

Inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un nuevo inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y a sales, solvatos o estereoisómeros del mismo aceptables desde el punto de vista farmacéutico, composiciones farmacéuticas que comprenden los presentes compuestos, a un método para tratamiento y al uso de los presentes compuestos como medicamentos para el tratamiento de enfermedades o trastornos.

Antecedentes de la invención

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es una proteína tirosina quinasa transmembrana, miembro de la familia de receptores erbB. EGFR consiste en un dominio de unión a ligandos externo glicosilado (621 residuos) y un dominio citoplasmático (542 residuos) ligados por un conector corto transmembrana de 23 aminoácidos. La parte extracelular del EGFR contiene 25 enlaces de disulfuro y 12 sitios de glicosilación unidos a N, y generalmente se considera que consta de cuatro subdominios. Las estructuras cristalinas de rayos X del EGFR sugieren que el receptor adopta tanto una conformación ligada autoinhibida que no puede unirse al Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF) (Ferguson et al., Mol Cell, 2003, vol 11:507-517) como una conformación activa que puede mediar la unión al ligando de EGF y la dimerización del receptor (Garrett et al., Cell 2002, vol. 110:763-773; Ogiso et al., Cell, 2002, vol. 110:775-787). Luego de la unión de un ligando de factor de crecimiento como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el receptor puede homodimerizarse con otra molécula de EGFR o heterodimerizarse con otro miembro de la familia como erbB2 (HER2), erbB3 (HER3) o erbB4 (HER4). La homodimerización y/o heterodimerización de los receptores erbB resulta en la fosforilación de residuos de tirosina clave en el dominio intracelular y conduce a la estimulación de numerosas vías de transducción de señales intracelulares involucradas en la proliferación y supervivencia celulares. En Ciardiello F. N. Engl J Med 2008; 358:1160-1174 y Robert Roskoski Jr., Biochemical and Biophysical Research Communications 319 (2004) 1-11 se ofrecen revisiones detalladas de la señalización de los receptores erbB y su implicación en la tumorigénesis.

El vínculo del EGFR con las enfermedades oncológicas se reconoció por primera vez cuando se descubrió que el oncogén v-ErbB transformador del virus de la eritroblastosis aviar era un homólogo mutante del EGFR humano (Downward J. Nature. 1984; 307:521-527). Se encontró que el oncogén v-erbB contiene recombinaciones de los dominios transmembrana y citoplasmáticos del EGFR (Olofsson B. Eur. J. Biochem. 1986; 160:261-266), lo que implica aberraciones oncogénicas del EGFR. Además de las mutaciones, se observó luego que una sobreexpresión del EGFR promueve la progresión de una serie de tumores malignos (Gusterson B. Cell Biol. Int. Rep. 1984; 8:649-658), que incluyen sarcomas (Gusterson B. Int. J. Cancer. 1985; 36:689-693), cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) (Veale D. Br. J. Cancer. 1987; 55:513-516) y gliomas malignos (Wong A.J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1987; 84:6899-6903).

Actualmente se sabe que el EGFR regula numerosos procesos celulares a través de vías de transducción de señales mediadas por tirosina quinasa, que incluyen entre otras a la activación de vías de transducción de señales que controlan la proliferación celular, la diferenciación, la supervivencia celular, la apoptosis, la angiogénesis, la mitogénesis y la metástasis (Atalay et al., Ann. Oncology 14: 1346-1363[2003]; Herbst R.S. Cancer. 2002; 94: 1593-1611; Modjtahedi et al., Br. J. Cancer. 1996; 73: 228-235). Se ha informado la sobreexpresión del EGFR en numerosos tumores malignos humanos, incluidos cánceres de vejiga, cerebro, cabeza y cuello, páncreas, pulmón, mama, ovario, colon, próstata y riñón (Atalay et al., Ann. Oncology 14: 1346-1363[2003]; Herbst R.S. Cancer. 2002; 94: 1593-1611; Modjtahedi et al., Br. J. Cancer. 1996; 73: 228-235). El EGFR también se expresa en las células de tejidos normales, particularmente en los tejidos epiteliales de la piel, el hígado y el tracto gastrointestinal, aunque a niveles generalmente más bajos que en las células malignas (Herbst R.S. Cancer. 2002; 94: 1593-1611).

Se sabe que los inhibidores de la tirosina quinasa del EGFR de bajo peso molecular se utilizan en el tratamiento de enfermedades oncológicas, por ejemplo, en el tratamiento del cáncer de pulmón

no microcítico y el cáncer de páncreas; los anticuerpos anti-EGFR se utilizan en el tratamiento del cáncer colorrectal y el cáncer de cabeza y cuello (Ping Wee. *Cancers* (Basel). 2017 May; 9(5): 52).

Se observan mutaciones frecuentes e hiperexpresión del EGFR en muchas enfermedades oncológicas, por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de nuevos fármacos efectivos y seguros dirigidos a inhibir la actividad del EGFR.

Descripción de la invención

Los términos utilizados en la descripción de esta invención aparecen a continuación.

Opcionalmente sustituido en una, dos, tres o varias posiciones significa que el grupo especificado puede ser sustituido por un radical o cualquier combinación de radicales en una, dos, tres o de una a seis posiciones.

“Alquilo” significa un grupo de hidrocarburos alifáticos de cadena recta o de cadena ramificada que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono. Cadena ramificada significa una cadena de alquilo que tiene uno o más sustituyentes “alquilo inferior”. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, entre otros, a metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo, *iso*-butilo, *sec*-butilo, *ter*-butilo, *n*-pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, *neo*-pentilo, *n*-hexilo. Un alquilo puede tener sustituyentes que pueden ser de la misma o diferente estructura.

“Cicloalquilo” significa un anillo carbocíclico saturado que contiene de 3 a 10 átomos de carbono anulares. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, entre otros, a grupos monocíclicos, como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclónonilo o ciclodecilo; grupos bicíclicos, como bicicloheptilo o biciclooctilo. Un cicloalquilo puede tener sustituyentes que pueden ser de la misma o diferente estructura.

“Alquenilo” significa un grupo de hidrocarburos alifáticos de cadena recta o de cadena ramificada que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono que contiene uno o más enlaces dobles de carbono-carbono. Un alquenilo puede tener sustituyentes que pueden ser de la misma o diferente estructura.

“Alquinilo” significa un grupo de hidrocarburos alifáticos de cadena recta o de cadena ramificada que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono que contiene uno o más enlaces triples de carbono-carbono. Un alquinilo puede tener sustituyentes que pueden ser de la misma o diferente estructura.

“Arilo” significa un sistema aromático monocíclico o policíclico que tiene de 6 a 14 átomos de carbono, preferiblemente de 6 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, entre otros, a fenilo, fenileno, bencenotriilo, indanilo, naftilo, naftileno, naftalenotriilo y antrileno. Un arilo puede tener sustituyentes cíclicos del sistema que pueden ser de la misma o diferente estructura. Un arilo puede formar un anillo con un sistema cíclico no aromático o heterocíclico.

“Alquiloxi” o “Alcoxi” significa un grupo alquil-O-, donde alquilo se define en esta sección. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen, entre otros, a metoxi, etoxi, *n*-propoxi, *iso*-propoxi, *n*-butoxi, *terc*-butoxi, *iso*-butoxi.

“Arilox” o “grupo arilox” significa un grupo aril-O-, donde arilo se define en esta sección. Un ejemplo de grupo arilox es, entre otros, un grupo fenoxi.

“Cicloalquiloxi” o “grupo cicloalquiloxi” significa un grupo cicloalquil-O-, donde cicloalquilo se define en esta sección. Los ejemplos de grupos cicloalquiloxi incluyen, entre otros, a ciclohexiloxi, ciclopentiloxi, ciclobutiloxi o ciclopropiloxi.

“Grupo amino” significa un grupo R'R"N-.

“Aminocarbonilo” significa un grupo -C(=O)NR'R".

Los ejemplos de R' y R" incluyen, entre otros, a sustituyentes seleccionados del grupo que comprende hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo, o R' y R" junto con el átomo de carbono al que están unidos, pueden formar un heterociclilo o un heteroarilo de 4-7 miembros.

“Alquilo inferior” significa un alquilo de cadena recta o cadena ramificada que tiene de 1 a 4 átomos de carbono.

“Halo” o “Halógeno” (Hal) significa fluoro, cloro, bromo o yodo.

“Heterociclo”, “heterociclilo”, “anillo heterocíclico” significa un sistema monocíclico o policíclico que tiene de 3 a 11 átomos de carbono, de los cuales uno o más átomos de carbono son sustituidos por uno o más heteroátomos, tales como nitrógeno, oxígeno y azufre. El heterociclo puede condensarse con arilo o heteroarilo. Un heterociclo puede tener uno o más sustituyentes que pueden ser de la misma o diferente estructura. Los átomos de nitrógeno y azufre del heterociclo podrían oxidarse a N-óxido, S-óxido o S-dióxido. El heterociclo puede estar totalmente saturado, parcialmente saturado e insaturado. Los ejemplos de heterociclo incluyen, entre otros, a azetidina, pirrolidina, piperidina, 2,8-diazaspiro[4.5]decano, piperazina, morfolina y otros.

“Heteroarilo” significa un sistema aromático monocíclico o policíclico que tiene de 5 a 11 átomos de carbono, preferiblemente de 5 a 10, de los cuales uno o más átomos de carbono son sustituidos por uno o más heteroátomos, tales como nitrógeno, azufre u oxígeno. El átomo de nitrógeno del heteroarilo podría oxidarse a N-óxido. Un heteroarilo puede tener uno o más sustituyentes que pueden ser de la misma o diferente estructura. Ejemplos de heteroarilo son pirrolilo, furanilo, tienilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, tiazolilo, pirazolilo, furazanilo, triazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, quinoxalinilo, ftalazinilo, imidazo[1,2-a]piridinilo, imidazo[2,1-b]tiazolilo, benzofurazanilo, indolilo, azaindolilo, benzimidazolilo, benzotiazinilo, quinolinilo, imidazolilo, pirazolilo, tienopiridilo, quinazolinilo, naftiridinilo, tienopirimidinilo, pirrolopiridinilo, imidazopiridilo, isoquinolinilo, benzoazaindolilo, 1,2,4-triazinilo, tienopirrolilo, fupirrolilo y similares.

“Parcialmente saturado” significa un sistema anular que incluye al menos una unión doble o triple. El término “parcialmente saturado” se refiere a anillos que tienen numerosos sitios de saturación y no incluye sistemas arilo y heteroarilo tal como se definieron anteriormente.

El término “oxo” utilizado en este documento se refiere al radical =O.

“Sustituyente” significa un radical químico unido a una estructura (fragmento).

“Solvato” es un agregado molecular que consiste en el compuesto de la presente invención, o su sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, con una o más moléculas de disolvente. Las moléculas de disolvente son moléculas de disolventes farmacéuticos comunes, conocidos por ser seguros para los receptores, por ejemplo, agua, etanol, etilenglicol, etc. Pueden utilizarse otros disolventes, como metanol, metil-ter-butil-éter, acetato de etilo, acetato de metilo, (R)-propilenglicol o (S)-propilenglicol, 1,4-butanodiol, y similares, a fin de formar solvatos intermedios para obtener los solvatos preferibles.

“Hidrato” significa un solvato con agua como disolvente.

Los solvatos y/o hidratos existen preferiblemente en forma cristalina.

Los términos “enlace”, “enlace químico” o “enlace simple” se refieren a un enlace químico de dos átomos o dos fracciones (es decir, grupos, fragmentos) cuando los átomos unidos por el enlace se consideran parte de una subestructura mayor.

El término “estereoisómeros” se refiere a compuestos que tienen composición química idéntica y la misma estructura, pero que difieren en la disposición espacial de los átomos o de sus grupos. Los estereoisómeros pueden incluir isómeros geométricos, enantiómeros, diastereómeros.

El término “grupo protector” se refiere a los grupos que se utilizan para bloquear la reactividad de grupos funcionales, como un grupo amino, un grupo carboxilo o un grupo hidroxilo. Los ejemplos de grupos protectores incluyen, entre otros, a ter-butiloxicarbonilo (Boc), benciloxicarbonilo (Cbz), 2-(trimetilsilil) etoxi) metil acetal (SEM), trialkilsililo, alquil(diaryl)sililo o alquilo.

El término “excipiente” se utiliza en la presente para describir cualquier componente que no sea el/los compuesto(s) de la invención.

“Composición farmacéutica” significa una composición que comprende un compuesto de la invención y uno o más excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico. Los ejemplos de excipientes incluyen, entre otros, a agentes de relleno, disolventes, diluyentes, portadores, agentes auxiliares, agentes de distribución y detección, agentes de administración, tales como conservantes, estabilizantes, agentes de relleno, desintegrantes, humectantes, emulsionantes, agentes de suspensión, espesantes, edulcorantes, agentes saborizantes, agentes aromatizantes, agentes antibacterianos, fungicidas, lubricantes y controladores de administración prolongada, cuya elección y proporciones adecuadas dependen del tipo y forma de administración y de la dosificación. Ejemplos de agentes de

suspensión adecuados son alcohol isostearílico etoxilado, polioxieteno, sorbitol y éter de sorbitol, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, así como sus mezclas. La protección contra la acción de los microorganismos puede ser proporcionada por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, tales como, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, ácido sórbico y compuestos similares. La composición también puede contener agentes isotónicos, como, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio y compuestos similares. La acción prolongada de la composición puede lograrse mediante agentes que retardan la absorción del principio activo, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina. Los ejemplos de portadores, disolventes, diluyentes y agentes de administración adecuados incluyen agua, etanol, polialcoholes y sus mezclas, aceites naturales (como aceite de oliva) y ésteres orgánicos (como oleato de etilo) para inyecciones. Ejemplos de agentes de relleno son lactosa, galactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de calcio y otros similares. Ejemplos de desintegrantes y agentes de distribución son almidón, ácido algínico y sus sales, silicatos y similares. Ejemplos de lubricantes adecuados son estearato de magnesio, laurilsulfato de sodio, talco y polietilenglicol de alto peso molecular. La composición farmacéutica para la administración peroral, sublingual, transdérmica, intramuscular, intravenosa, subcutánea, local o rectal del principio activo, sola o en combinación con otro compuesto activo, puede administrarse a seres humanos y animales en una forma de administración estándar, en una mezcla con portadores farmacéuticos tradicionales. Las formas de administración estándar adecuadas incluyen formas perorales como comprimidos, cápsulas de gelatina, píldoras, polvos, gránulos, gomas de mascar y soluciones o suspensiones perorales; formas de administración sublinguales y transbucuales; aerosoles; implantes; formas de administración local, transdérmica, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intranasal o intraocular y rectal.

“Sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico” significa sales orgánicas e inorgánicas relativamente no tóxicas de ácidos y bases descritos en esta invención. Las sales pueden prepararse *in situ* en procesos de síntesis, aislamiento o purificación de compuestos o pueden prepararse especialmente. En particular, las sales de bases podrían prepararse especialmente empezando a partir de bases purificadas descritas en la invención y un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Los ejemplos de sales preparadas de esta manera incluyen clorhidratos, bromhidratos, sulfatos, bisulfatos, fosfatos, nitratos, acetatos, oxalatos, valeriatos, oleatos, palmitatos, estearatos, lauratos, boratos, benzoatos, lactatos, p-toluenosulfonatos, citratos, maleatos, fumaratos, succinatos, tartratos, metanosulfonatos, malonatos, salicilatos, propionatos, etanosulfonatos, bencenosulfonatos, sulfamatos y similares (Se proporciona una descripción detallada de las propiedades de estas sales en: Berge S.M., et al., “Pharmaceutical Salts” J. Pharm. Sci. 1977, 66: 1 - 19). Las sales de los ácidos descritos pueden prepararse por reacción de los ácidos purificados con una base adecuada; además, pueden sintetizarse también sales de metales y sales de aminas. Las sales de metales son sales de sodio, potasio, calcio, bario, zinc, magnesio, litio y aluminio; se prefieren las sales de sodio y potasio. Las bases inorgánicas adecuadas a partir de las cuales pueden prepararse sales de metales son: hidróxido, carbonato, bicarbonato e hidruro de sodio; hidróxido y bicarbonato de potasio, hidróxido de litio, hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio e hidróxido de zinc. Las bases orgánicas adecuadas para la preparación de las sales de los ácidos descritos son aminas y aminoácidos, cuya basicidad es suficiente para producir una sal estable, y que son adecuadas para su uso en propósitos médicos (en particular, deben ser de baja toxicidad). Tales aminas incluyen amoníaco, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, dietilamina, trietilamina, bencilamina, dibencilamina, dicitclohexilamina, piperazina, etilpiperidina, tris(hidroximetil)aminometano y similares. Además, las sales pueden prepararse usando algunos hidróxidos de tetraalquilamonio, como holina, tetrametilamonio, tetraetilamonio y similares. Los aminoácidos pueden ser seleccionados entre los aminoácidos lisina, ornitina y arginina.

“Medicamento” es un compuesto (o una mezcla de compuestos tal como una composición farmacéutica) en forma de comprimidos, cápsulas, inyecciones, ungüentos y otras formas ya preparadas, destinado a la restauración, mejora o modificación de las funciones fisiológicas en seres humanos y animales, y para el tratamiento y la profilaxis de enfermedades, para diagnóstico, anestesia, anticoncepción, cosmetología y otros fines.

“Tratar” y “tratamiento” se refieren a un método para aliviar o anular un trastorno biológico y/o al menos uno de los síntomas que lo acompañan. Tal como se utiliza en el presente documento, “aliviar” una enfermedad, trastorno o condición significa reducir la gravedad y/o la frecuencia de aparición de los

síntomas de la enfermedad, trastorno o condición. Además, las referencias en la presente a “tratamiento” incluyen referencias a tratamientos curativos y paliativos.

“Profilaxis”, “terapia profiláctica”, se refiere a un conjunto de medidas destinadas a la prevención de la aparición, la eliminación de los factores de riesgo o a la detección precoz de una enfermedad o trastorno, sus exacerbaciones, recidivas, complicaciones u otras consecuencias.

En un aspecto, el sujeto del tratamiento, o paciente, es un mamífero, preferiblemente un sujeto humano. Dicho sujeto puede ser un hombre o una mujer de cualquier edad.

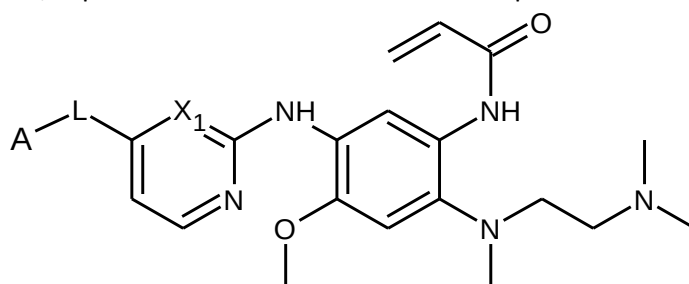
“Trastorno” significa cualquier condición que se beneficiaría del tratamiento con el compuesto de la presente invención. Esto significa trastornos o enfermedades crónicos y agudos, incluidas aquellas condiciones patológicas que predisponen al mamífero al trastorno en cuestión. Ejemplos no limitantes de trastornos a tratar en la presente incluyen neoplasias benignas y malignas, o neoplasias de naturaleza no especificada, incluidos tumores que se originan a partir de las células sanguíneas y las células linfoides. Los ejemplos pueden ser: cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer cervical, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucosis, linfoma, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de estómago, tumor estromal gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer de células renales, cáncer de hígado, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma, mesotelioma, tumores malignos hematológicos.

“Cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad del agente terapéutico que se está administrando que aliviará hasta cierto punto uno o más de los síntomas de la enfermedad o trastorno que se está tratando.

Tal como se utiliza en el presente documento, se entenderá que las palabras “comprenden”, “tienen”, “incluyen” o variaciones tales como “comprende”, “que comprenden”, “tiene”, “que tienen”, “incluye” o “que incluyen”, y todas las variaciones gramaticales de las mismas, implican la inclusión de un número entero o un grupo de números enteros declarado, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o grupo de números enteros.

Descripción detallada de la invención

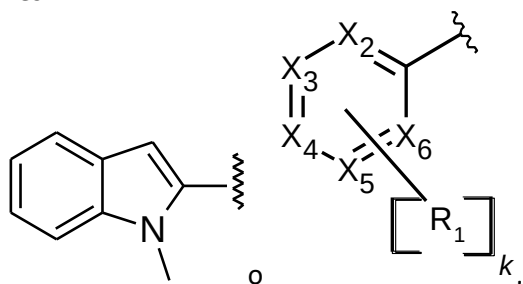
En una realización, la presente invención se refiere al compuesto de fórmula I:



o a una sal, solvato o estereoisómero del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico, donde L es -C(O)- o -CHOH-;

X₁ es CH o N;

A es



cada X₂, X₃, X₄, X₅, X₆ es independientemente C, CH o N,

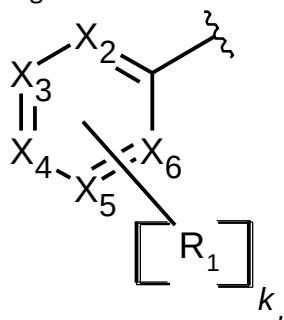
cada R_1 es independientemente hidrógeno; Hal; ciano; nitro; un grupo hidroxilo; alquilo C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; un grupo alcoxi C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, $-NR_2R_3$, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, alquilo C_1-C_6 , un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; cicloalquilo C_3-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; alquilo C_1-C_6 alquilo C_1-C_6 ; $-NR_2R_3$; arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; un heteroarilo de 5-6 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados a partir de N, O y/o S, no sustituido o sustituido por uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir de Hal, ciano, alquilo C_1-C_6 , un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , $-NR_2R_3$; un heterociclilo de 4-7 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados a partir de N y/o O, no sustituido o sustituido por uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir de Hal, ciano, un grupo hidroxilo, oxo, alquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 , $-NR_2R_3$;

cada R_2 o R_3 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 ;

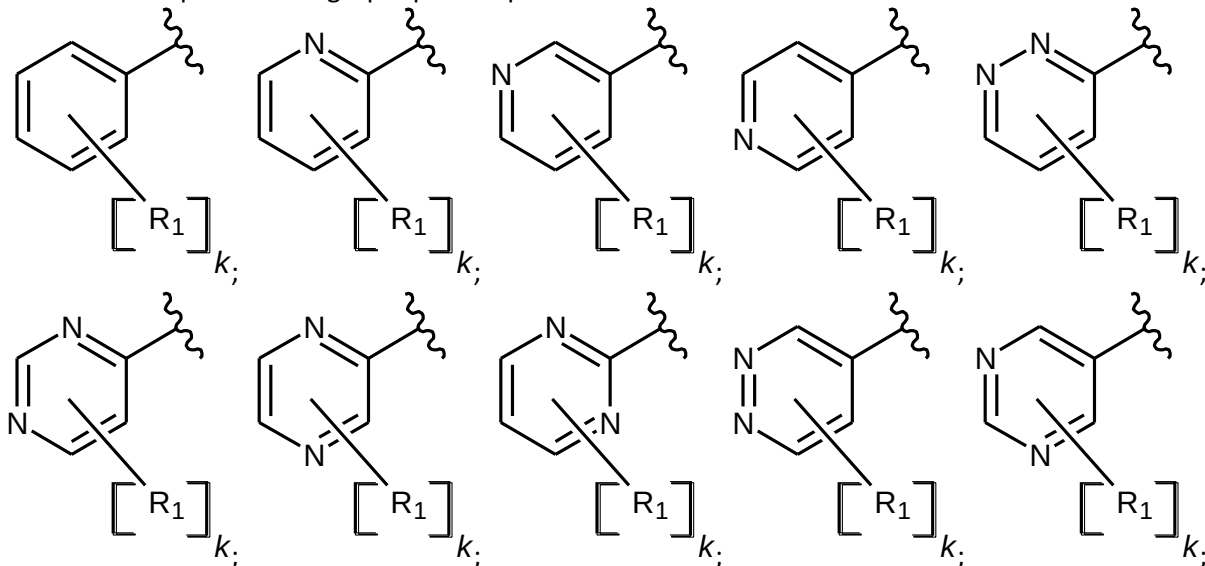
k es 0, 1, 2 o 3;

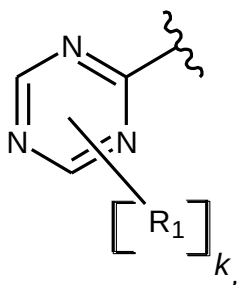
Hal es fluoro, bromo, cloro o yodo.

