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3x30 ml). Se agruparon las capas orgánicas, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna flash en sílice con AE, proporcionando N-[3-[[2-[4-(4-etilpiperazín-1-il)-2-metoxi-anilino]-5-(trifluorometil)pirimidín-4-il]amino]fenil]prop-2-enamida (160 mg). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,32 ppm (s, 1H), 7,99-8,02 (d, J=7,2, 1H), 7,93(s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,33-7,37 (t, J=8,0, 1H), 7,22(s, 2H), 6,88 (s, 1H), 6,55(d, J =2,4, 1H), 6,45-6,50 (m, 2H), 6,23-6,30(m, 1H), 5,79-5,82(m, 1H), 3,89(s, 3H), 3,19-3,22 (t, J =5,0, 4H), 2,64-2,66 (t, J =5,0, 4H), 2,51-2,53(m, 2H), 2,04(s, 3H), 1,15-1,18(t, J= 7,2, 3H). EM m/z 542 [M+1].

Ejemplo 11 (ejemplo comparativo):

Preparación de N-[3-[[2-[4-(4-acetilpiperazín-1-il)-2-fluoro-anilino]-5-(trifluorometil)pirimidín-4-il]amino]fenil]prop-2-enamida (compuesto 11)



45

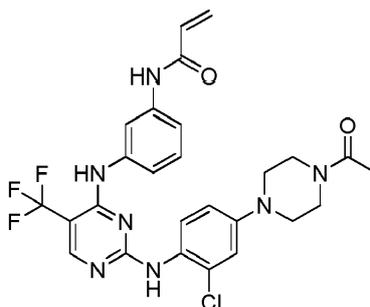
El compuesto del título se sintetizó utilizando un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 8. Se utilizaron los materiales de partida 2,4-dicloro-5-(trifluorometil)pirimidina y 1-(4-(4-amino-3-fluoro-fenil)piperazín-1-il)etanona.

5

Ejemplo 12 (ejemplo comparativo):

Preparación de N-[3-[[2-[4-(4-acetilpiperazín-1-il)-2-cloro-anilino]-5-(trifluorometil)pirimidín-4-il]amino]fenil]prop-2-enamida (compuesto 12)

10

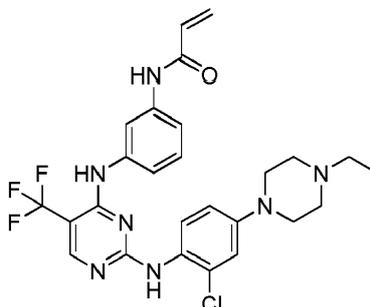


Se sintetizó el compuesto del título utilizando un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 8. Se utilizaron los materiales de partida 2,4-dicloro-5-(trifluorometil)pirimidina y 1-[4-(4-amino-3-cloro-fenil)piperazín-1-il]etanona.

15

Ejemplo 13 (ejemplo comparativo):

Preparación de N-[3-[[2-[2-cloro-4-(4-etilpiperazín-1-il)anilino]-5-(trifluorometil)pirimidín-4-il]amino]fenil]prop-2-enamida (compuesto 13)

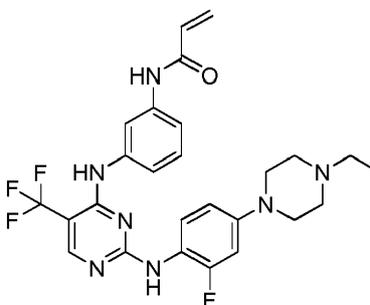


20

Se sintetizó el compuesto del título utilizando un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 9. Se utilizaron los materiales de partida 2,4-dicloro-5-(trifluorometil)pirimidina y 2-cloro-4-(4-etilpiperazín-1-il)anilina.

Ejemplo 14 (ejemplo comparativo):

Preparación de N-[3-[[2-[4-(4-etilpiperazín-1-il)-2-fluoro-anilino]-5-(trifluorometil)pirimidín-4-il]amino]fenil]prop-2-enamida (compuesto 14)



30

Se sintetizó el compuesto del título utilizando un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 9. Se utilizaron los materiales de partida 2,4-dicloro-5-(trifluorometil)pirimidina y 4-(4-etilpiperazín-1-il)-4-fluoro-anilina.

Ensayos biológicos:

35

Tal como se ha indicado anteriormente en la presente memoria, los compuestos definidos en la presente

invención presentan actividad antiproliferativa. Estas propiedades pueden evaluarse, por ejemplo, mediante la utilización de uno o más de los procedimientos explicados a continuación.

5 Un ensayo *in vitro* que determina la capacidad de un compuesto de ensayo de inhibir la actividad de la cinasa de EGFR(T790M/L858R):

Se prepararon cepas de fago T7 etiquetadas con cinasa en un huésped *E. coli* derivado de la cepa BL21. Se cultivaron *E. coli* hasta la fase logarítmica y se infectaron con fago T7 y se incubaron bajo agitación a 32°C hasta la lisis. Se centrifugaron los lisados y se filtraron para eliminar los residuos celulares. Las cinasas remanentes se produjeron en células HEK-293 y a continuación se etiquetaron con ADN para la detección mediante qPCR. Las perlas magnéticas recubiertas con estreptavidina se trataron con ligandos de molécula pequeña biotinilados durante 30 minutos a temperatura ambiente para generar resinas de afinidad para los ensayos de cinasa. Las perlas con ligandos se bloquearon con un exceso de biotina y se lavaron con tampón de bloqueo (SeaBlock (Pierce), BSA al 1%, Tween-20 al 0,05%, DTT 1 mM) para eliminar el ligando no unido y para reducir la unión no específica. Se ensamblaron las reacciones de unión mediante la combinación de cinasas, perlas de afinidad con ligando y compuestos de ensayo en tampón de unión 1x (SeaBlock al 20%, 0,17x PBS, Tween-20 al 0,05%, DTT 6 mM). Todas las reacciones se llevaron a cabo en placas de 96 pocillos de poliestireno en un volumen final de 0,135 ml. Las placas de ensayo se incubaron a temperatura ambiente bajo agitación durante 1 hora y las perlas de afinidad se lavaron con tampón de lavado (1x PBS, Tween-20 al 0,05%). A continuación, las perlas se resuspendieron en tampón de elución (1x PBS, Tween-20 al 0,05%, ligando de afinidad no biotinilado 0,5 µM) y se incubaron a temperatura ambiente bajo agitación durante 30 minutos. La concentración de cinasas en los eluidos se midió mediante qPCR.

Se preparó una dilución en serie de 3 veces de 11 puntos de cada compuesto de ensayo en DMSO al 100% a una concentración de ensayo final de 100x y posteriormente se diluyó hasta 1x en el ensayo (concentración final de DMSO=1%). Se determinaron las K_d utilizando una concentración máxima de compuesto=10.000 nM. En el caso de que la K_d inicial determinada fuese <0,5 nM (la concentración más baja analizada), se repetía la medición con una dilución en serie partiendo de una concentración máxima más baja. Un valor de K_d informado como 40.000 nM indica que se había determinado que la K_d era >30.000 nM.

Se calcularon las constantes de unión (K_d) con una curva de dosis-respuesta estándar utilizando la ecuación de Hill: Respuesta = Fondo + (Señal - Fondo)/(1 + (K_d^{pendiente de Hill} / Dosis^{pendiente de Hill})). Se fijó la pendiente de Hill en -1. Las curvas se ajustaron utilizando un ajuste de cuadrados mínimos no lineal con el algoritmo de Levenberg-Marquardt.

La tabla A proporcionada a continuación lista los compuestos sometidos a ensayo y sus actividades en el ensayo de EGFR (T790M/L858R).

Tabla A: resultados del ensayo de EGFR (T790M/L858R)

Compuesto	K _d EGFR(T790M/L858R)
CO-1686	1,4 nM
8	0,54 nM
9	0,037 nM
10	0,28 nM

Se llevó a cabo un ensayo *in vitro* que determina la capacidad de un compuesto de ensayo de inhibir la actividad de cinasa de EGFR o EGFR(E746-A750del) bajo una condición similar a la que ha sido descrita anteriormente para el ensayo *in vitro* que determina la capacidad de un compuesto de ensayo de inhibir la actividad de cinasa de EGFR(T790M/L858R).

La tabla B a continuación presenta los compuestos sometidos a ensayo y sus actividades en ensayos de cinasas de EGFR y EGFR(E746-A750del).