En otra realización, la presente invención se refiere al compuesto de fórmula I, donde el fragmento



se selecciona a partir de un grupo que comprende:





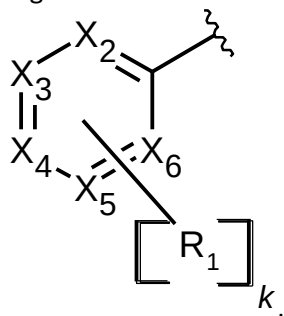
donde cada R_1 es independientemente hidrógeno; Hal; ciano; nitro; un grupo hidroxilo; alquilo C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; un grupo alcoxi C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, $-NR_2R_3$, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, alquilo C_1-C_6 , un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; cicloalquilo C_3-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; alquilo C_1-C_6 alquilo C_1-C_6 ; $-NR_2R_3$; arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; un heteroarilo de 5-6 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados a partir de N, O y/o S, no sustituido o sustituido por uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir de Hal, ciano, alquilo C_1-C_6 , un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , $-NR_2R_3$; un heterociclilo de 4-7 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados a partir de N y/o O, no sustituido o sustituido por uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir de Hal, ciano, un grupo hidroxilo, oxo, alquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 , $-NR_2R_3$;

cada R_2 o R_3 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 ;

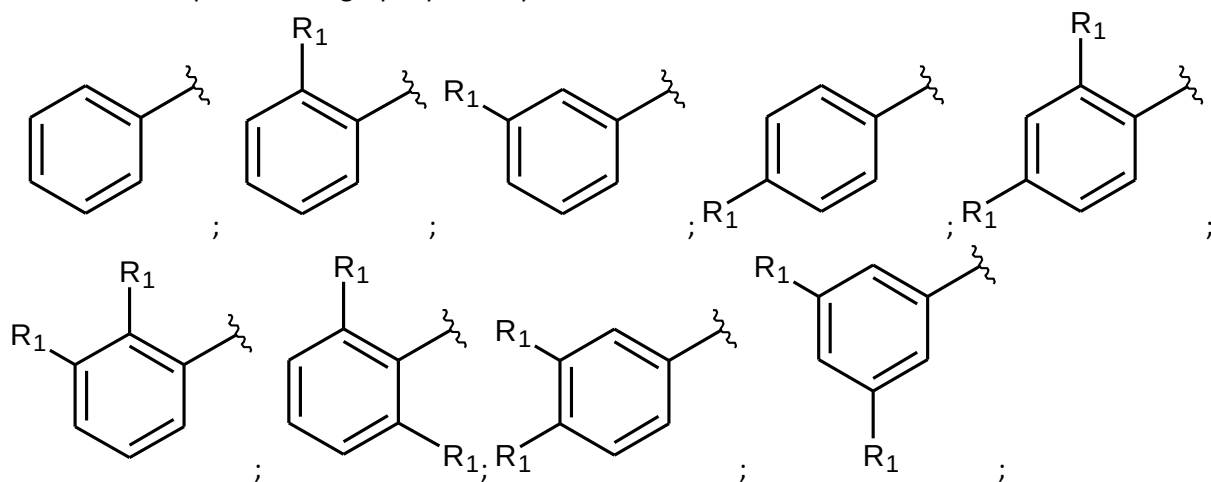
k es 0, 1, 2 o 3;

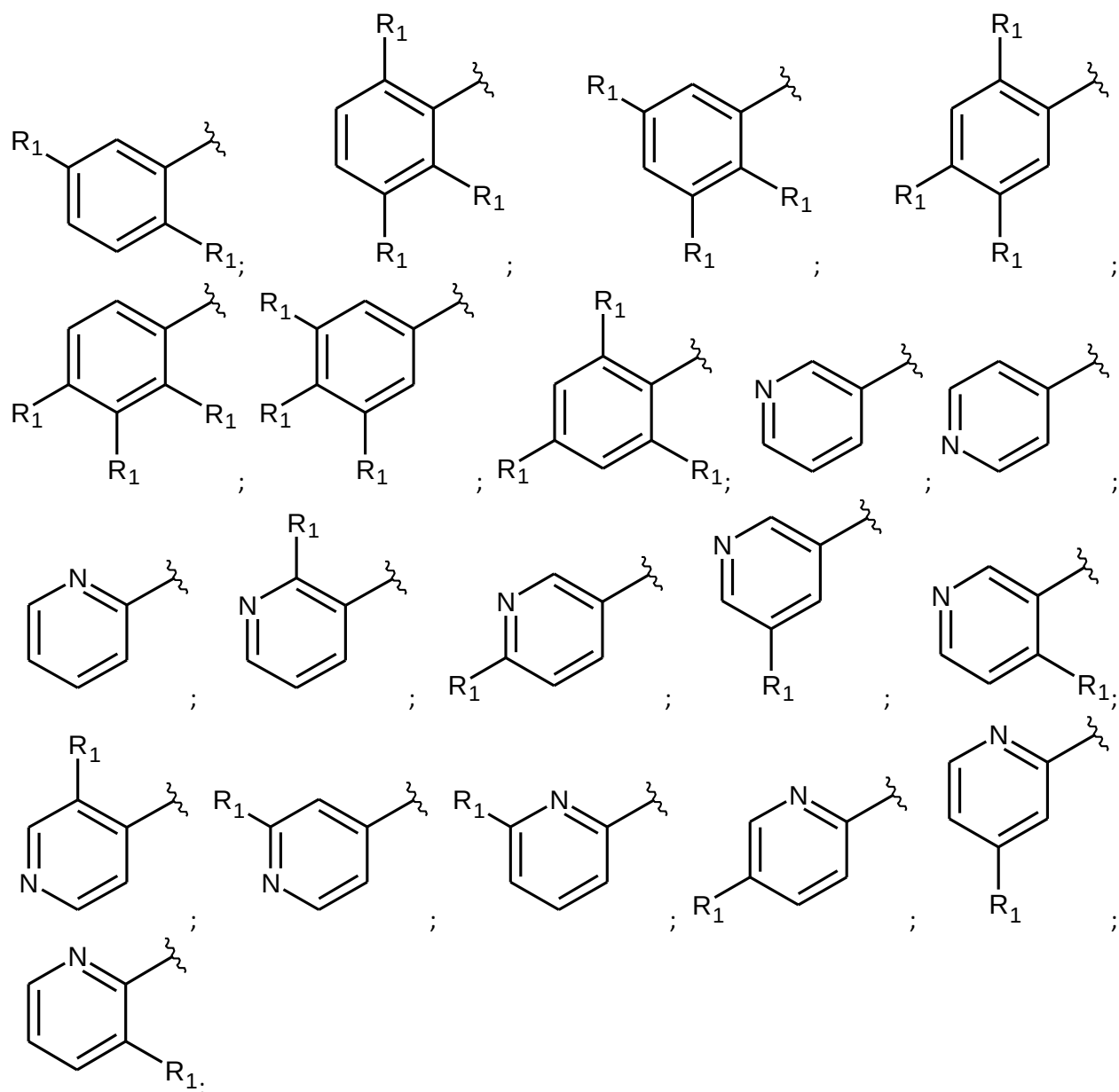
Hal es fluoro, bromo, cloro o yodo.

En otra realización, la presente invención se refiere al compuesto de fórmula I, donde el fragmento



se selecciona a partir de un grupo que comprende:





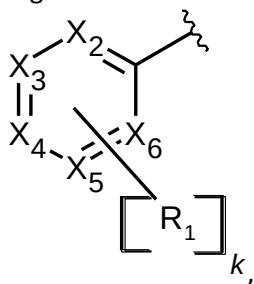
donde cada R_1 es independientemente hidrógeno; Hal; ciano; nitro; un grupo hidroxilo; alquilo C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; un grupo alcoxi C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, $-NR_2R_3$, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, alquilo C_1-C_6 , un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; cicloalquilo C_3-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; alquilo C_1-C_6 alquilo C_1-C_6 ; $-NR_2R_3$; arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; un heteroarilo de 5-6 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados a partir de N, O y/o S, no sustituido o sustituido por uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir de Hal, ciano, alquilo C_1-C_6 , un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , $-NR_2R_3$; un heterociclilo de 4-7 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados a partir de N y/o O, no sustituido o sustituido por uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir de Hal, ciano, un grupo hidroxilo, oxo, alquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 , $-NR_2R_3$;

cada R_2 o R_3 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 ;

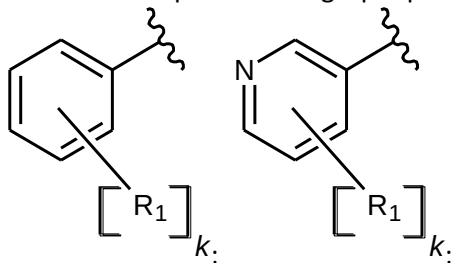
k es 0, 1, 2 o 3;

Hal es fluoro, bromo, cloro o yodo.

En otra realización, la presente invención se refiere al compuesto de fórmula I, donde el fragmento



se selecciona a partir de un grupo que comprende:



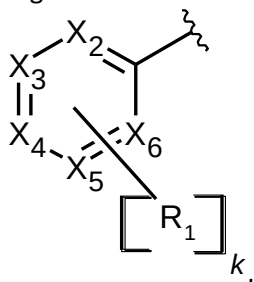
donde R_1 es independientemente hidrógeno; Hal; ciano; nitro; un grupo hidroxilo; alquilo C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; un grupo alcoxi C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, $-NR_2R_3$, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; ariloxi, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, alquilo C_1-C_6 , un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; cicloalquilo C_3-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; alquilo C_1-C_6 alquilo C_1-C_6 ; $-NR_2R_3$; arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; un heteroarilo de 5-6 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados a partir de N, O y/o S, no sustituido o sustituido por uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir de Hal, ciano, alquilo C_1-C_6 , un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , $-NR_2R_3$; un heterociclilo de 4-7 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados a partir de N y/o O, no sustituido o sustituido por uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir de Hal, ciano, un grupo hidroxilo, oxo, alquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 , $-NR_2R_3$;

cada R_2 o R_3 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 ;

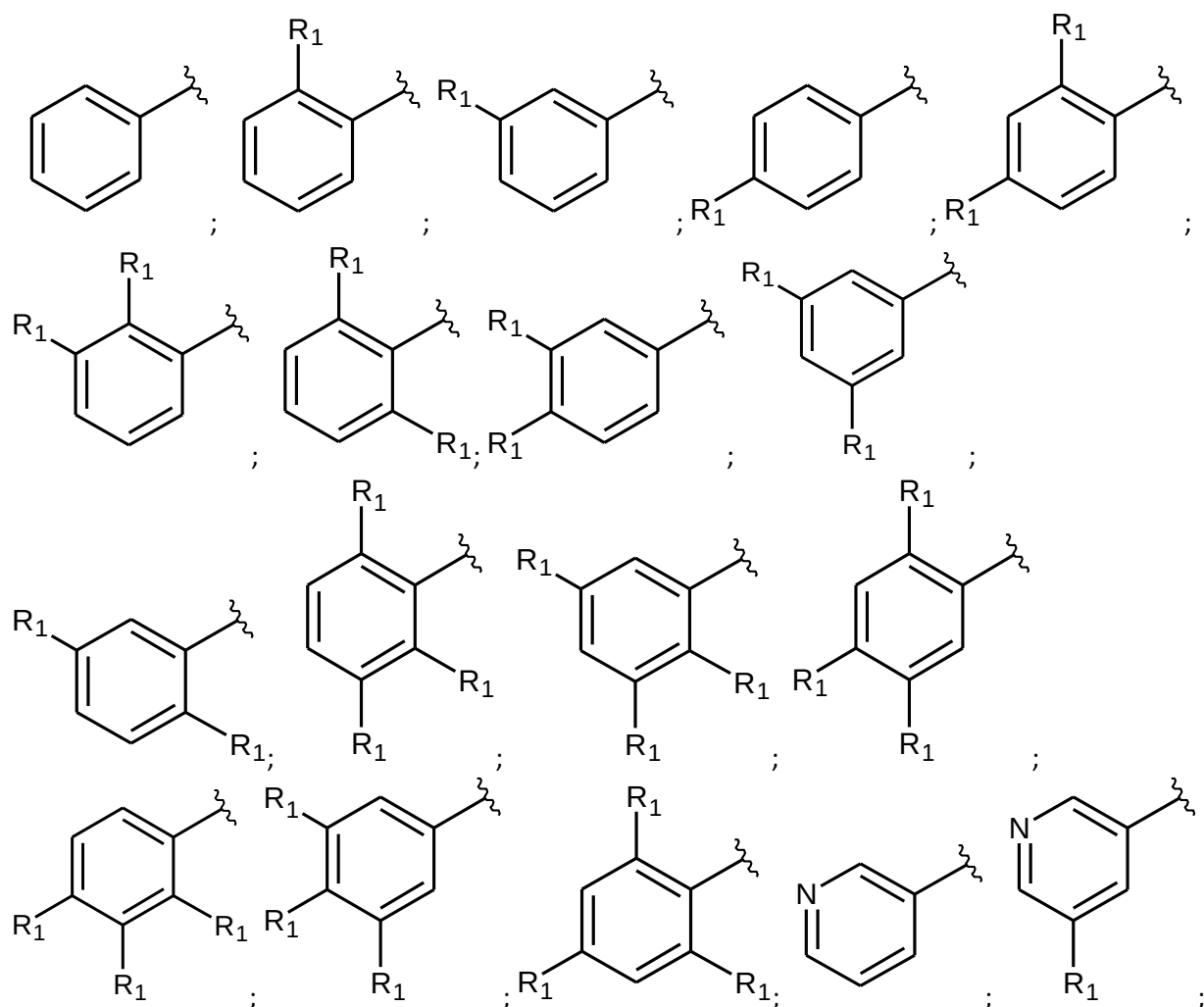
k es 0, 1, 2 o 3;

Hal es fluoro, bromo o cloro.

En otra realización, la presente invención se refiere al compuesto de fórmula I, donde el fragmento



se selecciona a partir de un grupo que comprende:



donde cada R_1 es independientemente hidrógeno; Hal; ciano; nitro; un grupo hidroxilo; alquilo C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; un grupo alcoxi C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, $-NR_2R_3$, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, alquilo C_1-C_6 , un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; cicloalquilo C_3-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; alquilo C_1-C_6 alquilo C_1-C_6 ; $-NR_2R_3$; arilo, no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, $-NR_2R_3$; un heteroarilo de 5-6 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados a partir de N, O y/o S, no sustituido o sustituido por uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir de Hal, ciano, alquilo C_1-C_6 , un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , $-NR_2R_3$; un heterociclilo de 4-7 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados a partir de N y/o O, no sustituido o sustituido por uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir de Hal, ciano, un grupo hidroxilo, oxo, alquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 , $-NR_2R_3$; cada R_2 o R_3 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , no sustituido o sustituido por uno o varios radicales seleccionados a partir de Hal, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_6 ; Hal es fluoro, bromo o cloro.

Los compuestos descritos en la presente invención pueden ser formados y/o utilizados como sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico. El tipo de sales farmacéuticas aceptables incluye entre otros a: sales de adición de ácidos, formadas por la reacción de la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico aceptable desde el punto de vista farmacéutico como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido metafosfórico y similares; o con un ácido orgánico como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico,

ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido trifluoroacético, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-metilbiclo-[2.2.2]oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 4,4'-metilenobis-3-hidroxi-2-eno-1-carboxílico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido ter-butilacético, ácido laurilsulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico y similares.

Los contraiones correspondientes de las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico pueden ser analizados e identificados usando diversos métodos que incluyen, entre otros, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía iónica, electroforesis capilar, plasma acoplado inductivamente, espectroscopia de absorción atómica, espectrometría de masas o cualquier combinación de los mismos.

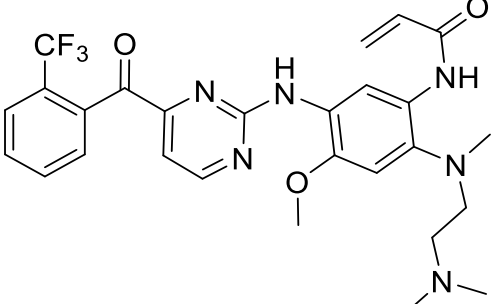
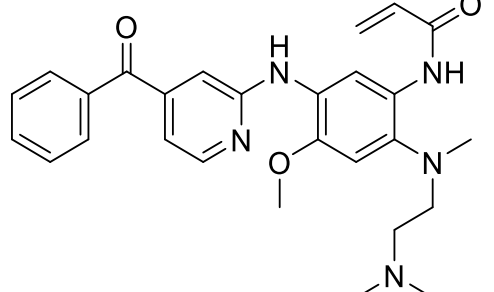
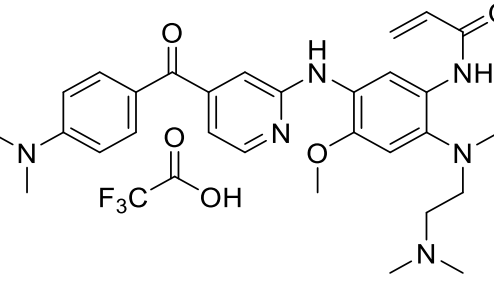
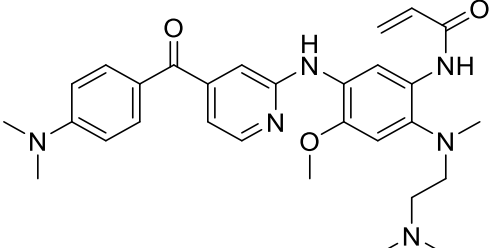
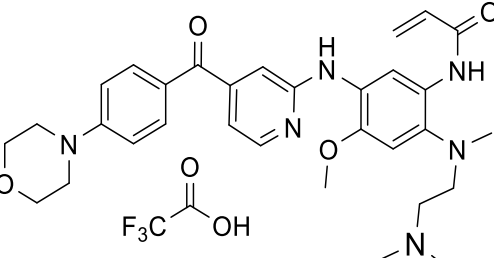
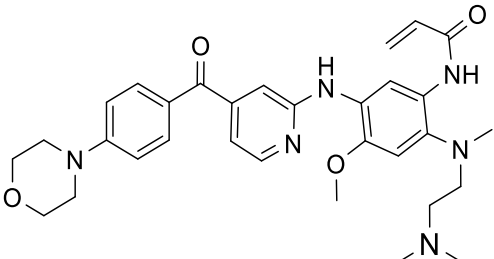
Las sales se recuperan usando al menos una de las siguientes técnicas: filtración, precipitación con un no disolvente seguido de filtración, evaporación del disolvente o, en el caso de soluciones acuosas, liofilización. Debe entenderse que una referencia a una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico incluye las formas de adición de disolvente o las formas cristalinas de las mismas, en particular los solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de un disolvente, y pueden formarse durante el proceso de cristalización con disolventes farmacéuticamente aceptables como agua, etanol y similares. Los hidratos se forman cuando el disolvente es agua, o los alcoholatos cuando el disolvente es alcohol. Los solvatos de compuestos descritos en la presente pueden ser preparados o formarse convenientemente durante los procesos aquí descritos. Además, los compuestos proporcionados en la presente pueden existir tanto en forma no solvatada como en forma solvatada. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las formas no solvatadas para los propósitos de los compuestos y métodos provistos en la presente.

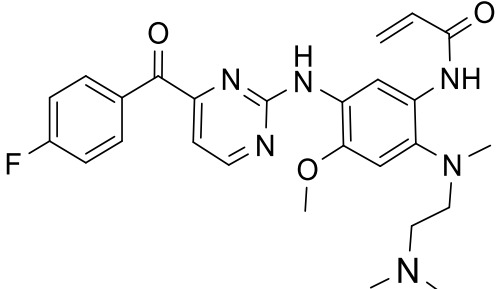
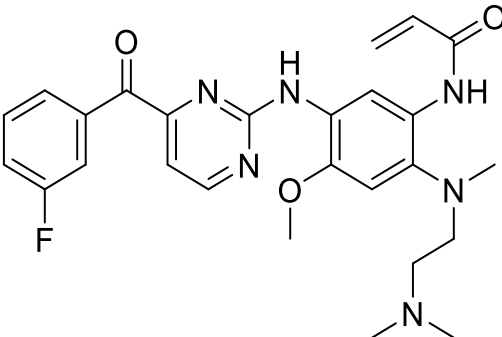
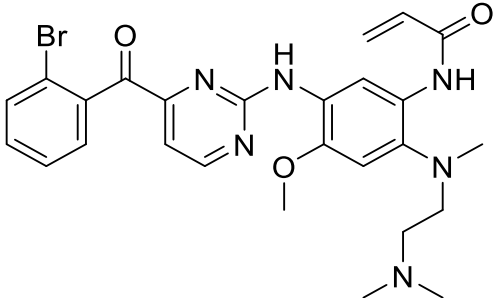
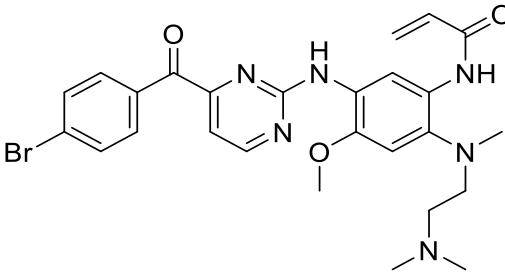
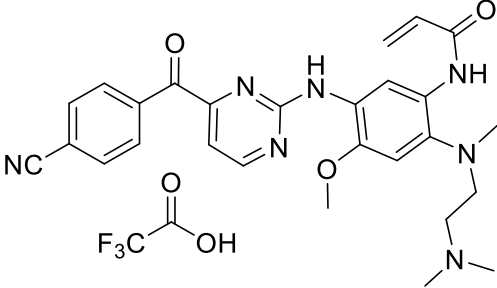
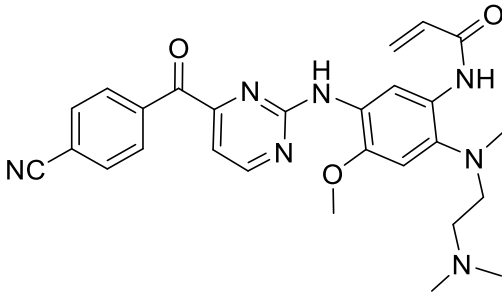
Los compuestos descritos en la presente pueden estar en diversas formas, que incluyen entre otras a formas amorfas, formas molinadas y formas de nanopartículas. Además, los compuestos descritos en la presente incluyen formas cristalinas, también conocidas como polimorfos. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de empaquetamiento cristalino de la misma composición elemental de un compuesto. Los polimorfos suelen tener diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros infrarrojos, puntos de fusión, densidad, dureza, forma cristalina, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad y solubilidad. Diversos factores como el disolvente de recristalización, la velocidad de cristalización y la temperatura de almacenamiento pueden hacer que una forma cristalina domine.

La detección y caracterización de las sales, polimorfos y/o solvatos aceptables desde el punto de vista farmacéutico puede realizarse utilizando una variedad de técnicas que incluyen entre otras a análisis térmico, difracción de rayos X, espectroscopia, sorción de vapor y microscopía. Los métodos de análisis térmico se refieren al análisis de procesos de degradación termoquímica o termofísicos, que incluyen, entre otros, a transiciones polimórficas, y dichos métodos se utilizan para analizar las relaciones entre las formas polimórficas, determinar la pérdida de peso, encontrar la temperatura de transición vítrea, o para estudios de compatibilidad de excipientes. Estos métodos incluyen, entre otros, a calorimetría de barrido diferencial (DSC), calorimetría de barrido diferencial modulada (MDSC), análisis termogravimétrico (TGA), análisis termogravimétrico e infrarrojo (TG/IR). Los métodos de difracción de rayos X incluyen, entre otros, a difractómetros monocristalinos y de polvo y fuentes de sincrotrón. Las diversas técnicas espectroscópicas utilizadas incluyen, entre otras, a Raman, FTIR, UVIS y RMN (estado líquido y sólido). Las diversas técnicas de microscopía incluyen, entre otras, a microscopía de luz polarizada, microscopía electrónica de barrido (SEM) con análisis de rayos X de dispersión de energía (EDX), microscopía electrónica de barrido ambiental con EDX (en atmósfera de gas o vapor de agua), microscopía IR y microscopía Raman.