Tabla B: resultados de ensayo de EGFR (E746-A750del)

Compuesto	K _d EGFR	K _d EGFR(E746-A750del)
WZ4002	46 nM	12 nM
8	84 nM	26 nM
9	15 nM	4 nM

Se sometió a ensayo un número representativo de compuestos contra líneas de células de cáncer NCI-H1975 utilizando el ensayo de proliferación celular a continuación:

1. Se sembraron 5x10³ células por pocillo en 100 µl de medio en placa de 96 pocillos y el medio contenía 5%

de FBS.

2. 24 horas después, se añadieron 100 µl de medio fresco con diversas concentraciones de compuestos a cada pocillo. El medio en este caso se encontraba libre de FBS.

3. A continuación, las células se trataron con los compuestos durante 72 horas; se añadieron 20 µl de MTT (5 mg/ml) a cada pocillo y después se incubó la placa de ensayo a 37°C durante 4 horas adicionales.

4. Se centrifugó la placa de ensayo a 800 g durante 10 min. Se aspiró el medio y se añadieron 150 µl de DMSO a cada pocillo. Se agitó suavemente la placa durante 10 min.

5. Se midió la absorbancia a 570 nm en el lector de placas.

6. $\%IR = (WC - WT) / WC * 100\%$.

La tabla C a continuación proporciona una lista de los compuestos representativos de la invención y su actividad en ensayo celular.

Tabla C: resultados de ensayo celular

	CO-1686	WZ4002	Compuesto 9	Compuesto 10
NCI-H1975	910 nM	67 nM	< 10 nM	150 nM

Ensayo de xenoinjertos *in vivo*:

A continuación se proporciona un protocolo representativo para el experimento *in vivo* de establecimiento de un modelo de xenoinjerto de la línea celular NCI-H1975 subcutánea en ratones desnudos y de evaluación de la eficacia terapéutica *in vivo* de los compuestos: se cultivaron células H1975 en RPMI1640 que contenía suero de feto bovino al 10%, L-glutamina al 1%, 100 U/ml de penicilina G y 100 µg/ml de estreptomycin. Se recolectaron las células en fase de crecimiento logarítmico y se resuspendieron en 1xPBS para la implantación.

Se establecieron xenoinjertos tumorales mediante la inyección de 5×10^6 células tumorales/ratón en el flanco derecho por vía s.c. bajo condiciones estériles. Tras alcanzar los tumores un tamaño apropiado (100 a 200 mm³), los ratones se asignaron aleatoriamente en grupos de 6 ratones (8 ratones en el grupo de control). Se midieron los tumores utilizando un calibrador en dos dimensiones: longitud (a) y anchura (b). Se estimaron los volúmenes tumorales a partir de las mediciones de dos diámetros de los tumores individuales, de la manera siguiente:

$$\text{Volumen tumoral (mm}^3\text{)} = (a \times b^2) / 2$$

Se midieron dos veces a la semana los tamaños tumorales y los pesos corporales de los animales. Se observaron los ratones diariamente para signos clínicos. Se recolectaron las muestras de sangre 2 horas después del último tratamiento, se prepararon muestras de plasma y se almacenaron a -80°C. Se separaron los tejidos tumorales, se pesaron, se fotografiaron y seguidamente se almacenaron a -80°C para el análisis posterior. Todos los experimentos animales se llevaron a cabo siguiendo las directrices para la utilización y cuidado de los animales de la University of Traditional Medicine. Se calcularon los parámetros para la evaluación *in vivo* de la eficacia de acuerdo con las directrices de la SFDA. Se calculó el porcentaje T/C (%) con la fórmula siguiente: $T/C (\%) = (T_{VTR} / C_{VTR}) \times 100\%$, en la que T_{VTR} y C_{VTR} se refiere al volumen tumoral relativo en grupo de tratamiento y grupo de control de vehículo, respectivamente. Se calculó el volumen tumoral relativo (VTR) utilizando la fórmula a continuación: $VTR = V_t / V_0$, en la que V_t representa el volumen el día de ensayo y V_0 representa el volumen el primer día de tratamiento. Se calculó la inhibición del crecimiento tumoral (ICT, %) como $ICT (\%) = 100\% - T/C$.

En el punto final del estudio, tras la recolección de la sangre, se practicó la eutanasia de los ratones mediante dislocación cervical, se recolectó en primer lugar el tejido tumoral y después se abrió la cavidad abdominal, se extirparon el hígado y el bazo y se pesaron tras eliminar la vesícula biliar. Se compararon los pesos de los órganos en el grupo tratado frente al grupo de control. El día 14, los compuestos 8 y 9 mostraron una buena eficacia en el estudio de xenoinjerto NCI-H1975 y el compuesto 9 mostró una inhibición del crecimiento tumoral mucho mejor que con CO-1686.

La tabla D a continuación lista los compuestos sometidos a ensayo y su actividad en el modelo de xenoinjerto de línea celular NCI-H1975 subcutánea en ratones desnudos indicado anteriormente.

Tabla D: inhibición del crecimiento tumoral (ICT, %) en el modelo de xenoinjerto de NCI-H1975

Días \ Compuesto	CO-1686 (30 mg/kg)	8 (30 mg/kg)	9 (6 mg/kg)
14	ICT = 83%	ICT = 49%	ICT = 76%

5 Un protocolo representativo para el experimento *in vivo* de establecimiento del modelo de xenoinjerto de la línea celular A431 subcutáneo en ratones desnudos y de evaluación de la eficacia terapéutica *in vivo* de los compuestos es similar al protocolo descrito anteriormente para el modelo de xenoinjerto de la línea celular NCI-H1975 subcutáneo en ratones desnudos. El día 7, el compuesto 9 a una dosis de 20 mg/kg (ICT=48,2%) mostraba una inhibición mejor del crecimiento tumoral que CO-1686 a una dosis de 100 mg/kg (ICT=38,7%).

10 La tabla E a continuación lista los compuestos sometidos a ensayo y su actividad en el modelo de xenoinjerto de la línea celular A431 subcutáneo.

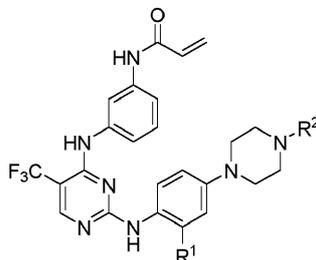
Tabla E: inhibición del crecimiento tumoral (ICT, %) en el modelo de xenoinjerto A431

15

Días \ Compuesto	CO-1686 (100 mg/kg)	9 (20 mg/kg)
7	ICT = 38,7%	ICT = 48,2%

REIVINDICACIONES

1. Compuesto según la fórmula I:



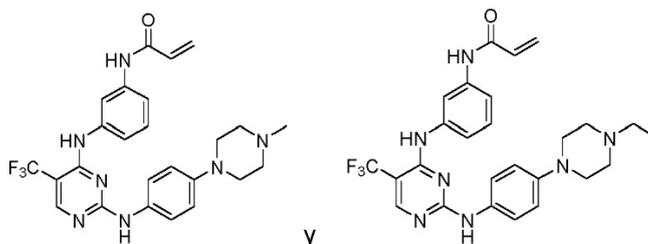
I

o sal farmacéuticamente aceptable, solvato, estereoisómero o tautómero del mismo, en el que

R¹ es hidrógeno;

R² es alquilo C₁-C₆.

2. Compuesto según la reivindicación 1 o su sal farmacéuticamente aceptable, solvato, estereoisómero o tautómero del mismo, en el/la que el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:



3. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un portador farmacéuticamente aceptable.

4. Composición farmacéutica según la reivindicación 3 para la utilización en el tratamiento de un trastorno en un individuo, en la que el trastorno es una neoplasia o un trastorno hiperproliferativo.

5. Composición farmacéutica para la utilización según la reivindicación 4, en la que el trastorno está mediado por la transducción de señalización de cinasa.

6. Composición farmacéutica para la utilización según la reivindicación 4, en la que el trastorno está mediado por cinasa de EGFR y/o sus mutantes.

7. Composición farmacéutica para la utilización según la reivindicación 4, en la que el trastorno está mediado por EGFR-T790M.

8. Composición farmacéutica para la utilización según la reivindicación 4, en la que el trastorno es neoplasia de uno de los siguientes: cáncer hepático, cáncer de piel, leucemia, carcinoma de colon, carcinoma de células renales, cáncer del estroma gastrointestinal, cáncer de tumor sólido, mieloma, cáncer de mama, carcinoma pancreático, carcinoma amicrocítico de pulmón, linfoma no hodgkiniano, carcinoma hepatocelular, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal y cáncer de próstata.

9. Composición farmacéutica para la utilización según la reivindicación 4, en la que el trastorno es el carcinoma amicrocítico de pulmón.

10. Composición farmacéutica para la utilización según la reivindicación 4, para la utilización en combinación con uno o más agentes anticancerosos, en el tratamiento de la neoplasia.