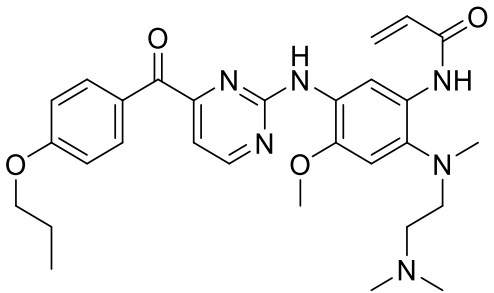
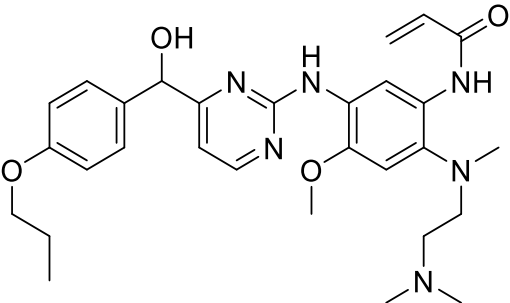
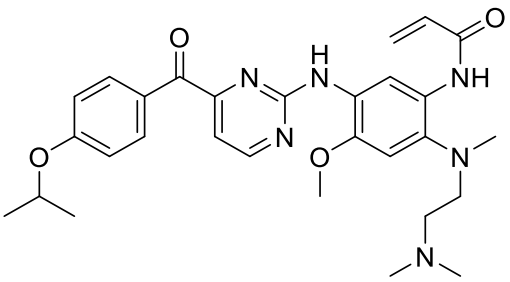
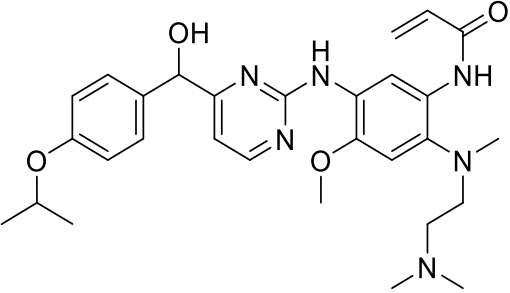
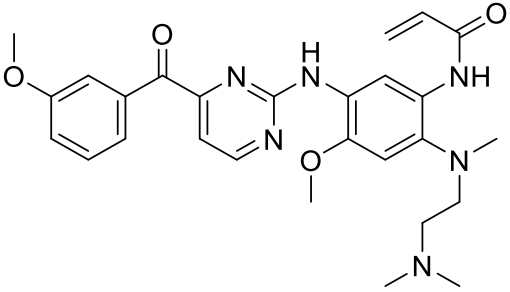
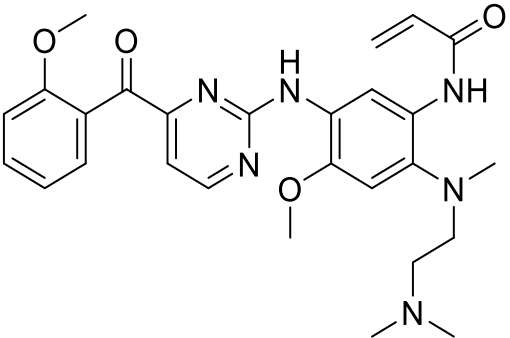
Otra realización de la presente invención se refiere a los compuestos seleccionados del grupo que incluye:

Fórmula	Nombre	Código
---------	--------	--------

	N-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoksi-5-((4-(2-(trifluorometil) benzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365
	N-5-((4-benzoilpiridin-2-il) amino)-2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_3
	N-5-((4-(4-(dimetilamino) benzoil)piridin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida 2,2,2-trifluoroacetato	EGFR_3365_4
	N-5-((4-(4-(dimetilamino) benzoil)piridin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_4a
	N-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoksi-5-((4-(4-morfolinobenzoil)piridin-2-il)amino)fenil)acrilamida 2,2,2-trifluoroacetato	EGFR_3365_5
	N-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoksi-5-((4-(4-morfolinobenzoil)piridin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_5a

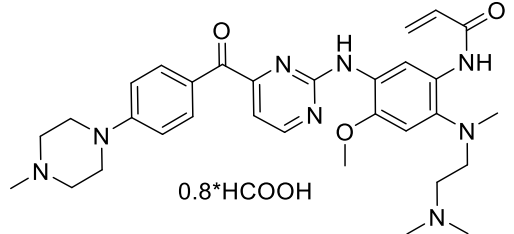
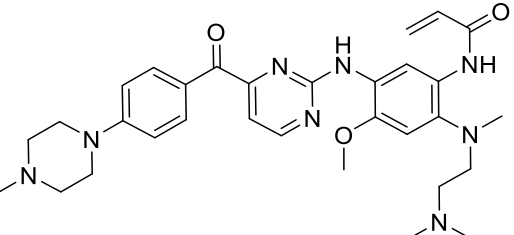
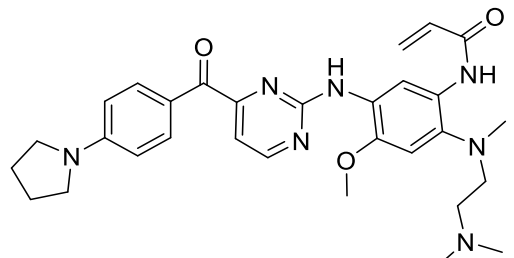
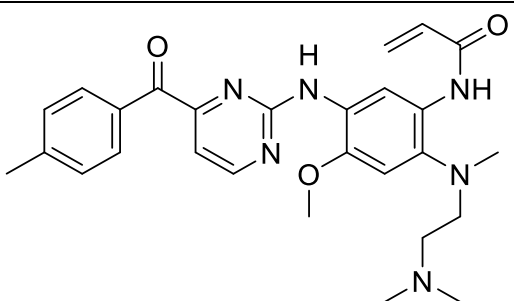
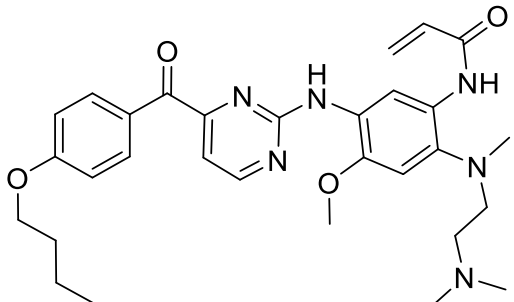
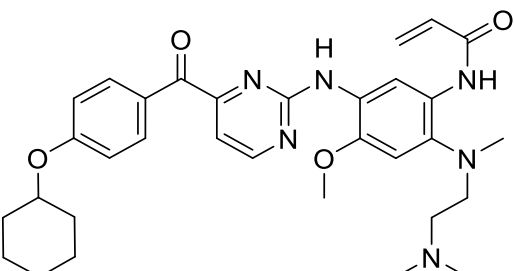
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-fluorobenzoil)pirimidin-2-il) amino)-4-metoxifenil) acrilamida	EGFR_3365_10
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(3-fluorobenzoil)pirimidin-2-il) amino)-4-metoxifenil) acrilamida	EGFR_3365_11
	N-(5-((4-(2-bromobenzoil) pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_12
	N-(5-((4-(4-bromobenzoil) pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_13
	N-(5-((4-(4-cianobenzoil) pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida 2,2,2-trifluoroacetato	EGFR_3365_14
	N-(5-((4-(4-cianobenzoil) pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_14a

	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-nicotinoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_15
	N-(5-((4-(4-(benciloxi)benzoil)pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_16
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-fenoxibenzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_17
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(5-metilnicotinoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_26
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-metoxibenzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_28
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-etoxibenzoil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_29

	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-propoxibenzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_30
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(hidroxi(4-propoxifenil) metil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_30a
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-isopropoxibenzoil) pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_31
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(hidroxi(4-isopropoxifenil) metil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_31a
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(3-metoxibenzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_32
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2-metoxibenzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_33

	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(3-nitrobenzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_34
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2-nitrobenzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_36
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-propoxibenzoil)piridin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_50
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-metoxibenzoil)piridin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_51
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-etoxibenzoil)piridin-2-il) amino)-4-metoxifenil) acrilamida	EGFR_3365_52
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-(3-metoxiazetidin-1-il) benzoil)piridin-2-il)amino) fenil)acrilamida	EGFR_3365_53

	N-(5-((4-(4-(diethylamino)benzoyl)piridin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_54
	N-(2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-(4-metilpiperazin-1-il) benzoyl)piridin-2-il) amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_55
	N-(2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-(pirrolidin-1-il)benzoyl)piridin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_56
	N-(2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-metilbenzoyl)piridin-2-il) amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_57
	N-(5-((4-(4-(azetidin-1-il)benzoyl)pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_58
	N-(2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-(3-metoxiazetidin-1-il) benzoyl)pirimidin-2-il) amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_61

 0.8*HCOOH	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoksi-5-((4-(4-metilpiperazin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida formiato	EGFR_3365_62
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoksi-5-((4-(4-metilpiperazin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_62a
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoksi-5-((4-(4-pirrolidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_63
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoksi-5-((4-(4-metilbenzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_64
	N-(5-((4-(4-butoxibenzoil)pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_66
	N-(5-((4-(4-(ciclohexiloxi)benzoil)pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_67

	N-(5-((4-(2,4-diethoxybenzoyl) pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_68
	N-(5-((4-(2,4-dimetoxi benzoil)pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil) amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_69
	N-(2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-5-((4-(2,4-dipropoxibenzoil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_70
	N-(5-((4-(2,4-diisopropoxi benzoil)pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_71
	N-(5-((4-(4-(dietilamino) benzoil)pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_72
	N-(5-((4-(4-(dimetilamino) benzoil)pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil) (metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_73

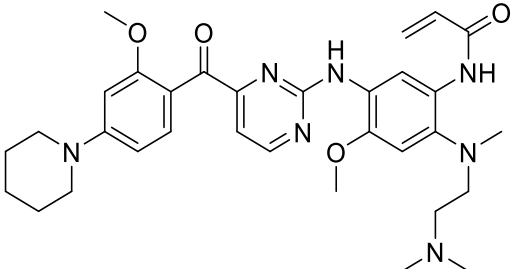
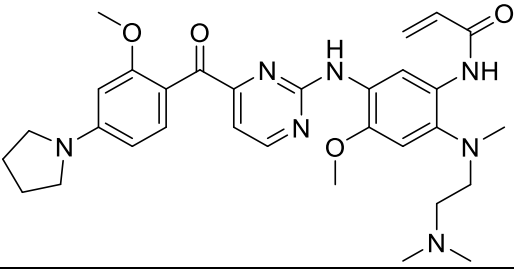
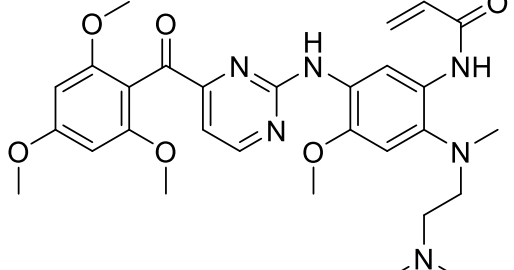
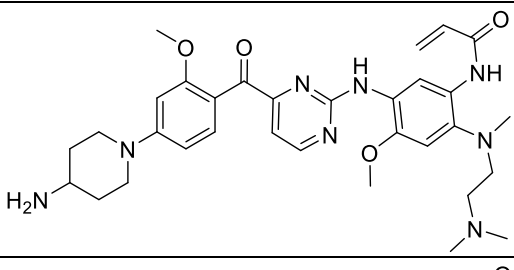
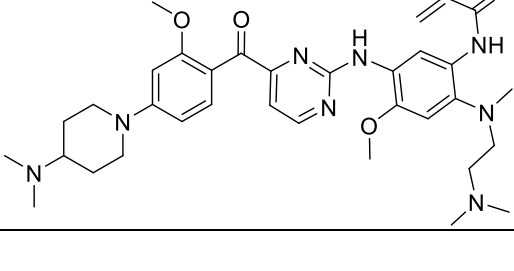
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-isobutoxibenzoil)piridin-2-il) amino)-4-metoxifenil) acrilamida	EGFR_3365_77
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-isobutoxibenzoil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil) acrilamida	EGFR_3365_78
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)benzoil)piridin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_85
	N-(5-((4-(4-(1H-imidazol-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_86
	N-(5-((4-(2,4-dimetoxi benzoil)piridin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_87
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2-metoxibenzoil)piridin-2-il) amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_88

	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(piperidin-1-il)benzoil) pirimidin-2-il)amino)fenil) acrilamida	EGFR_3365_90
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2-oxopirrolidin-1-il) benzoil)pirimidin-2-il) amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_91
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2-metoxietoxi)benzoil) pirimidin-2-il)amino)fenil) acrilamida	EGFR_3365_92
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2-metoxietoxi)benzoil)piridin-2-il)amino)fenil) acrilamida	EGFR_3365_93
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(1-metil-1H-indol-2-carbonil) pirimidin-2-il) amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_94
	N-(5-((4-(4-(4-cianopiperidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il) amino)-2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_97
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-metoxipiperidin-1-il) benzoil)pirimidin-2-il) amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_98

	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2-metoxi-4-propoxibenzoil) pirimidin-2-il)amino)fenil) acrilamida	EGFR_3365_101
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-metoxi-2-propoxibenzoil) pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_102
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-isopropoxi-2-metoxibenzoil) pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_103
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(2-isopropoxi-4-metoxibenzoil) pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_104
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-((2-metoxietil)amino)benzoil) pirimidin-2-il)amino) fenil)acrilamida	EGFR_3365_105
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-((2-hidroxietil)amino) benzoil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida formiato	EGFR_3365_106

	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-((2-hidroxi)etil)amino)benzoil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_106 a
	(S)-N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-(3-hidroxipiperidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_108
	(R)-N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-(3-hidroxipiperidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_109
	(S)-N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-(3-metoxipiperidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_110
	(R)-N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-(3-metoxipiperidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_111
	(S)-N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-(3-hidroxipirrolidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida formiato	EGFR_3365_112
	(S)-N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-(3-hidroxipirrolidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_112 a

	(R)-N-(2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-5-((4-(4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il) benzoil)pirimidin-2-il)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_113
	(S)-N-(2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-(3-metoxipirrolidin-1-il) benzoil)pirimidin-2-il) amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_114
	(R)-N-(2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(4-(3-metoxipirrolidin-1-il) benzoil)pirimidin-2-il) amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_115
	N-(5-((4-(4-ciclopropoxi benzoil)pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_116
	N-(2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2-metoxi-4-(4-metilpiperazin-1-il) benzoil)pirimidin-2-il) amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_120
	N-(5-((4-(4-(4-aminopiperidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il) amino)-2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-4-metoxifenil)acrilamida	EGFR_3365_121
	N-(2-((2-(dimetilamino) etil)(metil)amino)-5-((4-(4-(4-(dimetilamino) piperidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il) amino)-4-metoxifenil) acrilamida	EGFR_3365_121 a

	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2-metoxi-4-(piperidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino) fenil)acrilamida	EGFR_3365_122
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2-metoxi-4-(pirrolidin-1-il)benzoil)pirimidin-2-il)amino) fenil)acrilamida	EGFR_3365_123
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxi-5-((4-(2,4,6-trimetoxibenzoil)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida	EGFR_3365_124
	N-(5-((4-(4-(4-aminopiperidin-1-il)-2-metoxibenzoil) pirimidin-2-il)amino)-2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-4-metoxifenil) acrilamida	EGFR_3365_126
	N-(2-((2-(dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(4-(dimetilamino) piperidin-1-il)-2-metoxibenzoil) pirimidin-2-il) amino)-4-metoxifenil) acrilamida	EGFR_3365_127

La presente invención también relaciona a un método para la inhibición de la actividad biológica del EGFR en un sujeto, que comprende poner en contacto el EGFR con el compuesto descrito en la presente.

Los compuestos que inhiben el EGFR pueden utilizarse para fabricar medicamentos destinados a tratar cualquiera de las condiciones patológicas descritas en la presente, por ejemplo, los compuestos de fórmula I, sales, solvatos o estereoisómeros aceptables desde el punto de vista farmacéutico serán útiles en el tratamiento de enfermedades o condiciones médicas mediadas, sola o parcialmente, por la actividad del EGFR, por ejemplo, enfermedades oncológicas. Los ejemplos de enfermedades oncológicas que pueden ser tratadas utilizando los presentes compuestos incluyen, entre otros, a cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer cervical, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucosis, linfoma, linfoma no Hodgkin y linfoma de Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de estómago, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer de células renales, cáncer de hígado,

linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma, mesotelioma, tumores hematológicos malignos.

En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos uno de los compuestos descritos en la presente, o a una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, un solvato de la misma, y uno o más excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico. En otra realización, la composición farmacéutica que comprende compuestos de la presente invención está destinada a tratar o prevenir una enfermedad o trastorno mediados por la activación del EGFR.

En otra realización, la composición farmacéutica que comprende compuestos de la presente invención está destinada a tratar o prevenir una enfermedad o trastorno mediado por la activación del EGFR con una mutación L858R y/o una mutación T790M y/o una delección del exón 19 y/o una mutación C797S.

En otra realización, la composición farmacéutica que comprende compuestos de la presente invención está destinada a tratar o prevenir una enfermedad oncológica, incluidos cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer cervical, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucosis, linfoma, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de estómago, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer de células renales, cáncer de hígado, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma, mesotelioma, tumores hematológicos malignos.

En otra realización, la composición farmacéutica que comprende compuestos de la presente invención está destinada a tratar o prevenir una enfermedad oncológica, donde la enfermedad oncológica es cáncer de pulmón no microcítico.

La composición farmacéutica de la presente invención comprende, a modo de ejemplo, de aproximadamente 5% a aproximadamente 100% de principios activos, preferiblemente de aproximadamente 10% a aproximadamente 60% de principios activos. Debe entenderse que cada unidad de dosificación puede no contener una cantidad efectiva de un principio o principios activos, ya que la cantidad efectiva suficiente puede lograrse mediante la dosificación múltiple.

Una composición típica se prepara mezclando el compuesto descrito en la presente con un portador, diluyente o excipiente. Los portadores, diluyentes y excipientes adecuados son bien conocidos por los expertos en la materia e incluyen materiales como carbohidratos, ceras, polímeros solubles y/o hinchables en agua, materiales hidrófilos o hidrófobos, gelatina, aceites, disolventes, agua y similares. El portador, diluyente o excipiente particular utilizado dependerá de los medios y el propósito para el cual se aplicará el compuesto de la presente invención. Los disolventes se seleccionan generalmente basándose en disolventes reconocidos por personas expertas en la materia como seguros (GRAS) para ser administrados a un mamífero. En general, los disolventes seguros son disolventes acuosos no tóxicos como agua y otros disolventes no tóxicos que son solubles o miscibles en agua. Los disolventes acuosos adecuados incluyen agua, etanol, propilenglicol, polietilenglicoles (por ejemplo, PEG400, PEG300), etc., y mezclas de los mismos. Las composiciones también pueden incluir uno o más tampones, agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes de trama, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, agentes de opacado, deslizantes, auxiliares de procesamiento, colorantes, edulcorantes, agentes perfumantes, agentes saborizantes y otros aditivos conocidos para proporcionar una presentación elegante del medicamento (es decir, un compuesto de la invención o una composición farmacéutica del mismo) o una ayuda en la fabricación del producto farmacéutico (es decir, un medicamento). Las composiciones farmacéuticas deben fabricarse preferiblemente de acuerdo con los requisitos de las GMP (Buenas Prácticas de Fabricación).

Las composiciones farmacéuticas también pueden contener sales, solvatos e hidratos de compuestos de la presente invención, o una forma estabilizada del compuesto (por ejemplo, un complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente de complejación conocido).

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser formuladas para una administración por vía oral. La administración oral es una vía de administración, en la que se toma un medicamento a través de la boca, en virtud de la deglución. Los compuestos de la presente invención

también pueden ser administrados por vía bucal, lingual o sublingual mediante la cual el compuesto entra en el torrente sanguíneo directamente desde la boca.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral, bucal, lingual o sublingual incluyen sistemas sólidos, semisólidos y líquidos tales como comprimidos; gránulos; cápsulas blandas o duras que contienen multi- o nanopartículas, líquidos o polvos; pastillas (incluso rellenas de líquido); masticables; geles; formas de dosificación de dispersión rápida; películas; óvulos; aerosoles; y parches bucales/mucoadhesivos. Las formulaciones más preferidas para la administración oral son los comprimidos, gránulos y cápsulas.

Las formulaciones líquidas incluyen suspensiones, soluciones, jarabes y elixires. Estas formulaciones pueden emplearse como rellenos en cápsulas blandas o duras (fabricadas, por ejemplo, a partir de gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa) y comúnmente comprenden un portador, por ejemplo, agua, etanol, polietilenglicol, propilenglicol, metilcelulosa, o un aceite adecuado, y uno o más agentes emulsionantes y/o agentes de suspensión. Las formulaciones líquidas también pueden prepararse mediante la reconstitución de un sólido, por ejemplo, a partir de una bolsita.

Las composiciones farmacéuticas de la invención podrían utilizarse para administración parenteral. Tal como se utiliza en la presente, la “administración parenteral” de una composición farmacéutica incluye cualquier vía de administración caracterizada por la ruptura física de un tejido de un sujeto y la administración de la composición farmacéutica a través de la ruptura en el tejido, lo que da lugar generalmente a la administración directa en el torrente sanguíneo, en un músculo o en un órgano interno. Por lo tanto, la administración parenteral incluye entre otras a la administración de una composición farmacéutica mediante inyección de la composición, mediante la aplicación de la composición a través de una incisión quirúrgica, mediante la aplicación de la composición a través de una herida no quirúrgica que penetra en los tejidos y similares. En particular, se prevé que la administración parenteral incluya entre otras a inyecciones o infusiones subcutáneas, intraperitoneales, intramusculares, intravenosas, intraarteriales, intratecales, intraventriculares, intrauretrales, intracraneales, intrasinoviales; y técnicas de infusión dialítica renal. La administración intratumoral, por ejemplo, inyección intratumoral, también puede ser ventajosa. También se contempla la perfusión regional.

Las formulaciones de una composición farmacéutica adecuada para la administración parenteral comprenden comúnmente el principio activo combinado con un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico, tal como agua estéril o solución salina isotónica estéril. Dichas formulaciones pueden prepararse, envasarse o venderse en una forma adecuada para una administración en bolo o para una administración continua. Las formulaciones inyectables pueden prepararse, envasarse o venderse en forma de dosis unitaria, como en ampollas o en recipientes de dosis múltiples que contengan un conservante. Las formulaciones para la administración parenteral incluyen entre otras a suspensiones, soluciones, emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, pastas y similares.

Los compuestos de la invención también pueden administrarse por vía intranasal o por inhalación, comúnmente en la forma de un polvo seco (ya sea solos, como una mezcla, o como una partícula de componentes mixtos, por ejemplo, mezclados con un excipiente aceptable desde el punto de vista farmacéutico) a partir de un inhalador de polvo seco, como un aerosol a partir de un envase presurizado, bomba, spray, atomizador (preferiblemente un atomizador que utiliza la electrohidrodinámica para producir una niebla fina), o nebulizador, con o sin el uso de un propelente adecuado, o como gotas nasales.

El envase presurizado, bomba, spray, atomizador o nebulizador contiene generalmente una solución o suspensión de un compuesto de la invención que comprende, por ejemplo, un agente adecuado para dispersar, solubilizar o extender la liberación del activo, un propelente(s) como disolvente.

Antes de su uso en una formulación de polvo seco o suspensión, el medicamento se microniza generalmente a un tamaño adecuado para su administración por inhalación (comúnmente menos de 5 micrones). Esto puede lograrse mediante cualquier método de molienda adecuado, como la molienda por chorro en espiral, molienda por chorro en lecho fluido, procesamiento de fluidos supercríticos para formar nanopartículas, homogeneización a alta presión o secado por aspersión.

Las cápsulas, blísteres y cartuchos para usar en un inhalador o insuflador puede formularse para contener una mezcla de polvo del compuesto de la invención, una base de polvo adecuada y un modificador del rendimiento.

Una formulación de solución adecuada para su uso en un atomizador que utiliza la electrohidrodinámica para producir una niebla fina puede contener una dosis adecuada del compuesto de la invención por actuación y el volumen de actuación puede por ejemplo variar de 1 µl a 100 µl.

A las formulaciones de la invención destinadas a la administración por inhalación/intranasal, pueden añadirse sabores adecuados, como mentol y levomentol, o edulcorantes, como sacarina o sacarina sódica.

Las formulaciones pueden formularse para que sean de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada.

En una realización, la presente invención se refiere a un método para tratar una enfermedad o trastorno mediado por la activación del EGFR que comprende administrar una cantidad efectiva desde el punto de vista terapéutico del compuesto descrito en la presente, o la composición farmacéutica presente a un sujeto que lo necesita.

En otra realización, la presente invención se refiere al método para tratamiento, descrito en la presente, donde la enfermedad o trastorno es la enfermedad o trastorno mediado por la activación del EGFR con una mutación L858R y/o una mutación T790M y/o una delección del exón 19 y/o una mutación C797S.

En otra realización, la presente invención se refiere al método para tratamiento, descrito en la presente, donde la enfermedad o trastorno mediado por la activación del EGFR es una enfermedad oncológica. En otra realización, la presente invención se refiere al método para tratamiento, descrito en la presente, donde la enfermedad oncológica se selecciona a partir del grupo que comprende cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer cervical, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucosis, linfoma, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de estómago, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer de células renales, cáncer de hígado, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma, mesotelioma, tumores hematológicos malignos.

En otra realización, la presente invención se refiere al método para tratamiento, descrito en la presente, donde una enfermedad oncológica es cáncer de pulmón no microcítico.

En una realización, la presente invención se refiere al uso del compuesto presente o a una composición farmacéutica descrita en la presente para el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la activación del EGFR en un sujeto que lo necesita.

En una realización, la presente invención se relaciona con el uso descrito en la presente, donde la enfermedad o trastorno es la enfermedad o trastorno mediado por la activación del EGFR con una mutación L858R y/o una mutación T790M y/o una delección del exón 19 y/o una mutación C797S.

En una realización, la presente invención se refiere al uso descrito en la presente, donde la enfermedad o trastorno mediado por la activación del EGFR es una enfermedad oncológica. En una realización, la presente invención se refiere al uso descrito en la presente, donde una enfermedad oncológica se selecciona a partir del grupo que comprende cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer cervical, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de próstata, leucosis, linfoma, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de estómago, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del conducto biliar, cáncer de endometrio, cáncer de células renales, cáncer de hígado, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, melanoma, mesotelioma, tumores hematológicos malignos.

En una realización, la presente invención se refiere al uso descrito en la presente, donde una enfermedad oncológica es cáncer de pulmón no microcítico.

Los compuestos de la invención pueden administrarse solos o en combinación con uno o más preparaciones o anticuerpos (o cualquier combinación de los mismos). De este modo, las composiciones farmacéuticas, métodos y usos de la invención también abarcan realizaciones de combinaciones (coadministración) con otros agentes activos.

Tal como se utiliza en la presente, los términos “coadministración”, “coadministrado” y “en combinación con” que se refieren a los compuestos con uno o más agentes terapéuticos, pretenden significar y se refieren e incluyen los a siguientes:

- administración simultánea de tal combinación de un compuesto de la invención y un agente(s) terapéutico(s) a un paciente que necesita tratamiento, cuando tales componentes se formulan juntos en una única forma de dosificación que libera dichos componentes sustancialmente al mismo tiempo a dicho paciente,
- administración sustancialmente simultánea de tal combinación de un compuesto de la invención y un agente(s) terapéutico a un paciente que necesita tratamiento, cuando tales componentes se formulan por separado en formas de dosificación independientes que son tomadas sustancialmente al mismo tiempo por dicho paciente, con lo cual dichos componentes se liberan sustancialmente el mismo tiempo en dicho paciente,
- administración secuencial de tal combinación de un compuesto de la invención y un agente(s) terapéutico(s) a un paciente que necesita tratamiento, cuando tales componentes se formulan por separado en formas de dosificación independientes que son tomadas en tiempos consecutivos por dicho paciente con un intervalo de tiempo significativo entre cada administración, con lo cual dichos componentes se liberan en momentos sustancialmente diferentes en dicho paciente; y
- administración secuencial de tal combinación de un compuesto de la invención y un agente(s) terapéutico(s) a un paciente que necesita tratamiento, cuando tales componentes se formulan juntos en una única forma de dosificación que libera dichos componentes de forma controlada, con lo cual los mismos se liberan de forma simultánea, consecutiva y/o superpuesta en el mismo momento y/o en momentos diferentes en dicho paciente, donde cada parte puede ser administrada por la misma vía o por vías diferentes.

Como es bien conocido por los expertos en la materia, las dosis efectivas desde el punto de vista terapéutico pueden variar cuando los fármacos se utilizan en un tratamiento combinado. Los métodos para determinar experimentalmente las dosis efectivas desde el punto de vista terapéutico de medicamentos y otros agentes para su uso en regímenes de tratamiento combinado se describen en la literatura. Por ejemplo, en la literatura se ha descrito el uso de la dosificación metronómica, es decir, el suministro de dosis más frecuentes y bajas para minimizar los efectos secundarios tóxicos. El tratamiento combinado incluye además tratamientos periódicos que comienzan y terminan en diferentes momentos para ayudar con el manejo clínico del paciente. Para las terapias combinadas descritas en la presente, las dosis de los compuestos coadministrados variarán, por supuesto, dependiendo del tipo de cofármaco empleado, del fármaco específico empleado, de la condición o trastorno que se esté tratando, etc.

El tratamiento antitumoral descrito anteriormente puede utilizarse como una terapia independiente, o en combinación con cirugía, radioterapia o terapia farmacológica. Dicha terapia podrá administrarse de forma concurrente, simultánea, secuencial o separada con un tratamiento con un compuesto de la invención y puede incluir una o más de las siguientes categorías de sustancias antitumorales: fármacos antiproliferativos/antineoplásicos y combinaciones de los mismos, tal como se utilizan en oncología médica, como agentes alquilantes (por ejemplo, cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, ciclofosfamida, clormetina, melfalán, clorambucilo, busulfán, treosulfán, temozolomida, bendamustina, prospidina, espirobromina, prednimustina, estramustina, pafencilo, lofenal, ifosfamida, mafosfamida, trofosfamida, glufosfamida y nitrosoureas, incluidas carmustina, lomustina, nimustina, fotemustina, aranosa, estreptozocina); antimetabolitos (por ejemplo, gemcitabina, fluorouracilo, floxuridina, tegafur, raltitrexed, metotrexato, trimetrexato, pemetrexed, pralatrexato, levofolinato de calcio, citosina arabinósido, hidroxiurea, azatioprina, cladribina, fludarabina, pentostatina, mercaptopurina, nelarabina, tioguanina, fopurina, azacitidina, capecitabina, fludarabina, cladribina,

nelarabina, azatioprina, clofarabina, citarabina, enocitabina, carmofur, gemcitabina, sapacitabina, elacitarabina, doxifiuridina); antibióticos anticancerosos (por ejemplo, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarrubicina, mitomicina, dactinomicina, mitramicina, daunorubicina, carrubicina, epirubicina, valrubicina, zorrubicina, aclarubicina, pirarubicina, nemorubicina, amrrubicina, zinostatina, estreptozocina, *[Aparece texto en otro idioma]*); agentes antimitóticos (por ejemplo, alcaloides de la vinca, como vincristina, vinblastina, vinflunina, vindesina y vinorelbina, taxoides, como paclitaxel y docetaxel, cabazitaxel, tezetaxel, inhibidores de poloquinasa); e inhibidores de la topoisomerasa (por ejemplo, epipodofilotoxinas, como etopósido y tenipósido, amsacrina, topotecano, irinotecano, belotecano, voreloxina, amonafida y camptotecina); agentes citostáticos como antiestrógenos (por ejemplo, tamoxifeno, clostilbegyt, fulvestrant, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno y yodoxifeno), antiandrógenos (por ejemplo, bicalutamida, flutamida, nilutamida, topilutamida, enzalutamida y acetato de ciproterona, clormadinona), antagonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) o agonistas de la LHRH (por ejemplo, goserelina, leuprorelina y buserelina), progestágenos (por ejemplo, clormadinona, caproato de gestonorona, medroxiprogesterona, acetato de megestrol), inhibidores de la aromatasa (por ejemplo, anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano) e inhibidores de la 5 α -reductasa (por ejemplo, finasterida, dutasterida, epristerida); agentes antiinvasivos (por ejemplo, inhibidores de quinasa de la familia c-Src (por ejemplo, saracatinib, dasatinib y bosutinib), inhibidores de la metaloproteínasa (por ejemplo, marimastat), inhibidores de la función del receptor activador de la uroquinasa (por ejemplo, plasminógenos o anticuerpos anti-heparanasa); inhibidores del factor de crecimiento: por ejemplo, tales inhibidores incluyen anticuerpos contra el factor de crecimiento y anticuerpos contra los receptores del factor de crecimiento (por ejemplo, trastuzumab, panitumumab, cetuximab y cualquier anticuerpo contra el factor de crecimiento/el receptor del factor de crecimiento descritos por Stern et al. Critical reviews in oncology/hematology, 2005, Vol. 54, p. 11-29); tales inhibidores también incluyen inhibidores de la tirosina quinasa, incluidos inhibidores de la familia de factores de crecimiento epidérmico (por ejemplo, inhibidores de la tirosina quinasa del EGFR, como gefitinib, erlotinib, canertinib (CI 1033), afatinib, osimertinib, rociletinib, icotinib, dacomitinib; inhibidores de la tirosina quinasa de erbB2, como lapatinib); inhibidores de la familia del factor de crecimiento hepatocitario; inhibidores de la familia del factor de crecimiento similar a la insulina; inhibidores de la familia del factor de crecimiento derivado de las plaquetas, como imatinib, nilotinib; inhibidores de la serina/treonina-quinasa (por ejemplo, inhibidores de la vía Ras/Raf, como inhibidores de la farnesil transferasa, por ejemplo, sorafenib, tipifarnib y lonafarnib), inhibidores de la vía de la MEK- y/o la AKT-quinasa, inhibidores de c-Kit, inhibidores de la abl quinasa, inhibidores de la PI3 quinasa, inhibidores de la Plt3 quinasa, inhibidores de la CSF-1R quinasa, inhibidores de la quinasa del receptor de IGF (factor de crecimiento similar a la insulina); inhibidores de la aurora quinasa (por ejemplo, barasertib (AZD1152), danusertib (PHA-739358), tozasertib (VX-680), MLN8054, R763, MP235, MP529, VX-528 y AX39459) e inhibidores de la quinasa dependiente de ciclina como inhibidores de CDK2 y/o CDK4; agentes antiangiogénicos como los que inhiben los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular (por ejemplo, bevacizumab, vandetanib, vatalanib, sunitinib, axitinib, pazopanib, crizotinib y cediranib (AZD2171), linomida, inhibidores de la función de la integrina avp3, angiostatina, endostatina, talidomida, everolimus, sirolimus, itraconazol, suramina, semaxanib, tromboespondina, ramucirumab, tasquinimod, ranibizumab, sorafenib, compuestos descritos en solicitudes internacionales (WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 y WO 98/13354); agentes causantes de daño vascular (por ejemplo, combretastatina A4, ombrabulina y compuestos descritos en las solicitudes internacionales WO 99/02166, WO 00/40529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 y WO 02/08213; un antagonista del receptor de endotelina (por ejemplo, bosentán, sitaxentán, ambrisentán, BQ-123, BQ-788, macitentán, tezoseptán, zibotentán, atrasentán); terapias antisentido (por ejemplo, las que se dirigen a las dianas mencionadas anteriormente, como ISIS 2503, antisentido anti-ras, antisentido anti-EGFR, custirseno, apatorseno, ISIS-STAT3Rx (ISIS 481464/ AZD9150), ISIS-ARRx (AZD5312), Trabedersen (AP 12009), EZN-2968, LERAFON-ETU); estrategias de terapia génica, que incluyen, por ejemplo, estrategias para reemplazar genes aberrantes (por ejemplo, p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrantes, estrategias GDEPT (terapia con profármacos enzimáticos dirigida por genes), como las que utilizan citosina deaminasa, timidina quinasa o una enzima nitrorreductasa bacteriana), y estrategias para

aumentar la tolerancia de los pacientes a la quimioterapia o a la radioterapia, como terapia génica de resistencia a múltiples fármacos; y estrategias de inmunoterapia, que incluyen, por ejemplo, inhibidores de puntos de control, como PD-1/PD-L1 (nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, durvalumab, avelumab, pidilizumab, etc.), y fármacos que se dirigen a CTLA-4 (que incluyen ipilimumab, tremelimumab), OX-40, VISTA, ICOS, TIGIT, LAG-3, 4-1BB, GITR, CD40, CCR4, etc.; otras estrategias *ex vivo* e *in vivo* para aumentar la inmunogenicidad de las células tumorales del paciente, como transfección con citoquinas como interleucina 2, interleucina 4, interleucina 15 o factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, estrategias para disminuir la anergia de las células T, estrategias que utilizan células inmunitarias transfectadas, como células dendríticas transfectadas por citoquinas, estrategias que utilizan líneas celulares tumorales transfectadas por citoquinas, estrategias que utilizan anticuerpos anti-idiotípicos, estrategias para reducir las funciones de las células inmunosupresoras, como células T reguladoras, células supresoras mieloides o células dendríticas que expresan IDO (indolamina 2,3-deoxigenasa), y estrategias que utilizan vacunas contra el cáncer que consisten en proteínas o péptidos derivados de antígenos asociados a tumores, como NY-ESO-1, MAGE-3, WT1 o Her2/neu.

De este modo, de acuerdo con otra realización de la invención, se proporciona un producto farmacéutico que comprende un compuesto de fórmula I o una sal, solvato o estereoisómero del mismo desde el punto de vista farmacéutico según se definió anteriormente, en combinación con una sustancia antitumoral según se definió anteriormente, destinada al tratamiento conjunto del cáncer.

Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta óptima deseada. Por ejemplo, puede administrarse una dosis única, pueden administrarse varias dosis divididas a lo largo del tiempo o la dosis puede reducirse o aumentarse proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular composiciones orales en forma de unidades de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosis. La forma de unidad de dosificación, tal como se utiliza en la presente, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para los pacientes/sujetos a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. La especificación para las formas de dosificación unitaria de la invención es comúnmente dictada por y directamente dependiente de (a) las características singulares de un agente terapéutico y el efecto terapéutico o profiláctico particular a lograr, y (b) las limitaciones inherentes en el arte de componer tal compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad en los sujetos.

Por lo tanto, un técnico calificado apreciaría, basado en la descripción proporcionada en la presente, que las dosis y el régimen de dosificación se ajusten de acuerdo con métodos bien conocidos en las artes terapéuticas. Es decir, la dosis máxima tolerable puede establecerse fácilmente, y también puede determinarse la cantidad efectiva que proporciona un efecto terapéutico detectable a un paciente, así como los requisitos temporales para administrar cada agente a fin de proporcionar un efecto terapéutico detectable a un paciente. Por lo tanto, si bien en la presente se ejemplifican ciertas dosis y regímenes de administración, estos ejemplos de ninguna manera limitan las dosis y el régimen de administración que pueden proporcionarse a un paciente en la práctica de las realizaciones de la invención.

Cabe señalar que los valores de dosificación pueden variar con el tipo y la gravedad de la condición a aliviar, y pueden incluir dosis únicas o múltiples. Debe entenderse además que para cualquier sujeto en particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse a lo largo del tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los rangos de dosis establecidos en este documento son solamente a título de ejemplo y no están destinados a limitar el alcance o la práctica de la composición de la realización. Además, el régimen de dosificación con las composiciones de esta invención puede estar basado en una variedad de factores, que incluyen el tipo de enfermedad, la edad, el peso, el sexo, la condición médica del paciente, la gravedad de la condición, la vía de administración, y el compuesto particular empleado. Por lo tanto, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede determinarse rutinariamente utilizando métodos estándar. Por ejemplo, las dosis pueden

ajustarse basándose en parámetros farmacocinéticos o farmacodinámicos, que pueden incluir efectos clínicos tales como efectos tóxicos y/o valores de laboratorio. De esta manera, la presente invención comprende el aumento de la dosis en un mismo paciente determinado por la persona experta en la materia. Los métodos para determinar la dosificación y los regímenes apropiados son bien conocidos en el arte y serían entendidos por un técnico calificado una vez que se proporcionen las ideas reveladas en la presente.

Generalmente, la dosis diaria estándar para un ser humano adulto está en el rango de 0,02 mg a 5000 mg o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1500 mg.

Una vez que las condiciones del paciente han mejorado, se administra una dosis de mantenimiento, si es necesario. Posteriormente, la dosificación o la frecuencia de administración, o ambas, pueden reducirse en función de los síntomas a un nivel en el que se mantenga la mejora de la enfermedad o el trastorno. Los pacientes pueden necesitar tratamiento periódico por un tiempo prolongado en caso de recurrencia de los síntomas.

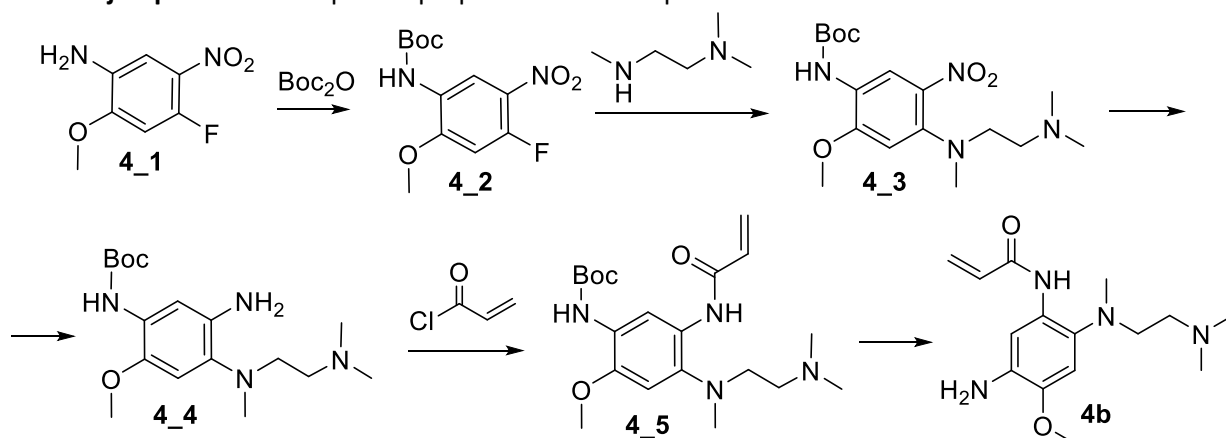
Los rangos anteriores son meramente a modo de sugerencia, ya que el número de variables con respecto a un régimen de tratamiento individual es grande, y no son infrecuentes desviaciones considerables de estos valores recomendados. Tales dosis pueden ser alteradas dependiendo de una serie de variables, no limitadas a la actividad del compuesto usado, el trastorno o condición a ser tratada, el método de administración, los requerimientos del sujeto individual, la gravedad del trastorno o condición a ser tratada y el juicio del médico.

Para que esta invención puede ser mejor entendida, se presentan los siguientes ejemplos. Estos ejemplos son para propósitos de ilustración solamente y no deben ser interpretados como limitantes del alcance de la invención de ninguna manera.

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patentes citadas en esta memoria descriptiva se incorporan en la presente como referencia. Si bien la invención precedente ha sido descrita en algún detalle a manera de ilustración y ejemplo a los fines de aclarar la comprensión, será fácilmente evidente para aquellos con habilidad ordinaria en el arte a la luz de las enseñanzas de esta invención que pueden realizarse ciertos cambios y modificaciones sin apartarse del espíritu o alcance de las realizaciones anexas.

Ejemplos

Ejemplo 1. Método para la preparación del compuesto **4b**.



Paso 1. preparación del compuesto **4_2**.

Se agregó gota a gota una solución de dicarbonato de di-terbutilo (16,2 g, 74,3 mmol) en 30 mL de diclorometano at 0°C durante 30 minutos a una solución de 4-fluoro-2-metoxi-5-nitroanilina **4_1** (10,0 g, 53,7 mmol) y DMAP (0,33 g, 2,66 mmol) en diclorometano (100 mL). La mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante 24 horas. La mezcla resultante se concentró bajo vacío, el producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando diclorometano/hexano (gradiente de 1:1 a 1:0) como eluyente. El rendimiento del compuesto **4_2** fue 6,40 g (42%).

Paso 2. preparación del compuesto **4_3**.

Se agregó *N,N,N'*-trimetiletilendiamina (3,59 mL, 27,2 mmol) y DIPEA (5,24 mL, 31,3 mmol) a una solución de anilina **4_2** (6,10 g, 20,9 mmol) en DMF (10 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 2 horas. La mezcla resultante se vertió sobre agua, el producto se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y solución saturada de NaCl, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo vacío. El rendimiento del compuesto **4_3** fue 7,62 g (99%).

Paso 3. preparación del compuesto **4_4**.

Se agregó Pd/C (1,30 g, 3,02 mmol) a una solución del compuesto **4_3** (7,50 g, 20,2 mmol) en metanol (90 mL) y se hidrogenó bajo presión de hidrógeno (2 atm) durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtró y concentró bajo vacío. El rendimiento del compuesto **4_4** fue 6,69 g (98%).

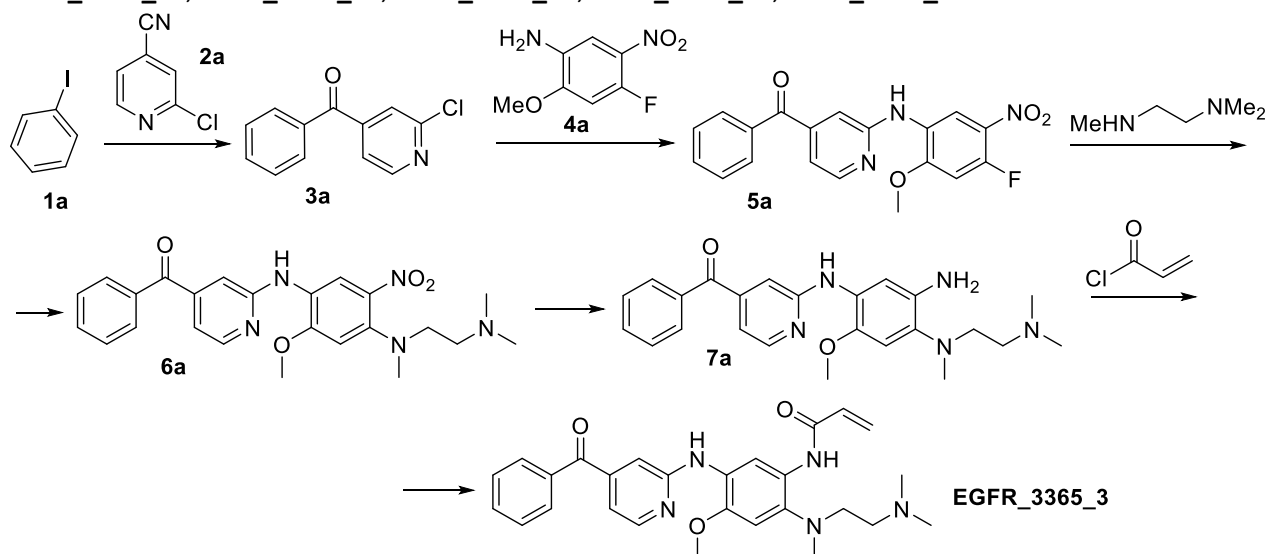
Paso 4. preparación del compuesto **4_5**.

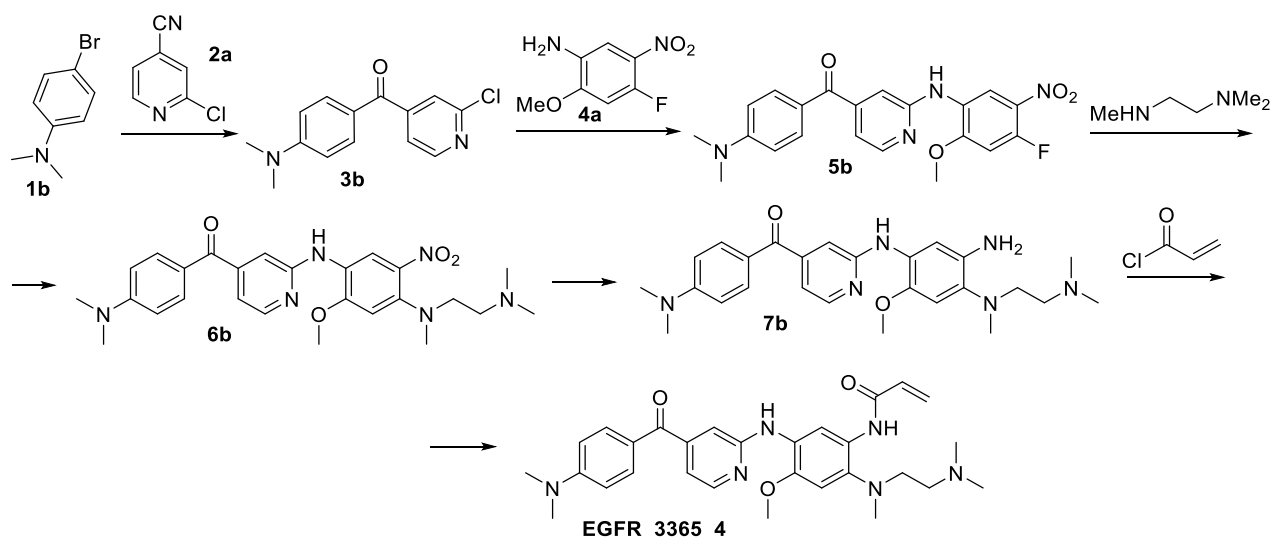
Se agregó gota a gota una solución de cloruro de acrililo (3,59 mL, 27,2 mmol) en diclorometano (80 mL) a 0 °C durante 30 a una mezcla del compuesto **4_4** (6,69 g, 19,8 mmol) y DIPEA (3,59 mL, 27,2 mmol) en diclorometano (150 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Luego de 3,5 horas, se agregaron más cantidades de cloruro de acrililo (0,38 mL, 4,60 mmol) y DIPEA (0,80 mL, 4,60 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se agregó solución saturada de Na₂SO₄ a la mezcla resultante, la capa orgánica se lavó con solución saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, se filtró y concentró bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando acetato de etilo/hexano/trietilamina (gradiente de 8:2:0 a 8:2:0.05) como eluyente. El rendimiento del compuesto **4_5** fue 5,04 g (65%).

Paso 5. preparación del compuesto **4b**.

El compuesto **4_5** (5,04 g, 12,8 mmol) se disolvió en 30 mL de ácido trifluoroacético y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se agregó gota a gota a una solución saturada de Na₂CO₃, el producto se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y solución saturada de NaCl, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando acetato de etilo/hexano/trietilamina (gradiente de 8:2:0 a 8:2:0.07) como eluyente. El rendimiento del compuesto **4b** fue 3,23 g (85%).

Ejemplo 2. Método de preparación del compuesto **EGFR_3365_3**, **EGFR_3365_4**, **EGFR_3365_50**, **EGFR_3365_51**, **EGFR_3365_52**, **EGFR_3365_54**, **EGFR_3365_56**, **EGFR_3365_57**, **EGFR_3365_77**, **EGFR_3365_85**, **EGFR_3365_87**, **EGFR_3365_88**, **EGFR_3365_93**.





Paso 1. preparación del compuesto **3a**.

Se agregó gota a gota solución de n-Butil litio 2,5M en hexano (15,9 mL, 39,7 mmol) bajo atmósfera de nitrógeno a -78°C durante 15 minutos a una solución de yodobenzol **1a** (8,35 g, 39,7 mmol) en 350 mL de éter dietílico. La mezcla de reacción se llevó a 0°C y se agitó durante 30 minutos. Luego, la mezcla de reacción se enfrió hasta -78°C y se le agregó lentamente una solución de nitrilo **2a** (5,00 g, 36,1 mmol) en 50 mL de éter dietílico. La mezcla resultante se agitó a -78°C durante 1 hora, luego la mezcla se llevó a -30°C y se agregó 100 mL HCl 2M. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora, se neutralizó con solución de NaOH 1M, el producto se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 , se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando acetato de etilo/hexano (1:4) como eluyente. El rendimiento del compuesto **3a** fue 7,04 g (90%).

El compuesto **3b** se preparó de manera similar usando el reactivo inicial correspondiente **1b**.

Paso 2. preparación del compuesto **5a**.

Se agregó Cs_2CO_3 (0,300 g, 0,92 mmol), BINAP (0,057 g, 0,09 mmol) y anilina **4a** (0,094 g, 0,51 mmol) a temperatura ambiente a una solución del compuesto **3a** (0,100 g, 0,46 mmol) en 2 mL de 1,4-dioxano. La solución resultante se desgasificó con nitrógeno durante 10 minutos. Luego, se agregó $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,010 g, 0,05 mmol) bajo agitación a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se llevó a ebullición bajo atmósfera de nitrógeno durante 3 horas. La mezcla luego se diluyó con 10 mL de diclorometano y se filtró a través de Celite. El filtrado se concentró bajo vacío, el producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando diclorometano como eluyente. El rendimiento del compuesto fue **5a** fue 0,112 g (66%).

El compuesto **5b** se preparó de manera similar usando el correspondiente compuesto intermediario **3b**.

Paso 3. preparación del compuesto **6a**.

N,N,N'-Trimetiletano-1,2-diamino (0,034 g, 0,33 mmol) y DIPEA (0,077 g, 0,6 mmol) a una solución del compuesto **5a** (0,110 g, 0,3 mmol) en 3 mL de dimetilformamida. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla resultante se concentró, el producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando diclorometano/acetato de etilo (8:1) como eluyente con gradiente de trietilamina (de 0% a 10%). El rendimiento del compuesto **6a** fue 0,127 g (95%).

El compuesto **6b** se preparó de manera similar usando el correspondiente compuesto intermediario **5b**.

Paso 4. preparación del compuesto **7a**.

Se agregó NaHCO_3 (0,214 g, 2,54 mmol) a una solución del compuesto **6a** (0,127 g, 0,28 mmol) en 9 mL de mezcla de tetrahidrofurano/metanol/agua (3:1:5). Se agregó $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (0,442 g, 2,54 mmol) en partes a 0°C durante 30 minutos a la mezcla resultante. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La mezcla luego se diluyó con agua, el producto se extrajo con acetato

de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando diclorometano/acetato de etilo (3:1) como eluyente con gradiente de trietilamina (de 0,5% a 5%). El rendimiento del compuesto **7a** fue 0,107 g (90%).

El compuesto **7b** se preparó de manera similar usando el correspondiente compuesto intermediario **6b**.

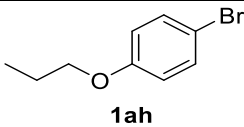
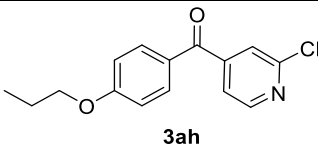
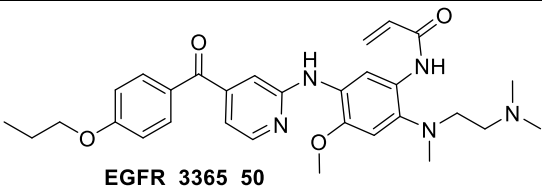
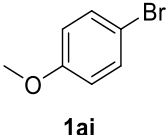
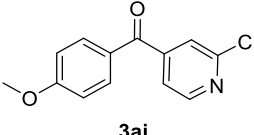
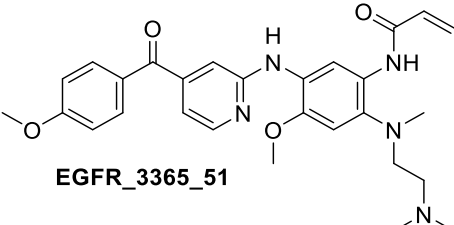
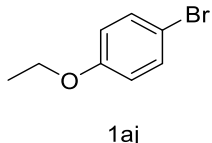
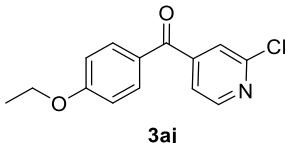
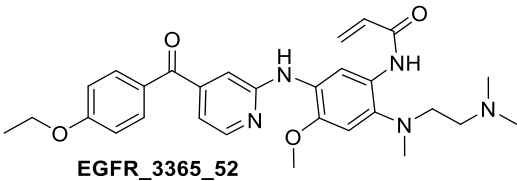
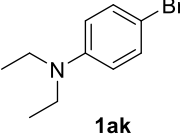
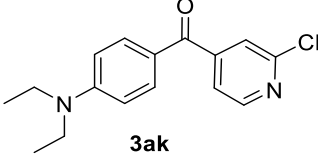
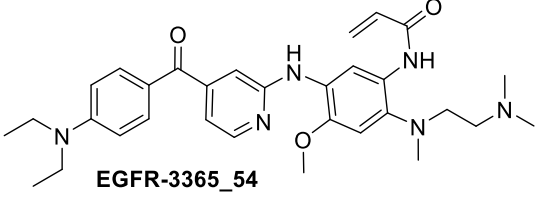
Paso 5. preparación del compuesto **EGFR_3365_3**.

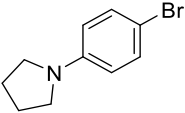
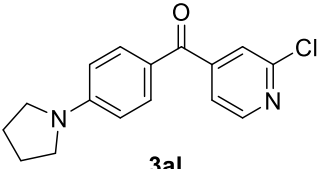
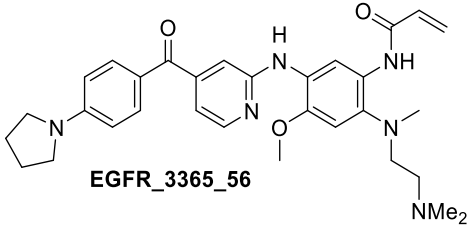
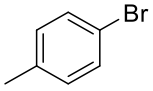
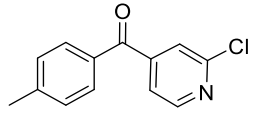
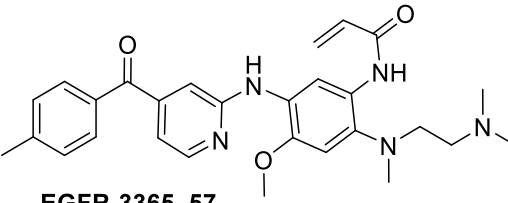
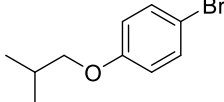
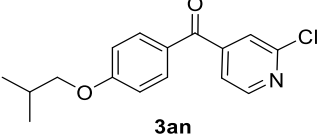
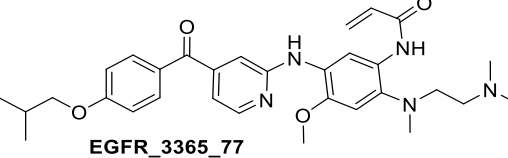
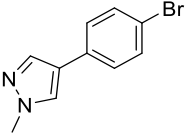
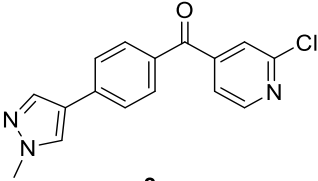
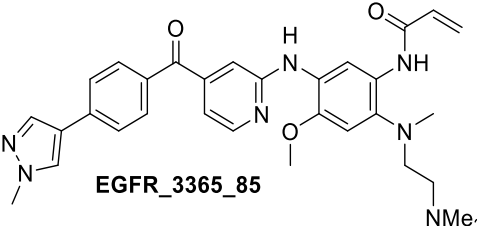
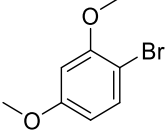
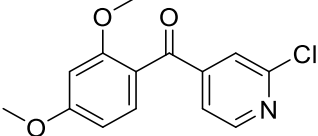
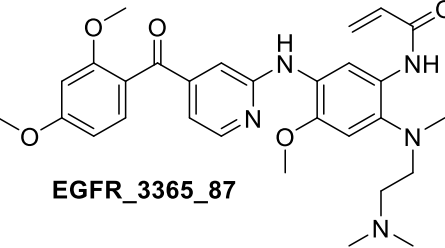
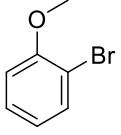
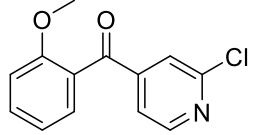
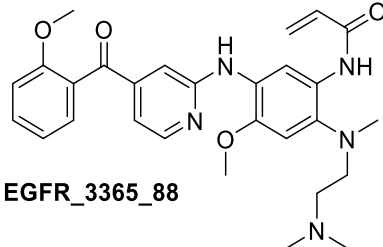
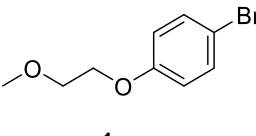
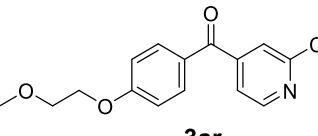
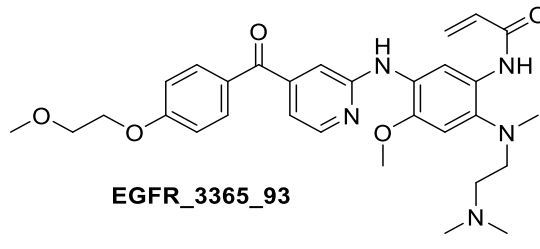
Se agregó DIPEA (0,035 g, 0,27 mmol) a una solución del compuesto **7a** (0,107 g, 0,26 mmol) en 5 mL de diclorometano. Se agregó gota a gota solución de cloruro de aciloilo (0,024 g, 0,26 mmol) en 3 mL de diclorometano a -70 °C durante 1 hora a la mezcla resultante. La mezcla de reacción se llevó a -30 °C y se agitó a esta temperatura durante 30 minutos. Se agregó solución saturada de NaHCO₃ a la mezcla resultante, el producto se extrajo con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando diclorometano/hexano/acetato de etilo (3:1:1) como eluyente con gradiente de trietilamina (de 0,5% a 3%). El rendimiento del compuesto **EGFR_3365_3** fue 0,055 g (45%).

El compuesto **EGFR_3365_4** se preparó de manera similar usando el correspondiente compuesto intermediario **7b** (el producto se purificó adicionalmente mediante cromatografía preparativa). Compuesto **EGFR_3365_4a** se preparó usando liofilización repetida del compuesto **EGFR_3365_4**.

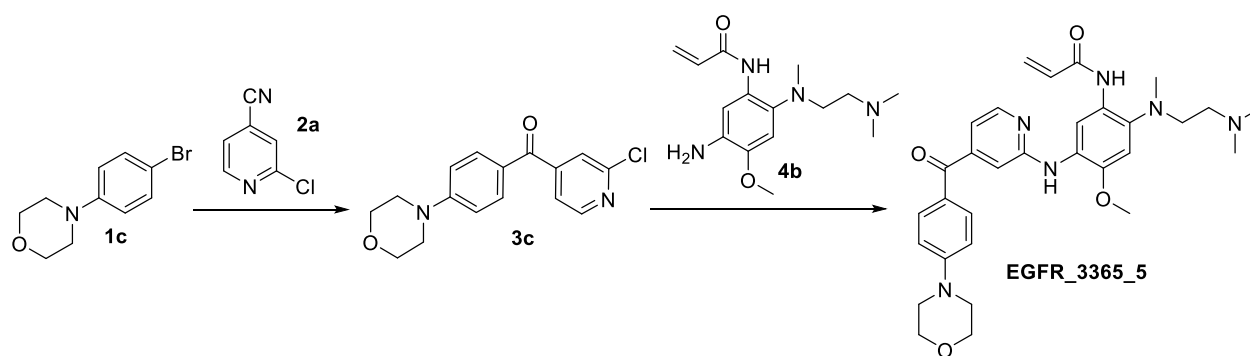
Los candidatos **EGFR_3365_50**, **EGFR_3365_51**, **EGFR_3365_52**, **EGFR_3365_54**, **EGFR_3365_56**, **EGFR_3365_57**, **EGFR_3365_77**, **EGFR_3365_85**, **EGFR_3365_87**, **EGFR_3365_88**, **EGFR_3365_93** se prepararon de manera similar al compuesto **5a** usando anilina **4b** en lugar de **4a** y el reactivo inicial correspondiente via los compuestos intermediarios mostrados en la Tabla 1.

Tabla 1.

Reactivo inicial	Compuesto intermediario	Candidatos
 1ah	 3ah	 EGFR_3365_50
 1ai	 3ai	 EGFR_3365_51
 1aj	 3aj	 EGFR_3365_52
 1ak	 3ak	 EGFR_3365_54

 1al	 3al	 EGFR_3365_56
 1am	 3am	 EGFR_3365_57
 1an	 3an	 EGFR_3365_77
 1ao	 3ao	 EGFR_3365_85
 1ap	 3ap	 EGFR_3365_87
 1aq	 3aq	 EGFR_3365_88
 1ar	 3ar	 EGFR_3365_93

Ejemplo 3. Método de preparación del compuesto **EGFR_3365_5**, **EGFR_3365_15**, **EGFR_3365_26**, **EGFR_3365_73**, **EGFR_3365_101**, **EGFR_3365_102**, **EGFR_3365_103**, **EGFR_3365_104**, **EGFR_3365_116**, **EGFR_3365_124**.



Paso 1. preparación del compuesto **3c**.

Se agregó bromuro de arilo **1c** (0,5 g, 2,06 mmol) y cantidad de catalítica de dibromoetano a una suspensión de magnesio (0,061 g, 2,52 mmol) en 20 mL de tetrahidrofurano. La suspensión resultante se llevó a ebullición durante 2,5 horas, se enfrió hasta temperatura ambiente y se agregó nitrilo **2a** (0,277 g, 2,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días, se diluyó con solución saturada de NH_4Cl , la capa orgánica se separó y se concentró. El residuo se disolvió en 10 mL de éter dietílico, se agregaron 40 mL de HCl 1M a una solución, la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La capa acuosa se aisló y se neutralizó con solución saturada de NaHCO_3 el producto se extrajo con diclorometano, las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl, se secaron con Na_2SO_4 , se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando acetato de etilo/hexano (1:4) como eluyente. El rendimiento del compuesto **3c** fue 0,407 g (65%).

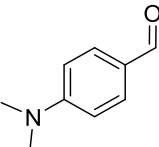
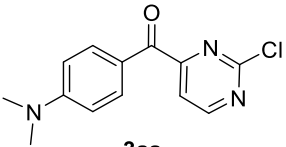
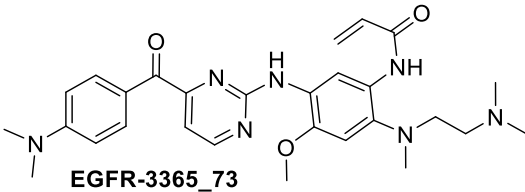
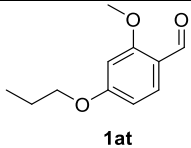
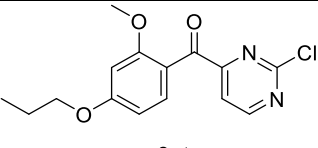
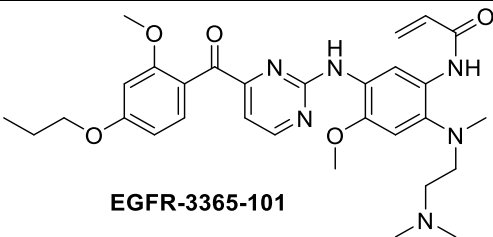
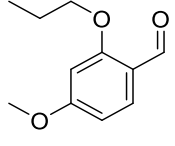
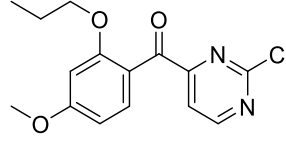
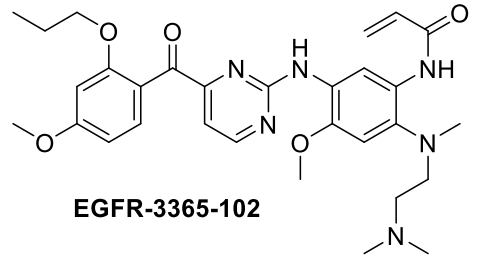
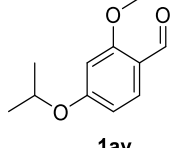
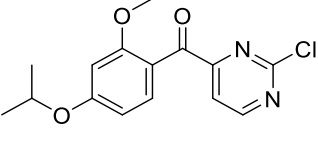
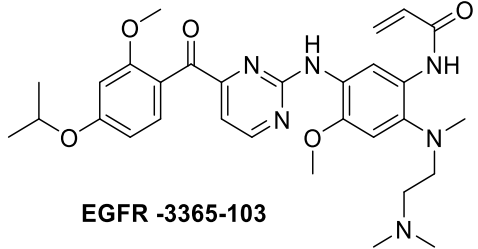
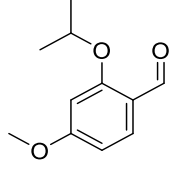
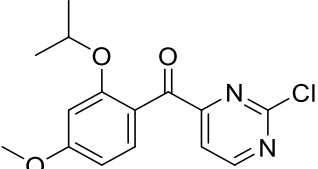
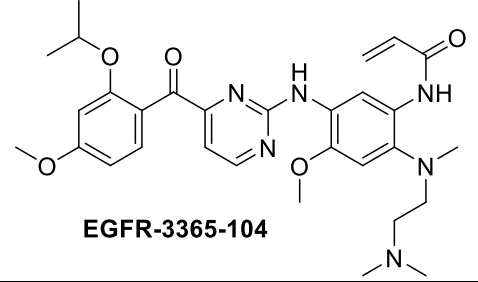
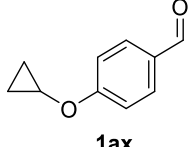
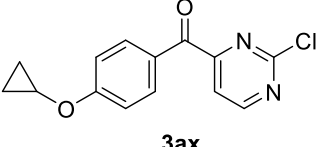
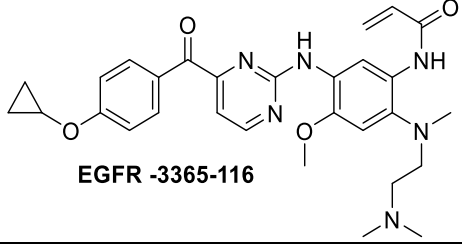
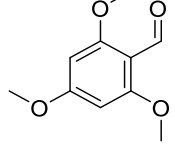
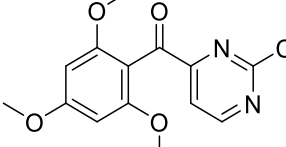
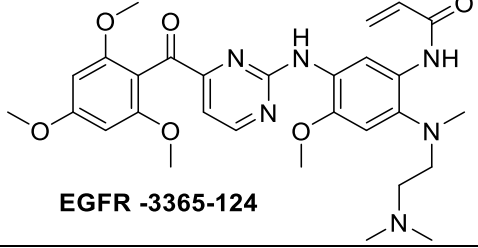
Paso 2. preparación del compuesto **EGFR_3365_5**.

El compuesto **EGFR_3365_5** se preparó de manera similar al compuesto **5a** (paso 2) usando el compuesto **3c** en lugar del compuesto **3a** y anilina **4b** en lugar del **4a**. El compuesto **EGFR_3365_5a** se preparó usando la liofilización repetida del compuesto **EGFR_3365_5**.

Los compuestos **EGFR_3365_15**, **EGFR_3365_26**, **EGFR_3365_73**, **EGFR_3365_101**, **EGFR_3365_102**, **EGFR_3365_103**, **EGFR_3365_104**, **EGFR_3365_116**, **EGFR_3365_124** se prepararon de manera similar usando los reactivos iniciales correspondientes via los correspondientes compuestos intermediarios mostrados en la Tabla 2.

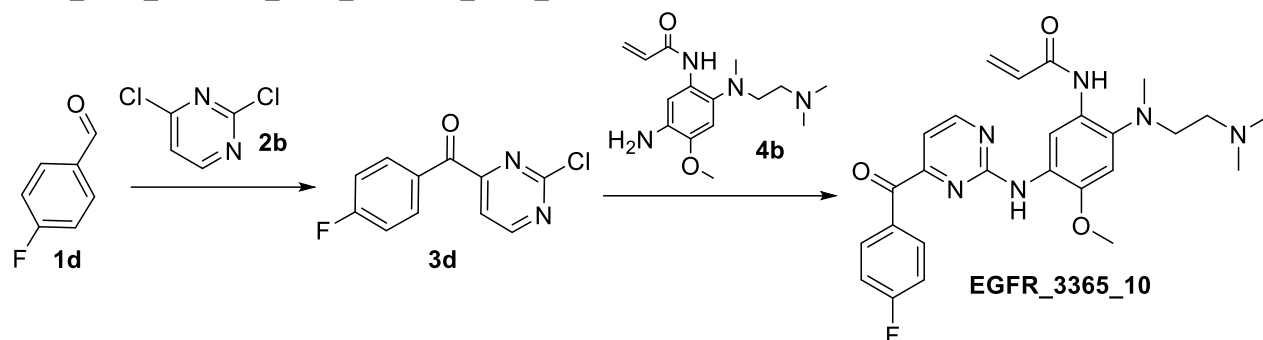
Tabla 2.

Reactivo inicial	Compuesto intermediario	Candidato
1i	3i	EGFR_3365_15
1l	3l	EGFR_3365_26

 1as	 3as	 EGFR-3365_73
 1at	 3at	 EGFR-3365-101
 1au	 3au	 EGFR-3365-102
 1av	 3av	 EGFR-3365-103
 1aw	 3aw	 EGFR-3365-104
 1ax	 3ax	 EGFR-3365-116
 1ay	 3ay	 EGFR-3365-124

Ejemplo 4. Método de preparación del compuesto **EGFR_3365_10**, **EGFR_3365_11**, **EGFR_3365_12**, **EGFR_3365_13**, **EGFR_3365_14**, **EGFR_3365_14a**, **EGFR_3365_16**, **EGFR_3365_17**,

EGFR_3365_28, EGFR_3365_29, EGFR_3365_30, EGFR_3365_31, EGFR_3365_32, EGFR_3365_33, EGFR_3365_34, EGFR_3365_36, EGFR_3365, EGFR_3365_64, EGFR_3365_66, EGFR_3365_67, EGFR_3365_68, EGFR_3365_69, EGFR_3365_70, EGFR_3365_71, EGFR_3365_78, EGFR_3365_86, EGFR_3365_91, EGFR_3365_92, EGFR_3365_94.



Paso 1. preparación del compuesto **3d**.

Se agregó 2,4-dicloropirimidina **2b** (0,500 g, 3,35 mmol) y yoduro de N,N'- dimetilimidazolio (0,375 g, 1,67 mmol) a temperatura ambiente a una solución del aldehído **1d** (0,478 g, 3,85 mmol) en 10 mL de DMF. La solución resultante se desgasificó con nitrógeno durante 10 minutos, luego se agregó NaH (60%, 0,201 g, 5,02 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla resultante luego se vertió en agua fría, el producto se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y solución saturada de NaCl, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando acetato de etilo/hexano (1:4) como eluyente. El rendimiento del compuesto **3d** fue 0,166 g (21%).

Los compuestos **3e-3u** se prepararon de manera similar (Tabla 2). La mezcla de 1,4-dioxano y DMSO (10:1) se usó para preparar los compuestos **3f** y **3g**.

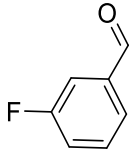
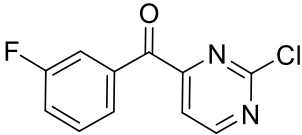
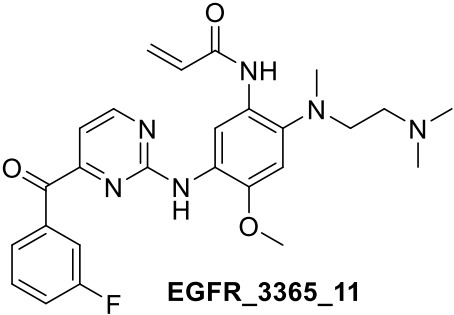
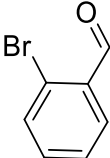
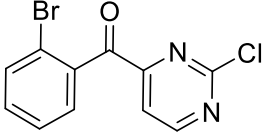
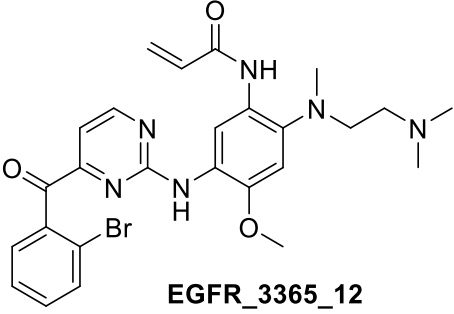
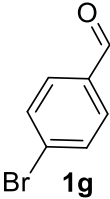
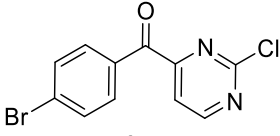
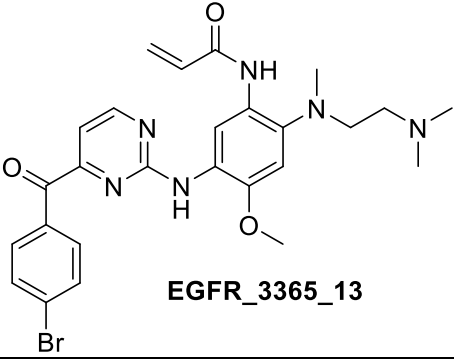
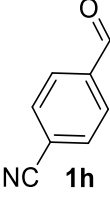
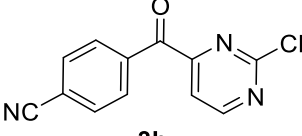
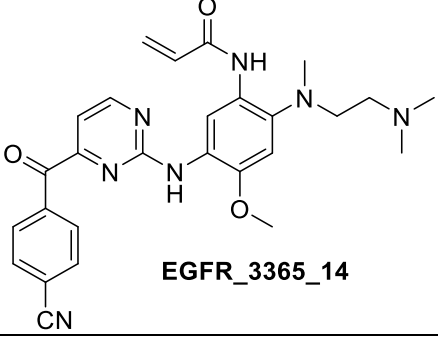
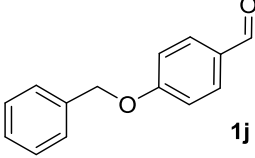
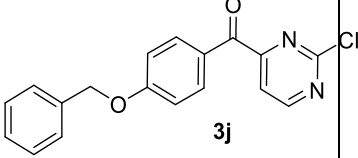
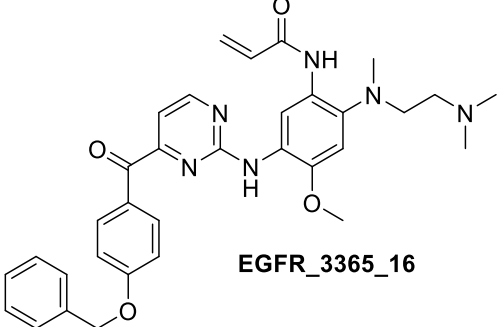
Paso 2. preparación del compuesto EGFR_3365_10.

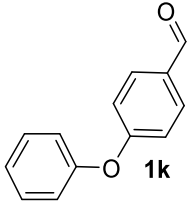
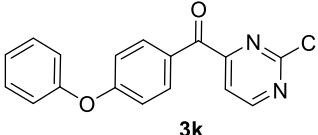
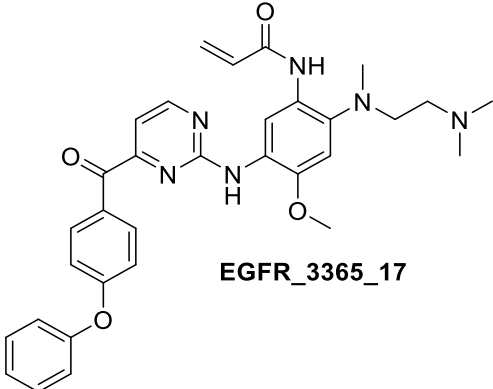
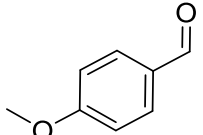
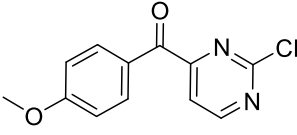
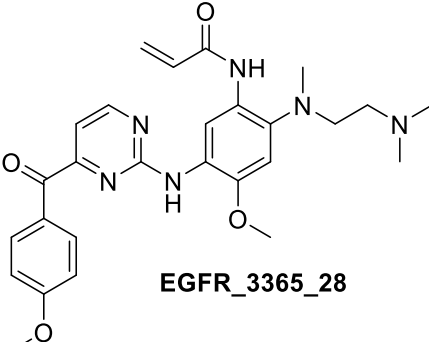
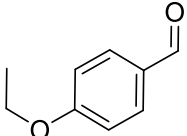
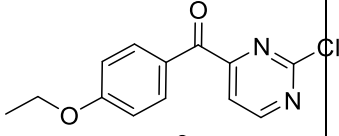
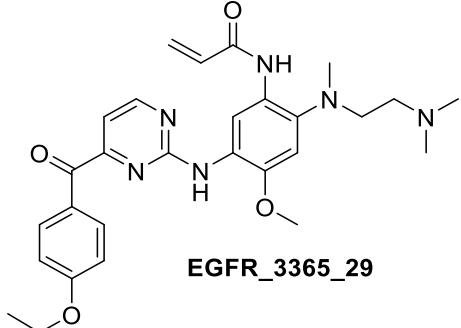
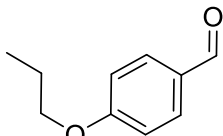
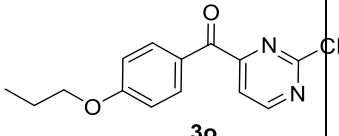
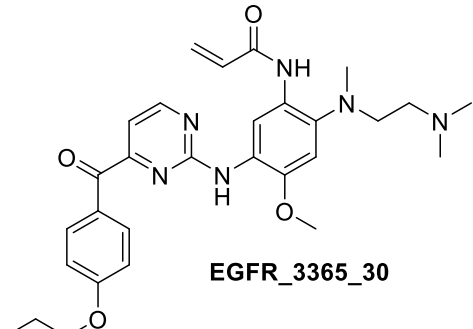
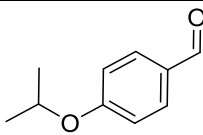
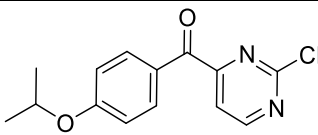
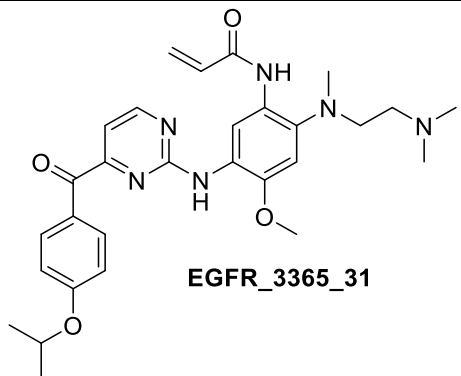
Se agregó anilina **4b** (0,115 g, 0,53 mmol) y ácido trifluoroacético (0,185 mL, 2,64 mmol) a temperatura ambiente a una solución del compuesto **3d** (0,114 g, 0,48 mmol) en 2 mL de alcohol isopropílico. La mezcla de reacción se llevó a ebullición durante 24 horas. Se agregó solución saturada de NaHCO₃ y diclorometano a la mezcla de reacción. La capa orgánica se lavó con solución saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando diclorometano/hexano/acetato de etilo (3:1:1) como eluyente con gradiente de trietilamina (de 0,5% a 3%). El rendimiento del compuesto EGFR_3365_10 fue 54 mg (23%). El producto se purificó adicionalmente mediante cromatografía preparativa.

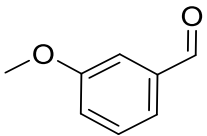
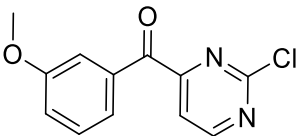
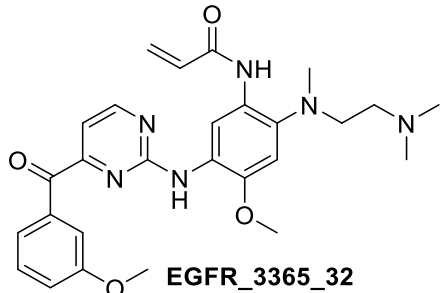
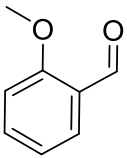
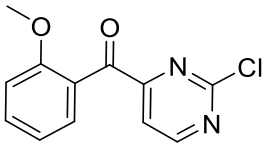
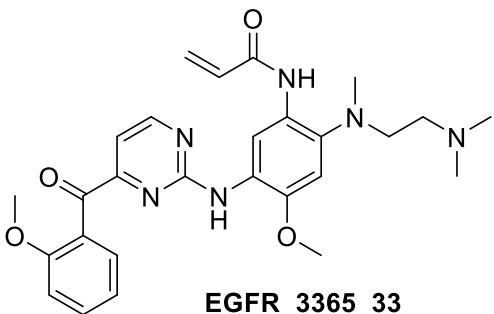
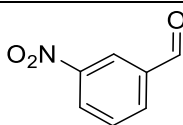
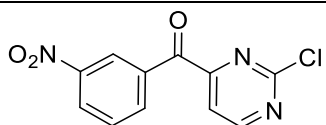
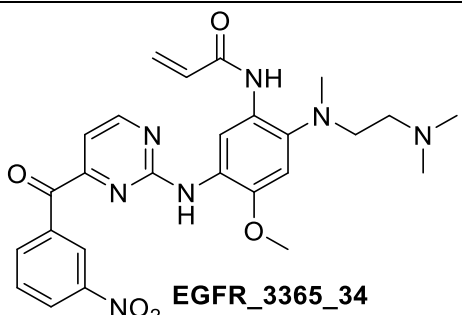
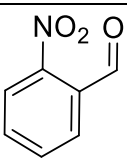
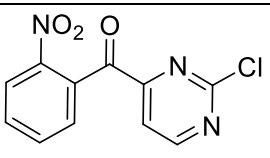
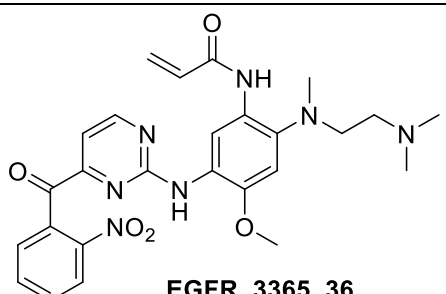
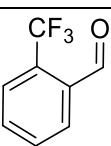
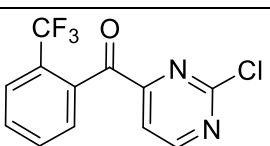
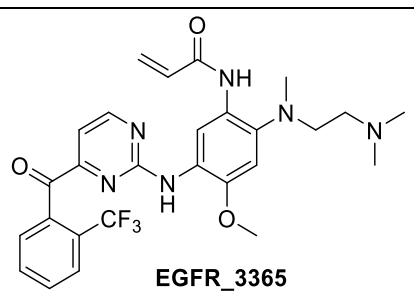
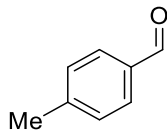
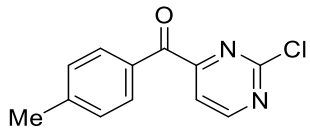
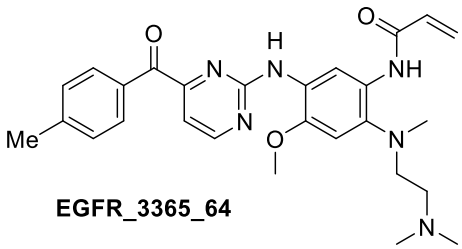
Los compuestos EGFR_3365_11, EGFR_3365_12, EGFR_3365_13, EGFR_3365_14, EGFR_3365_14a, EGFR_3365_16, EGFR_3365_17, EGFR_3365_28, EGFR_3365_29, EGFR_3365_30, EGFR_3365_31, EGFR_3365_32, EGFR_3365_33, EGFR_3365_34, EGFR_3365_36, EGFR_3365, EGFR_3365_64, EGFR_3365_66, EGFR_3365_67, EGFR_3365_68, EGFR_3365_69, EGFR_3365_70, EGFR_3365_71, EGFR_3365_78, EGFR_3365_86, EGFR_3365_91, EGFR_3365_92, EGFR_3365_94 se prepararon de manera similar usando los reactivos iniciales correspondientes via los correspondientes compuestos intermediarios mostrados en la Tabla 3.

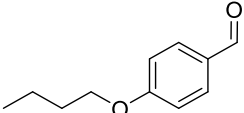
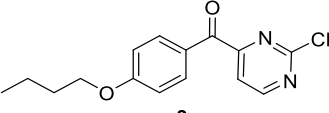
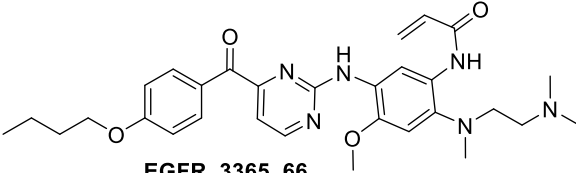
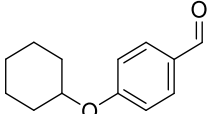
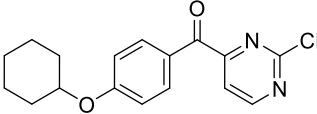
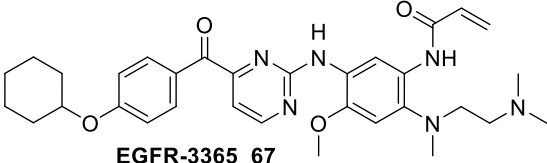
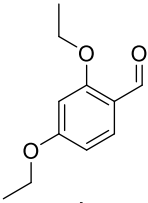
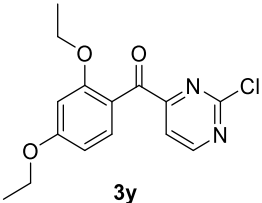
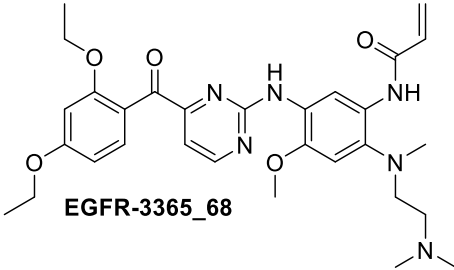
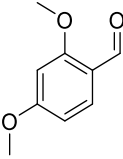
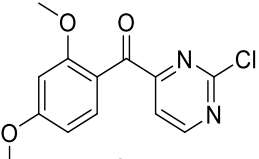
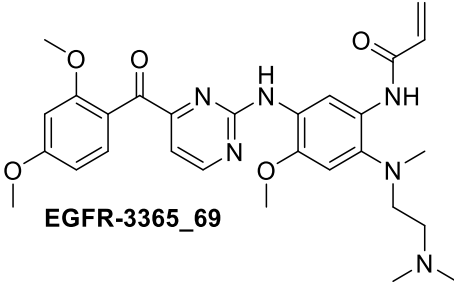
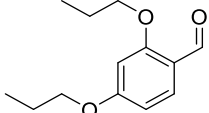
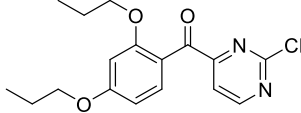
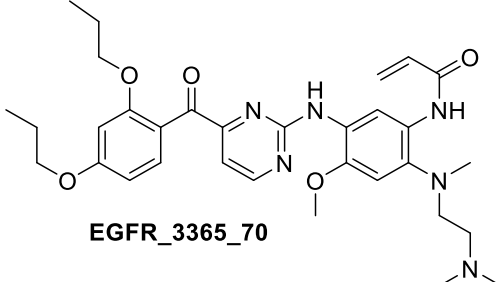
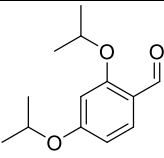
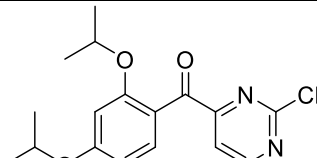
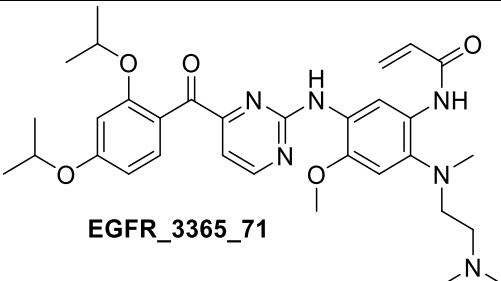
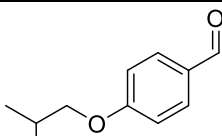
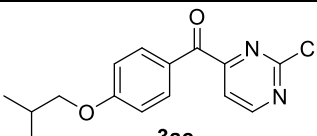
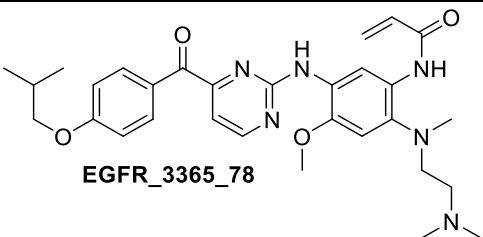
Tabla 3.

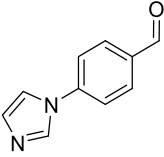
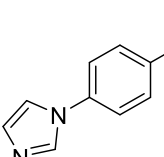
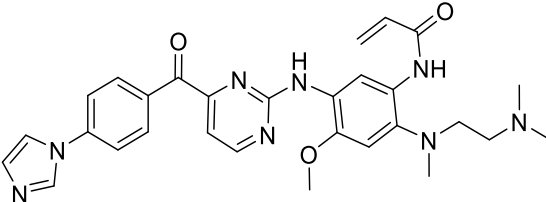
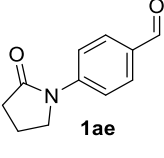
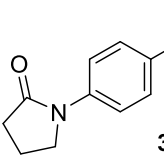
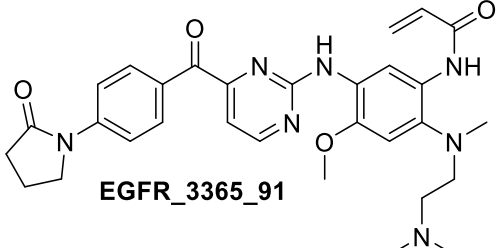
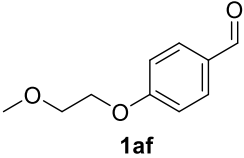
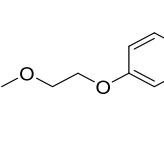
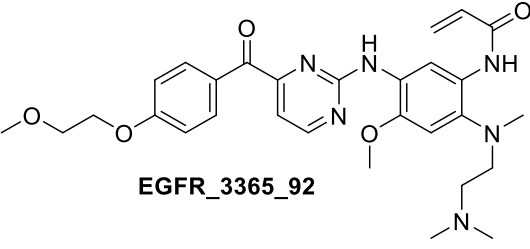
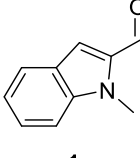
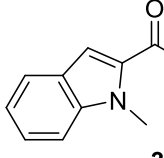
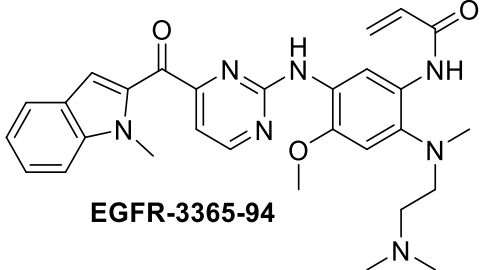
Reactivo inicial	Compuesto intermediario	Candidato
------------------	-------------------------	-----------

 1e	 3e	 EGFR_3365_11
 1f	 3f	 EGFR_3365_12
 1g	 3g	 EGFR_3365_13
 1h	 3h	 EGFR_3365_14
 1j	 3j	 EGFR_3365_16

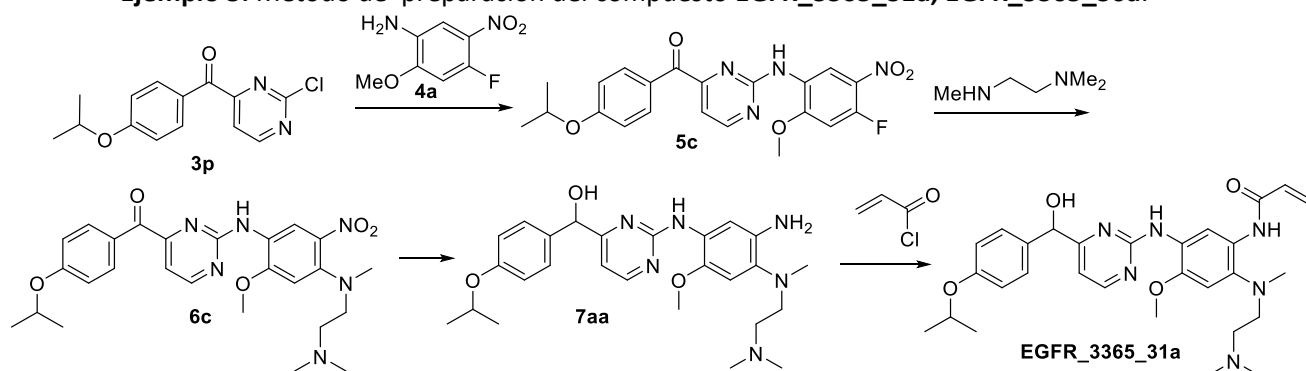
 1k	 3k	 EGFR_3365_17
 1m	 3m	 EGFR_3365_28
 1n	 3n	 EGFR_3365_29
 1o	 3o	 EGFR_3365_30
 1p	 3p	 EGFR_3365_31

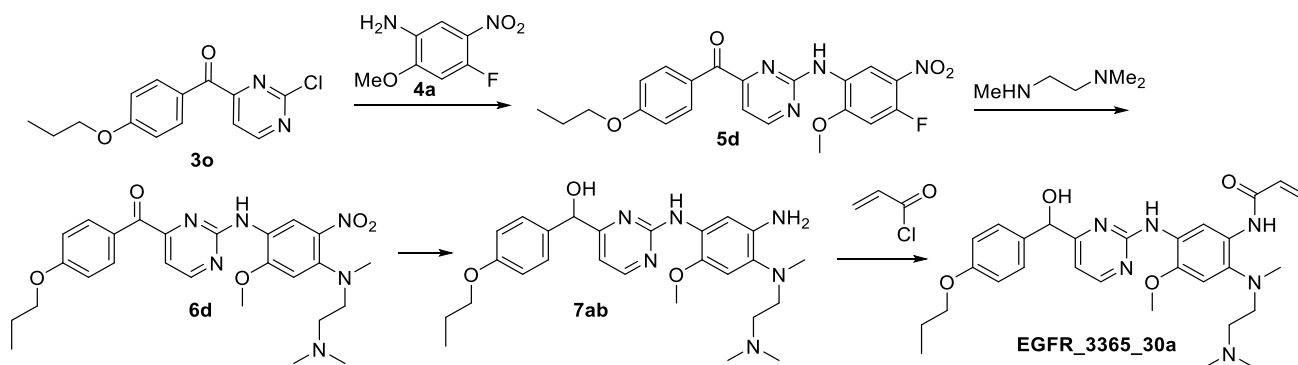
 1q	 3q	 EGFR_3365_32
 1r	 3r	 EGFR_3365_33
 1s	 3s	 EGFR_3365_34
 1t	 3t	 EGFR_3365_36
 1u	 3u	 EGFR_3365
 1v	 3v	 EGFR_3365_64

 1w	 3w	 EGFR_3365_66
 1x	 3x	 EGFR-3365_67
 1y	 3y	 EGFR-3365_68
 1z	 3z	 EGFR-3365_69
 1aa	 3aa	 EGFR_3365_70
 1ab	 3ab	 EGFR_3365_71
 1ac	 3ac	 EGFR_3365_78

 1ad	 3ad	 EGFR-3365_86
 1ae	 3ae	 EGFR_3365_91
 1af	 3af	 EGFR_3365_92
 1ag	 3ag	 EGFR-3365-94

Ejemplo 5. Método de preparación del compuesto EGFR_3365_31a, EGFR_3365_30a.





Paso 1. preparación del compuesto **5c**.

El compuesto **5c** se preparó en la misma manera que el compuesto **EGFR_3365_10** usando el compuesto **3p** en lugar del compuesto **3d** y la anilina **4a** en lugar de la anilina **4b**.

El compuesto **5d** se preparó de manera similar usando el correspondiente compuesto inicial **3o**.

Paso 2. preparación del compuesto **6c**.

El compuesto **6c** se preparó en la misma manera que el compuesto **6a** usando el compuesto **5c** en lugar del compuesto **5a**.

El compuesto **6d** se preparó de manera similar usando el correspondiente compuesto intermediario **5d**.

Paso 3. preparación del compuesto **7aa**.

Se agregó Na₂S₂O₄ (13,75 g, 78,2 mmol) a una solución del compuesto **6c** (4,1 g, 7,82 mmol) en 120 mL de una mezcla de metanol/agua (1:2). La mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 1 hora. La mezcla resultante se concentró, el producto se extrajo con diclorometano, las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando diclorometano/metanol (gradiente de 9:1 a 1:1) como eluyente. El rendimiento del compuesto **7aa** fue 3,6 g (96%) obtenido como una sustancia aceitosa marrón.

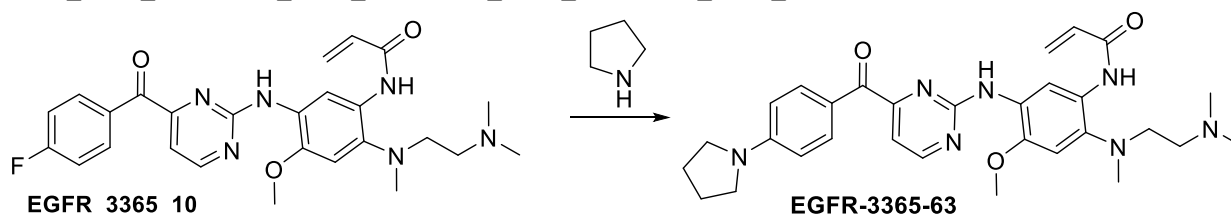
El compuesto **7ab** se preparó de manera similar usando el correspondiente compuesto intermediario **6d**.

Paso 4. preparación del compuesto **EGFR_3365_31a**.

Se agregó gota a gota solución de *N,N*-diisopropiletilamina (0,63 g, 4,84 mmol) en 5 mL de diclorometano bajo atmósfera de nitrógeno a -70°C a una solución de **7aa** (2,0 g, 4,03 mmol) en 40 mL de diclorometano, luego se agregó solución de cloruro de acrililo (0,33 g, 3,63 mmol) en 5 mL de diclorometano. La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 2 horas, luego se agregó agua a la misma temperatura, el producto se extrajo con diclorometano, las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando diclorometano/metanol (gradiente de 99:1 a 90:1) como eluyente. El rendimiento del compuesto **EGFR_3365_31a** fue 0,81 g (37%) obtenido como un polvo blanco.

El compuesto **EGFR_3365_30a** se preparó de manera similar usando el correspondiente compuesto intermediario **7ab**.

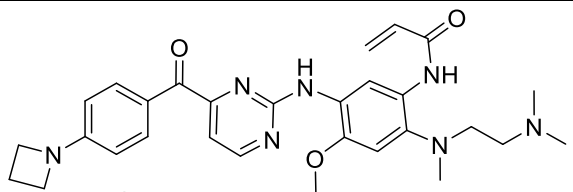
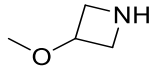
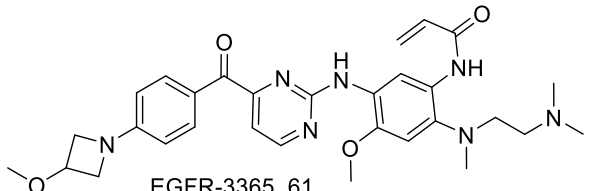
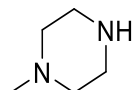
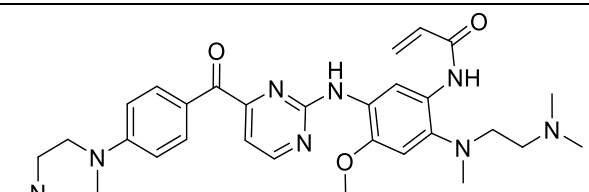
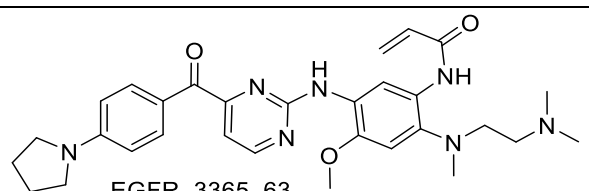
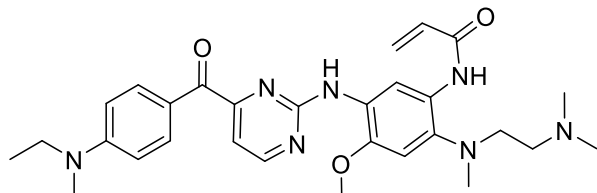
Ejemplo 6. Método de preparación del compuesto **EGFR_3365_63**, **EGFR_3365_58**, **EGFR_3365_61**, **EGFR_3365_62**, **EGFR_3365_62a**, **EGFR_3365_72**, **EGFR_3365_90**, **EGFR_3365_97**, **EGFR_3365_98**, **EGFR_3365_105**, **EGFR_3365_106**, **EGFR_3365_106a**, **EGFR_3365_108**, **EGFR_3365_109**, **EGFR_3365_110**, **EGFR_3365_111**, **EGFR_3365_112**, **EGFR_3365_112a**, **EGFR_3365_113**, **EGFR_3365_114**, **EGFR_3365_115**, **EGFR_3365_121a**.

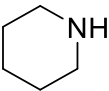
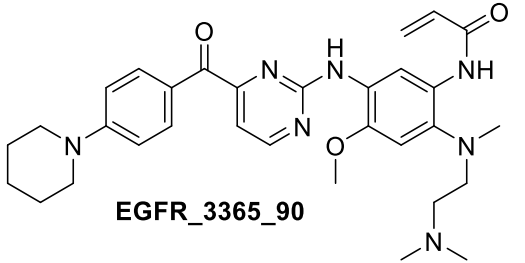
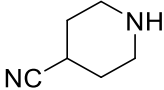
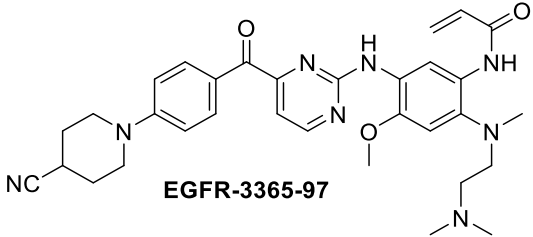
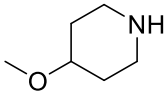
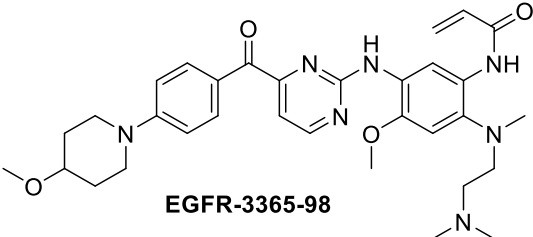
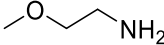
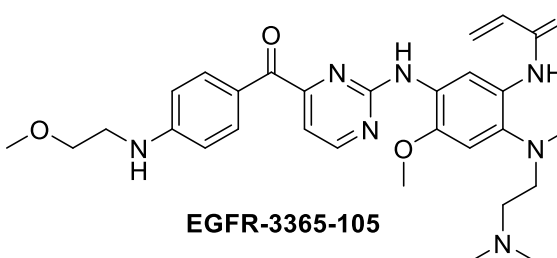
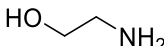
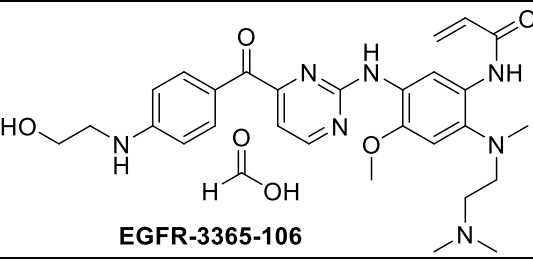
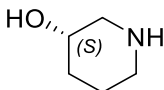
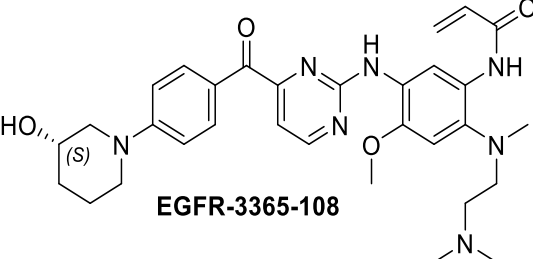
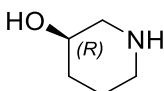
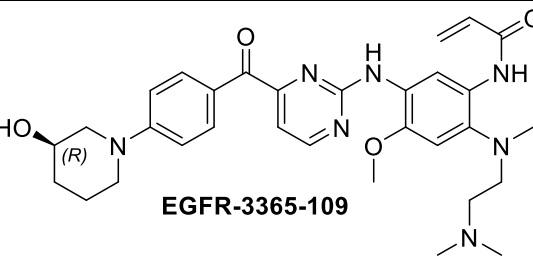


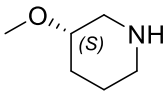
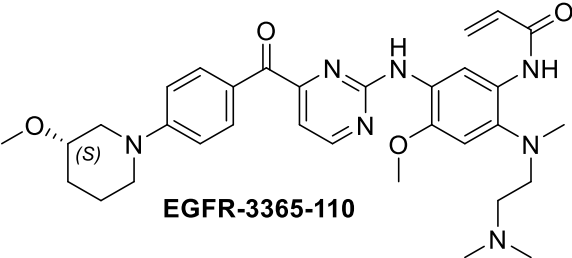
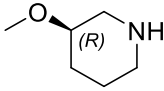
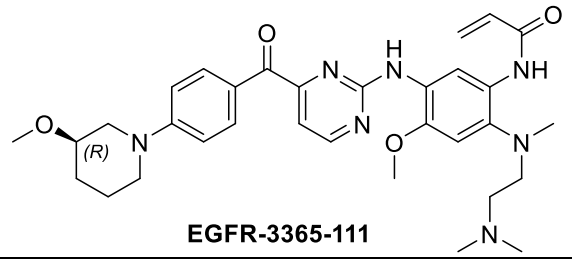
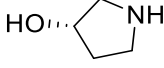
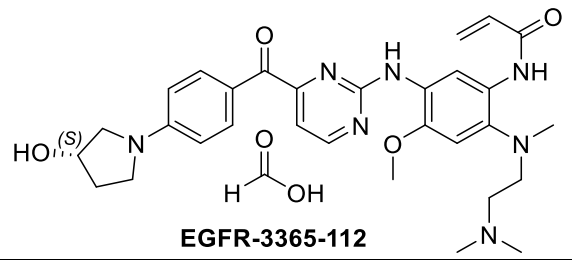
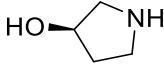
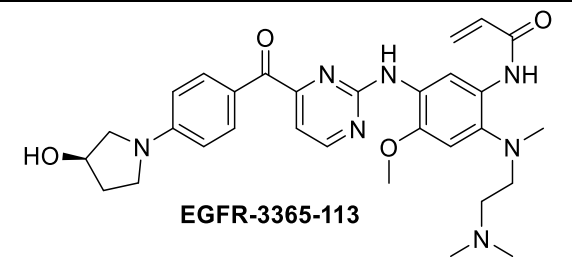
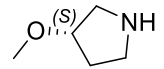
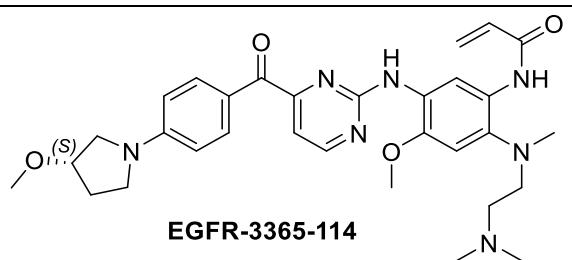
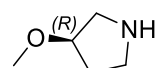
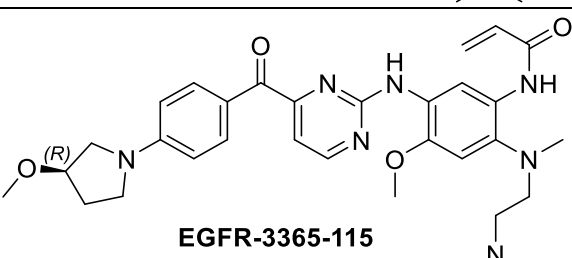
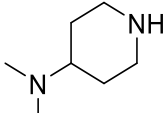
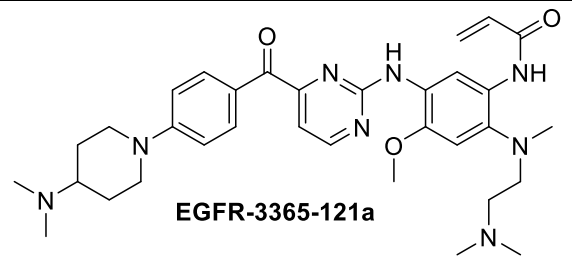
Se agregó K_2CO_3 (36 mg, 0,258 mmol, 1,25 eq) a una solución del compuesto **EGFR_3365_10** (102 mg, 0,21 mmol) y pirrolidina (17 μ l, 0,21 mmol, 1 eq) en DMF (1 mL). La suspensión resultante se agitó a 80°C durante 12 horas. La mezcla de reacción se vertió sobre agua, el producto se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 , se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando acetato de etilo/trietilamina (1/0,075) como eluyente. El rendimiento del compuesto **EGFR_3365_63** fue 72 mg. El producto se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa, como resultado se obtuvieron 48 mg (43%).

Los compuestos **EGFR_3365_58**, **EGFR_3365_61**, **EGFR_3365_62**, **EGFR_3365_62a**, **EGFR_3365_72**, **EGFR_3365_90**, **EGFR_3365_97**, **EGFR_3365_98**, **EGFR_3365_105**, **EGFR_3365_106**, **EGFR_3365_106a**, **EGFR_3365_108**, **EGFR_3365_109**, **EGFR_3365_110**, **EGFR_3365_111**, **EGFR_3365_112**, **EGFR_3365_112a**, **EGFR_3365_113**, **EGFR_3365_114**, **EGFR_3365_115**, **EGFR_3365_121a** se prepararon de manera similar usando los reactivos iniciales correspondientes mostrados en la Tabla 4.

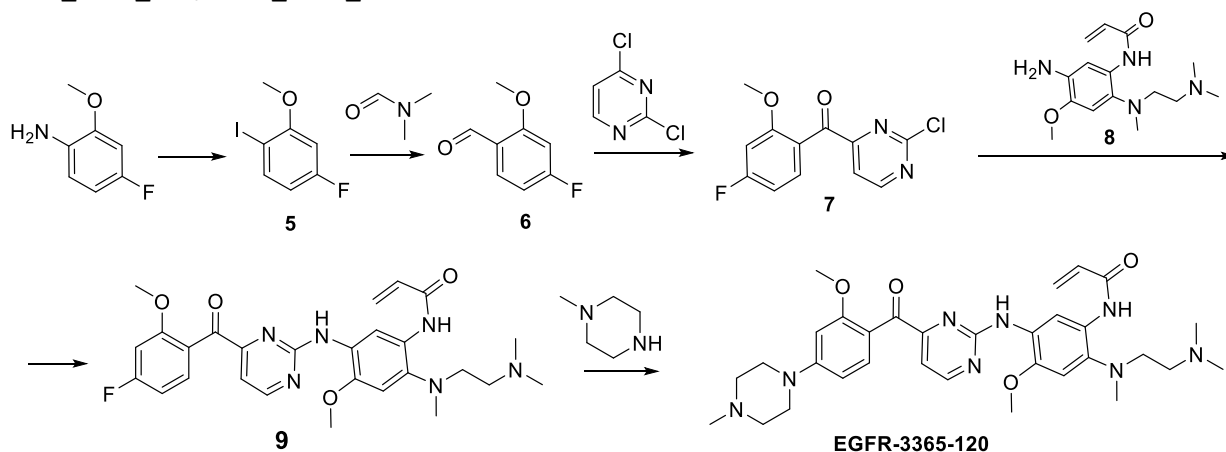
Tabla 4.

Reactivo inicial	Candidato
	 EGFR-3365_58
	 EGFR-3365_61
	 EGFR-3365_62 0.8*HCOOH
	 EGFR_3365_63
	 EGFR_3365_72

	 EGFR_3365_90
	 EGFR-3365-97
	 EGFR-3365-98
	 EGFR-3365-105
	 EGFR-3365-106
	 EGFR-3365-108
	 EGFR-3365-109

	 EGFR-3365-110
	 EGFR-3365-111
	 EGFR-3365-112
	 EGFR-3365-113
	 EGFR-3365-114
	 EGFR-3365-115
	 EGFR-3365-121a

Ejemplo 7. Método de preparación del compuesto EGFR_3365_120, EGFR_3365_122, EGFR_3365_123, EGFR_3365_127.



Paso 1. preparación del compuesto 5.

Se disolvió 4-Fluoro-2-metoxianilina (2,50 g, 17,5 mmol) en 14 mL de HCl concentrado, se enfrió hasta 0°C, luego se agregó solución de NaNO₂ (1,45 g, 21,0 mmol) en 13 mL de agua con agitación. Se agitó durante 40 minutos, la solución resultante se agregó gota a gota a temperatura ambiente a una solución de KI (8,73 g, 52,6 mmol) en 30 mL de agua. La mezcla resultante se agitó a 35-40°C durante 1 hora, el producto luego se extrajo con acetato de etilo (3x70 mL), el extracto se lavó con solución de Na₂S₂O₃, se secó con Na₂SO₄. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando hexano como eluyente. El rendimiento de 2-yodo-5-fluoroanisol **5** fue 3,46 g (78%) obtenido como una masa sólida incolora.

Paso 2. preparación del compuesto 6.

Se disolvió 2-yodo-5-fluoroanisol **5** (3,46 g, 13,0 mmol) en 70 mL de THF, la mezcla de reacción se enfrió hasta -10°C bajo atmósfera de nitrógeno, se agregó solución de cloruro de isopropilmagnesio 2M en THF (8,50 mL, 17,0 mmol), se agitó durante 30 minutos, se agregó DMF (2,89 g, 39,1 mmol), se agitó durante 30 minutos, la mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente, se agregaron 20 mL de solución acuosa saturada de NH₄Cl. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3x70 mL), el extracto se lavó con agua (5x20 mL), se secó con Na₂SO₄. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando acetato de etilo-hexano (1:9) como eluyente. El rendimiento de 2-metoxi-4-fluorobenzaldehído **6** fue 1,9 g (94%).

Paso 3. preparación del compuesto 7.

Se disolvió 2-metoxi-4-fluorobenzaldehído (0,40 g, 2,60 mmol), 2,4-dicloropirimidina (0,59 g, 3,89 mmol), yoduro de 1,3-dimetilimidazolio (0,31 g, 1,30 mmol) en 9 mL de DMF, se pasó nitrógeno a través de la mezcla de reacción durante 2 minutos, se agregó NaH (0,13 g, 2,24 mmol, al 60% suspensión en parafina), la mezcla resultante se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a 75°C durante 4 horas. Se agregó 2,4-Dicloropirimidina (0,3 g, 1,95 mmol), yoduro de 1,3-dimetilimidazolio (0,16 g, 0,65 mmol) e NaH (0,065 g, 1,12 mmol) a la mezcla de reacción y se calentó bajo agitación durante 1 hora, luego se agregó NaH (0,065 g, 1,12 mmol), luego se calentó durante 2 horas más. Se agregaron 20 mL de agua a la mezcla resultante, el producto se extrajo con acetato de etilo (3x50 mL), el extracto se lavó con agua (4x10 mL), se secó con Na₂SO₄. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando acetato de etilo-hexano (1:9) como eluyente. El rendimiento del compuesto **7** fue 0,21 g (30%).

Paso 4. preparación del compuesto 9.

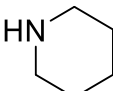
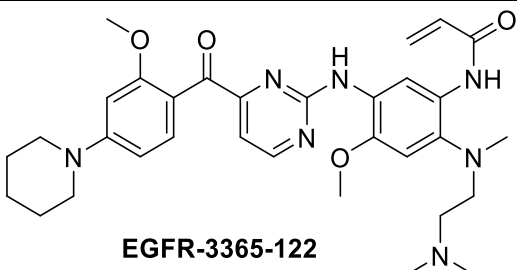
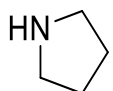
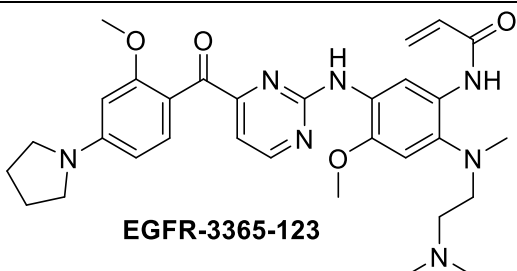
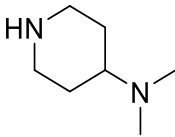
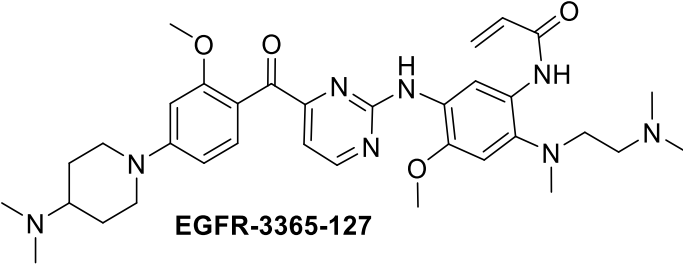
Se disolvió el compuesto **7** (0,12 g, 0,45 mmol), anilina **8** (0,28 g, 0,90 mmol), BINAP (0,057 g, 0,09 mmol), Cs₂CO₃ (0,44 g, 1,35 mmol) y Pd(OAc)₂ (10 mg, 0,05 mmol, 10 mol %) en 3,6 mL de dioxano y se colocó en un recipiente con tapa a rosca. La mezcla de reacción se desgasificó haciendo pasar nitrógeno durante 5 minutos, se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a 90°C durante 4 horas. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando etil trietilamina-acetato de etilo-hexano (2:40:10) como eluyente. El rendimiento del compuesto **9** fue 0,18 g (69%).

Paso 5. preparación del compuesto EGFR_3365_120.

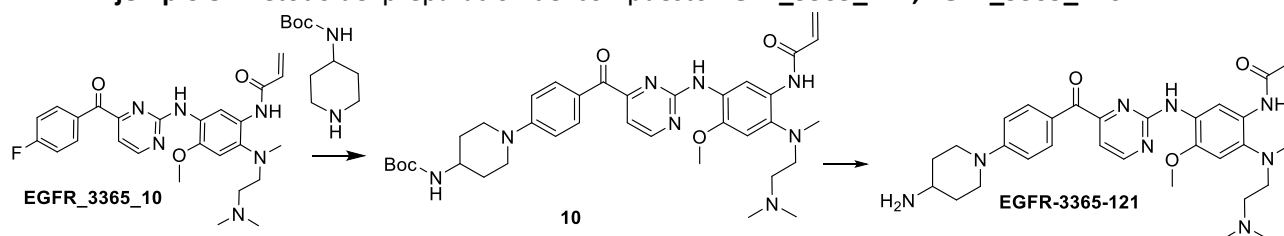
Se colocó el compuesto **9** (0,10g, 0,17 mmol), K₂CO₃ (0,029 g, 0,21 mmol), 1 mL de DMSO y N-metilpiperazina (0,019 g, 0,19 mmol) en un recipiente con tapa a rosca en el orden respectivo. La mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 5 horas. Se agregaron 5 mL de agua a la mezcla resultante, el producto se extrajo con acetato de etilo (3x30 mL), el extracto se lavó con agua (3x5 mL), se secó con Na₂SO₄. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando metanol y metanol-trietilamina (100:1) posteriormente como eluyente. El rendimiento del compuesto **EGFR_3365_120** fue 0,054 g (52%).

Los compuestos **EGFR_3365_122**, **EGFR_3365_123** y **EGFR_3365_127** se prepararon de manera similar usando los reactivos iniciales correspondientes mostrados en la Tabla 5.

Tabla 5.

Reactivo inicial	Candidato
	 EGFR-3365-122
	 EGFR-3365-123
	 EGFR-3365-127

Ejemplo 8. Método de preparación del compuesto **EGFR_3365_121**, **EGFR_3365_126**.



Paso 1. preparación del compuesto **10**.

El compuesto **10** se preparó de manera similar al compuesto **EGFR_3365_63** usando el compuesto ter-butilpiperidin-4-il carbamato en lugar del pirrolidina.

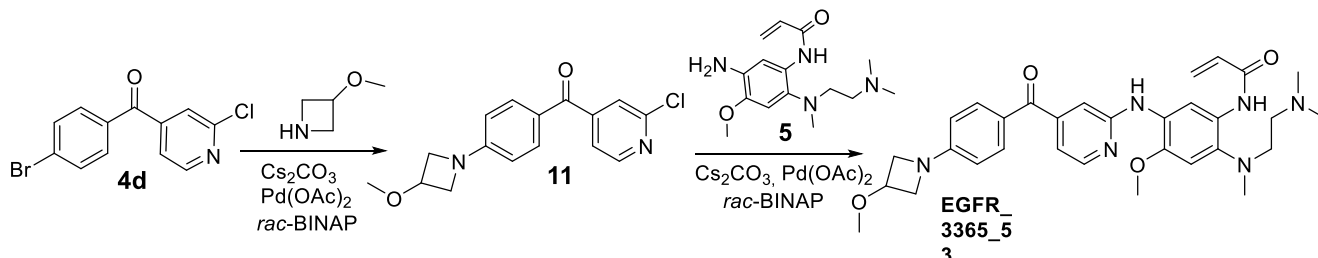
Paso 2. preparación del compuesto **EGFR_3365_121**.

Se agregó ácido trifluoroacético (1,8 mL) a temperatura ambiente a una solución del compuesto **9** (0,051 g, 0,07 mmol) en diclorometano (7 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla resultante se vertió cuidadosamente en solución saturada de Na₂CO₃

(degasificada). El producto se extrajo con acetato de etilo (3x15 mL), las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2x10 mL), solución saturada de NaCl (1x10 mL), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto resultante (0,032 g, 80%) se purificó mediante HPLC preparativa. El producto obtenido se trató con solución saturada de Na₂CO₃ (degasificada) hasta un medio alcalinizante, el producto se extrajo con acetato de etilo (3x15 mL) (degasificado). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl (1x10 mL). El extracto obtenido se secó con Na₂SO₄, se filtró y concentró bajo vacío. Luego de la liofilización, se obtuvo 0,03 g (75%) de una sustancia cristalina amarilla.

El compuesto **EGFR_3365_126** se preparó de manera similar usando el correspondiente compuesto intermediario **9** y ter-butilpiperidin-4-il carbamato.

Ejemplo 9. Método de preparación del compuesto **EGFR_3365_53**.



Paso 1. preparación del compuesto **11**.

Se agregó Pd(OAc)₂ (15 mg, 0,06 mmol, 0,1 eq) bajo vapor de argón a una mezcla de la acetona **4d** (200 mg, 0,65 mmol), clorhidrato de 3-metoxiazetidina (74 mg, 0,58 mmol, 0,9 eq), *rac*-BINAP (82 mg, 0,013 mmol, 0,2 eq), Cs₂CO₃ (646 mg, 1,96 mmol, 3 eq) en 1,4-dioxano seco (14 mL). La mezcla de reacción se agitó a 90°C durante 3 horas. Se agregó 45 mL de agua a la mezcla resultante, el producto se extrajo con acetato de etilo (3x15 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando acetato de etilo/hexano (10/90) como eluyente. El rendimiento del compuesto **7** fue 110 mg (45%) obtenido como un polvo amarillo.

Paso 2. preparación del compuesto **EGFR_3365_53**.

Se agregó Pd(OAc)₂ (7 mg, 0,03 mmol, 0,1 eq) bajo vapor de argón a una mezcla del compuesto **11** (100 mg, 0,29 mmol), compuesto **5** (79 mg, 0,27 mmol, 0,9 eq), *rac*-BINAP (37 mg, 0,059 mmol, 0,2 eq), Cs₂CO₃ (293 mg, 0,89 mmol, 3 eq) en 1,4-dioxano seco (7 mL). La mezcla de reacción se agitó a 90°C durante 4 horas. Se agregó 30 mL de a la mezcla resultante, el producto se extrajo con acetato de etilo (3x10 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna de sílica gel usando acetato de etilo/trietilamina (98/2) como eluyente. El rendimiento del compuesto **EGFR_3365_53** fue 110 mg (45%) obtenido como un polvo amarillo.

Ejemplo 10. Análisis de los compuestos preparados.

La pureza y estructura de los compuestos preparados se confirmó mediante cromatografía líquida-espectrometría de masa (LC-MS) y espectroscopia ¹H NMR (Tabla 6).

Datos del Equipamiento:

Tabla 6. Cromatografía líquida-espectrometría de masa

Nombre	Fabricante, país
Sistema Agilent Triple Quad de cromatografía líquida/espectrometría de masa(LC/MS)	Agilent, EE.UU
Automuestreador Agilent 1200	
Columna Termostatzada Agilent 1200	
Desgasificador Agilent 1200	
Automuestreador con Termostato Agilent 1200	
Detector Agilent 6410 QQQ MS	

Nombre	Fabricante, país
Detector Agilent 1200 UV	
Bomba Agilent 1200	

Tabla 7. Espectrómetro de NMR

Nombre	Fabricante, país	Modelo, características principales
Espectrómetro de NMR	Alemania	AVANCE III, 400 MHz

Tabla 8. Datos analíticos para ejemplos de los compuestos

Código	ESI-MS [M+H] ⁺	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆), δ
EGFR_3365	543.2	¹ H ЯMP (400 MHz, CDCl ₃), δ 9.11 (s, 1H), 8.77 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.74 – 7.72 (m, 1H), 7.62 – 7.59 (m, 4H), 7.4 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.68 (s, 2H), 6.46 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 5.75 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 2.89 – 2.86 (m, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.31 – 2.27 (m, 8H)
EGFR_3365_3	474.3	10.05 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.25 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.84 – 7.78 (m, 2H), 7.71 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.58 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.09 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.88 (dd, J = 5.1, 1.1 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 17.0, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.73 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.69 (s, 4H), 2.28 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 7H)
EGFR_3365_4	474.3	9.57 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.19 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.84 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 6.62 (dd, J = 16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.30 (dd, J = 17.0, 1.8 Hz, 1H), 5.79 (dd, J = 10.2, 1.7 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.33 – 3.20 (m, 4H), 3.05 (s, 7H), 2.80 (d, J = 4.6 Hz, 7H), 2.59 (s, 3H)
EGFR_3365_4a	474.3	-
EGFR_3365_5	559.3	9.57 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.21 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.14 (s, 1H), 7.05 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 6.97 (s, 1H), 6.87 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 6.62 (dd, J = 16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.31 (dd, J = 17.0, 1.8 Hz, 1H), 5.80 (dd, J = 10.2, 1.8 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.79 – 3.71 (m, 4H), 3.40 – 3.33 (m, 4H), 3.32 – 3.21 (m, 4H), 2.80 (d, J = 4.7 Hz, 6H), 2.60 (s, 3H)
EGFR_3365_5a	559.3	-
EGFR_3365_10	493.3	10.03 (s, 1H), 8.69 (d, J = 15.5 Hz, 2H), 8.48 (s, 1H), 8.16 – 8.10 (m, 2H), 7.30 (t, J = 8.9 Hz, 2H), 7.16 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.37 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.20 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 5.74 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.29 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H)
EGFR_3365_11	493.2	9.96 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.68 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.89-7.77 (m, 2H), 7.58-7.45 (m, 2H), 7.19 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.44-6.32 (m, 1H), 6.24-6.14 (m, 1H), 5.78-5.69 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.95-2.85 (m, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.44-2.34 (m, 2H), 2.30 (s, 6H)
EGFR_3365_12	555.1	9.93 (s, 1H), 8.70 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.69 – 7.64 (m, 1H), 7.58 – 7.54 (m, 1H), 7.48 – 7.42 (m, 2H), 7.26 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.43 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.24 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.76 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 2.89 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.66 (s, 3H), 2.41 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.28 (s, 6H)

Código	ESI-MS [M+H] ⁺	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆), δ
EGFR_3365_13	555.1	10.01 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.68 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.01 – 7.94 (m, 2H), 7.72 – 7.65 (m, 2H), 7.18 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.39 (dd, <i>J</i> = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, <i>J</i> = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.75 (dd, <i>J</i> = 10.0, 1.9 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.90 (t, <i>J</i> = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.37 (s, 2H), 2.25 (s, 6H)
EGFR_3365_14	500.2	9.43 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.74 (d, <i>J</i> = 4.8 Hz, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.21 – 8.11 (m, 3H), 7.95 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 2H), 7.28 (d, <i>J</i> = 4.8 Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.59 (dd, <i>J</i> = 17.0, 10.3 Hz, 1H), 6.28 (d, <i>J</i> = 15.9 Hz, 1H), 5.80 (d, <i>J</i> = 10.9 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.40 – 3.19 (m, 4H), 2.80 (d, <i>J</i> = 4.6 Hz, 6H), 2.59 (s, 3H)
EGFR_3365_14a	500.2	-
EGFR_3365_15	476.3	10.02 (s, 1H), 9.15 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 1H), 8.78-8.55 (m, 2H), 8.70 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.40 (dt, <i>J</i> = 8.0, 1.9 Hz, 1H), 7.48 (dd, <i>J</i> = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 7.24 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.4-6.25 (m, 1H), 6.18 (dd, <i>J</i> = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.73 (dd, <i>J</i> = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.86 (t, <i>J</i> = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.29 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)
EGFR_3365_16	581.3	10.02 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.62 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.05 – 8.01 (m, 1H), 7.49 – 7.31 (m, 1H), 7.10 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 1H), 7.07 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.37 (dd, <i>J</i> = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.21 (dd, <i>J</i> = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.72 (dd, <i>J</i> = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 5.20 (s, 1H), 3.78 (s, 1H), 2.85 (t, <i>J</i> = 5.7 Hz, 1H), 2.70 (s, 1H), 2.29 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 1H), 2.17 (s, 1H)
EGFR_3365_17	567.3	10.02 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.65 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.10 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H), 7.53-7.43 (m, 2H), 7.31-7.22 (m, 1H), 7.16-7.10 (m, 3H), 7.05-6.96 (m, 3H), 6.41-6.28 (m, 1H), 6.23-6.12 (m, 1H), 5.71-5.65 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.91-2.80 (m, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.38-2.26 (m, 2H), 2.23 (s, 6H)
EGFR_3365_26	490.3	10.00 (s, 1H), 8.98 (d, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.69 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 8.61 (d, <i>J</i> = 1.7 Hz, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.20–8.16 (m, 1H), 7.22 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.35 (dd, <i>J</i> = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.15 (dd, <i>J</i> = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.72 (dd, <i>J</i> = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.86 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.37–2.28 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.21 (s, 6H)
EGFR_3365_28	505.4	10.02 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.62 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.05 – 8.02 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 2H), 8.05 – 8.01 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 2H), 7.07 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 7.01 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 2H), 7.00 (s, 1H), 6.37 (dd, <i>J</i> = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.20 (dd, <i>J</i> = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.73 (dd, <i>J</i> = 10.1, 2.0 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 2.85 (t, <i>J</i> = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.29 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H)
EGFR_3365_29	519.3	10.02 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.62 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.01 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H), 7.06 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 7.01 – 6.96 (m, 3H), 6.37 (dd, <i>J</i> = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.20 (dd, <i>J</i> = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.73 (dd, <i>J</i> = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 4.11 (q, <i>J</i> = 7.0 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 2.85 (t, <i>J</i> = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.29 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 1.35 (t, <i>J</i> = 7.0 Hz, 3H)
EGFR_3365_30	533.3	10.02 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.62 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.02 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H), 7.07 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 7.01 – 6.98 (m, 3H), 6.37 (dd, <i>J</i> = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.20 (dd, <i>J</i> = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.76 – 5.69 (m, 1H), 4.01 (t, <i>J</i> = 6.5 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 2.86

Código	ESI-MS [M+H] ⁺	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆), δ
		(t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.80 – 1.69 (m, 2H), 0.98 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
EGFR_3365_30a	535.3	¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.10 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.39 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.39 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.04 – 6.93 (m, 2H), 6.83 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.42 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.27 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 6.00 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 5.76 (dd, J = 10.0, 1.9 Hz, 1H), 5.48 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 3.86 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.28 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.74 – 1.63 (m, 2H), 0.95 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
EGFR_3365_31	533.3	9.90 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.62 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.00 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.07 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.01 – 6.97 (m, 3H), 6.42 (dd, J = 16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 1.8 Hz, 1H), 5.79 – 5.71 (m, 1H), 4.74 (dt, J = 12.0, 6.0 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 2.97 (s, 2H), 2.67 (s, 4H), 2.54 (s, 1H), 2.35 (s, 6H)
EGFR_3365_31a	535.3	¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.08 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.38 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.37 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.03 – 6.93 (m, 2H), 6.81 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.42 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.26 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.97 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 5.76 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 5.46 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 4.58 – 4.48 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 2.87 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.29 (s, 2H), 2.21 (s, 6H), 1.23 (d, J = 6.0 Hz, 6H)
EGFR_3365_32	505.4	10.00 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.64 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.60 – 7.54 (m, 1H), 7.49 (dd, J = 2.5, 1.5 Hz, 1H), 7.41 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.23 (ddd, J = 8.2, 2.7, 0.8 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.37 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.19 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 3.77 (d, J = 5.1 Hz, 7H), 2.86 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.31 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)
EGFR_3365_33	505.2	9.98 (s, 1H), 8.61 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.38 (s, 2H), 8.20 (s, 1H), 7.52 (td, J = 9.1, 1.5 Hz, 2H), 7.10 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.07 – 7.00 (m, 2H), 6.91 (s, 1H), 6.40 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.78 – 5.69 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.62 (s, 4H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.66 (s, 3H), 2.34 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.23 (s, 6H)
EGFR_3365_34	520.2	9.92 (s, 1H), 8.77-8.71 (m, 2H), 8.67 (s, 1H), 8.52-8.40 (m, 3H), 7.75 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.38-6.28 (m, 1H), 6.15-6.06 (m, 1H), 5.73-5.67 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.34 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.22 (s, 6H)
EGFR_3365_36	520.2	9.95 (s, 1H), 8.70 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 8.05 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.67 (dd, J = 7.5, 1.1 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.37 (m, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.76 (dd, J = 10.1, 2.0 Hz, 1H), 3.62 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.34 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.23 (s, 6H)

EGFR_3365_50	531.3	δ 10.06 (s, 1H), 8.79 – 8.77 (m, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.24 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.09 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.05 – 7.03 (m, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.84 (dd, J = 5.1, 1.2 Hz, 1H), 6.40 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 4.05 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.87 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.32 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.22 (s, 6H), 1.83 – 1.70 (m, 2H), 1.00 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
EGFR_3365_51	503.3	δ 10.06 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.24 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.04 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.84 (dd, J = 5.1, 1.2 Hz, 1H), 6.39 (dd, J = 17.0, 10.0 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)
EGFR_3365_52	517.3	δ 10.05 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.23 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.09 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.04 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.84 (dd, J = 5.1, 1.2 Hz, 1H), 6.41 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 4.15 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.88 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.36 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.24 (s, 6H), 1.37 (t, J = 7.0 Hz, 3H)
EGFR_3365_53	558.7	δ 10.06 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.20 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 6.78 (dd, J = 5.1, 1.1 Hz, 1H), 6.48 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 4.37 (dd, J = 8.0, 4.2 Hz, 1H), 4.24 – 4.13 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.80– 3.76 (m, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.29 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)
EGFR_3365_54	544.3	δ 10.07 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.19 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 6.98 – 6.97 (m, 2H), 6.78 (dd, J = 5.1, 1.2 Hz, 1H), 6.74 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.0, 1.9 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.44 (q, J = 6.9 Hz, 4H), 2.85 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.29 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.13 (t, J = 7.0 Hz, 6H)
EGFR_3365_55	571.3	δ 10.05 (s, 1H), 8.82-8.70 (m, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.21 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.08-6.94 (m, 4H), 6.80 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 6.48-6.33 (m, 1H), 6.23 (dd, J = 17.0, 1.8 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.1, 1.7 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.44-3.32 (m, 4H), 2.97-2.78 (m, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.47-2.39 (m, 4H), 2.39-2.29 (m, 2H), 2.28-2.14 (m, 9H)
EGFR_3365_56	542.3	δ = 10.04 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.19 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.71 – 7.64 (m, 2H), 6.99 – 6.94 (m, 2H), 6.76 (dd, J = 5.1, 1.4 Hz, 1H), 6.65 – 6.57 (m, 2H), 6.40 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 2.1 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 10.1, 2.1 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.34 (t, J = 6.5 Hz, 4H), 2.87 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.33 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.22 (s, 6H), 1.98 (t, J = 6.5 Hz, 4H)
EGFR_3365_57	487.6	δ 10.05 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.25 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.69 – 7.75 (m, 2H), 7.36 – 7.43 (m, 2H), 7.07 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.86 (dd, J = 5.1, 1.1 Hz, 1H), 6.34 – 6.43 (m, 1H), 6.20 – 6.27 (m, 1H), 5.74 (dd, J = 10.2, 1.8 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)

EGFR_3365_58	529.6	δ 10.01 (s, 1H), 8.58 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.55 (d, J = 12.7 Hz, 2H), 7.87 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.02 – 6.95 (m, 2H), 6.46 – 6.38 (m, 1H), 6.36 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.23 (dd, J = 17.0, 1.7 Hz, 1H), 5.75 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.97 (t, J = 7.4 Hz, 4H), 3.79 (s, 3H), 2.88 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.43-2.36 (m, 2H), 2.34 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.22 (s, 6H)
EGFR_3365_61	559.7	δ 10.02 (s, 1H), 8.58 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 8.53 (s, 1H), 7.88 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.99 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 6.48 – 6.35 (m, 3H), 6.30 – 6.17 (m, 1H), 5.75 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 4.40-4.32 (m, 1H), 4.22 – 4.11 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.78-3.75 (m, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.87 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.33 (d, J = 5.8 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)
EGFR_3365_62	609.5	δ 9.85 (s, 1H), 8.60 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.90 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.02 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 4.7 Hz, 2H), 6.95 (s, 1H), 6.70 – 6.57 (m, 1H), 6.30 – 6.19 (m, 1H), 5.74 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.43 – 3.35 (m, 6H), 3.08 (s, 2H), 2.78 (s, 2H), 2.65 (s, 3H), 2.48-2.46 (m, 8H), 2.26 (s, 3H)
EGFR_3365_62a	609.5	-
EGFR_3365_63	543.3	δ 10.01 (s, 1H), 8.58 – 8.55 (m, 3H), 7.88 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.00 – 6.97 (m, 2H), 6.56 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.39 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.35 – 3.32 (m, 4H), 2.86 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.31 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 2.00 – 1.97 (m, 4H)
EGFR_3365_64	488.3	δ 10.04 (s, 1H), 9.23 (s, 1H), 8.37 – 8.22 (m, 2H), 7.79 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.01 (s, 1H), 6.67 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.8 Hz, 1H), 5.81 – 5.68 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.31 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H)
EGFR_3365_66	546.3	δ 10.06 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.63 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.03 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.08 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.03 – 6.98 (m, 3H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 4.06 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.29 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.77 – 1.68 (m, 2H), 1.50 – 1.39 (m, 2H), 0.95 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
EGFR_3365_67	572.7	δ 10.06 (s, 1H), 8.63 (m, 2H), 8.52 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.01 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.07 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.04 – 6.94 (m, 3H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 1.8 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.1, 1.7 Hz, 1H), 4.48 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.99 – 1.88 (m, 2H), 1.77 – 1.65 (m, 2H), 1.61 – 1.21 (m, 6H)
EGFR_3365_68	562.7	δ 10.00 (s, 1H), 8.58 – 8.49 (m, 2H), 8.32 (s, 1H), 7.64 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.87 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.64 (dd, J = 8.7, 2.2 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.36 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 17.0, 2.2 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 9.9, 2.2 Hz, 1H), 4.13 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 3.89 (q, J = 6.9 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.36 (t, J = 6.9 Hz, 3H), 0.87 (t, J = 6.9 Hz, 3H)
EGFR_3365_69	534.6	δ 10.00 (s, 1H), 8.56 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.58 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.98 – 6.86 (m, 2H), 6.66 – 6.60 (m, 2H), 6.37 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 2.1 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 10.0, 2.2 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.61 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.31 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H)

EGFR_3365_70	590.3	δ 10.00 (s, 1H), 8.56 – 8.48 (m, 2H), 8.33 (s, 1H), 7.62 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.89 (dd, J = 4.9, 2.2 Hz, 1H), 6.64 (dd, J = 8.7, 2.1 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.77 – 5.69 (m, 1H), 4.02 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.81 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.31 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H), 1.82 – 1.70 (m, 2H), 1.32 – 1.24 (m, 2H), 1.00 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 0.66 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
EGFR_3365_71	590.7	δ 10.01 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.52 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.64 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.84 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.62 (dd, J = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 6.52 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H), 4.77 (m, 2H), 4.59 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.31 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 0.95 (d, J = 6.0 Hz, 3H)
EGFR_3365_72	545.7	δ 10.02 (s, 1H), 8.61 – 8.53 (m, 3H), 7.86 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.01 – 6.94 (m, 2H), 6.68 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 6.37 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.74 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.43 (q, J = 7.0 Hz, 4H), 2.90 – 2.87 (m, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.35–2.30 (m, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.12 (t, J = 7.0 Hz, 6H)
EGFR_3365_73	517.6	δ 10.02 (s, 1H), 8.56 (dd, J = 10.7, 5.0 Hz, 3H), 7.89 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.02 – 6.95 (m, 2H), 6.71 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 6.39 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.72 (s, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.04 (s, 6H), 2.87 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.31 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)
EGFR_3365_77	545.3	δ 10.04 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.24 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.10 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.03 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.84 (dd, J = 5.1, 1.3 Hz, 1H), 6.40 (dd, J = 16.8, 10.3 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.0, 1.9 Hz, 1H), 3.87 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.88 (s, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.42 – 2.12 (m, 8H), 2.06 (dt, J = 13.3, 6.6 Hz, 1H), 1.00 (d, J = 6.7 Hz, 6H)
EGFR_3365_78	546.3	δ 10.04 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.31 – 8.30 (m, 2H), 7.85 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.11 – 6.95 (m, 3H), 6.67 (s, 1H), 6.39 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.27 – 6.14 (m, 1H), 5.74 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.84 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 2.87 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.35 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H), 2.08 – 2.01 (m, 1H), 0.99 (d, J = 6.7 Hz, 6H)
EGFR_3365_85	553.3	δ 10.05 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.26 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.82 – 7.76 (m, 4H), 7.10 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.89 (dd, J = 5.1, 1.3 Hz, 1H), 6.39 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)
EGFR_3365_86	540.6	δ 10.00 (s, 1H), 8.74 – 8.67 (m, 2H), 8.49 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.17 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.87 (s, 1H), 7.79 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.23 – 7.16 (m, 2H), 7.03 (s, 1H), 6.31 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.17 (dd, J = 17.0, 1.7 Hz, 1H), 5.67 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 2.84 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.25 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.13 (s, 6H)

EGFR_3365_87	533.6	δ 10.05 (s, 1H), 8.80 (s, 2H), 8.34 (s, 1H), 8.18 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.82 – 6.77 (m, 1H), 6.72 – 6.63 (m, 2H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.78 – 5.70 (m, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.69 (s, 4H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H)
EGFR_3365_88	503.6	δ 10.05 (s, 1H), 8.76 (s, 2H), 8.40 (s, 1H), 8.20 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.63 – 7.51 (m, 1H), 7.37 (dd, J = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.14 – 7.04 (m, 2H), 6.95 (s, 1H), 6.84 (dd, J = 5.2, 1.1 Hz, 1H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.70 (s, 4H), 2.85 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.29 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)
EGFR_3365_90	557.7	δ 10.04 (s, 1H), 8.57 (dd, J = 11.2, 9.1 Hz, 3H), 7.88 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.05 – 6.97 (m, 2H), 6.91 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.79 – 5.67 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.46 – 3.37 (m, 4H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.30 (, J = 5.6 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.65-1.55 (m, J = 3.9 Hz, 6H)
EGFR_3365_91	557.7	δ 9.96 (s, 1H), 8.67 – 8.63 (m, 2H), 8.48 (s, 1H), 8.08 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.80 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.48 (dd, J = 16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.20 (dd, J = 17.0, 1.8 Hz, 1H), 5.75 – 5.69 (m, 1H), 3.88 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 2.94 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.56 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 2.46 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.28 (s, 6H), 2.15 – 2.04 (m, 2H)
EGFR_3365_92	548.6	δ 10.04 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.63 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.03 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.07 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.00 (s, 1H), 6.41-6.34 (m, 1H), 6.23-6.16 (m, 1H), 5.75-5.71 (m, 1H), 4.21 – 4.16 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.71 – 3.66 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H)
EGFR_3365_93	547.7	δ 10.05 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.23 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.84 – 7.74 (m, 2H), 7.14 – 7.07 (m, 2H), 7.03 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.83 (dd, J = 5.1, 1.4 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 2.1 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 10.0, 2.1 Hz, 1H), 4.24 – 4.17 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.72 – 3.66 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.28 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H)
EGFR_3365_94	527.6	9.97 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.65 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.70 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.65 – 7.57 (m, 2H), 7.45 – 7.37 (m, 1H), 7.17 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.13 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.19 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 5.72 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.08 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 2.89 (s, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.38 (s, 2H), 2.23 (s, 6H)
EGFR_3365_97	582.7	10.04 (s, 1H), 8.60 – 8.59 (m, 2H), 8.55 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.05 – 6.99 (m, 2H), 6.96 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.39 (dd, J = 16.8, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 5.75 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.66 – 3.61 (m, 2H), 3.33 – 3.27 (m, 2H), 3.19 – 3.11 (m, 1H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 2.00 – 1.94 (m, 2H), 1.80 – 1.72 (m, 2H)

EGFR_3365_98	587.7	10.04 (s, 1H), 8.62 – 8.51 (m, 3H), 7.89 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.03 – 6.97 (m, 2H), 6.94 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 6.39 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.27 – 6.18 (m, 1H), 5.75 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.75 – 3.65 (m, 2H), 3.48 – 3.40 (m, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.22 – 3.12 (m, 2H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.31 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.92 – 1.88 (m, 2H), 1.52 – 1.41 (m, 2H)
EGFR_3365_101	562.7	10.03 (s, 1H), 8.60 – 8.52 (m, 2H), 8.33 (s, 1H), 7.57 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.92 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.65 – 6.62 (m, 2H), 6.36 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.26 – 6.18 (m, 1H), 5.74 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.03 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.61 (s, 3H), 2.84 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.28 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.82 – 1.71 (m, 2H), 1.01 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
EGFR_3365_102	562.7	9.99 (s, 1H), 8.56 – 8.48 (m, 2H), 8.32 (s, 1H), 7.63 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.90 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.65 (dd, J = 8.7, 2.2 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.36 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.77 – 5.69 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.82 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.29 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.31 – 1.26 (m, 2H), 0.66 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
EGFR_3365_103	562.7	10.03 (s, 1H), 8.57 – 8.55 (m, 2H), 8.35 (s, 1H), 7.58 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.91 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.64 (dd, J = 8.7, 2.2 Hz, 1H), 6.59 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 2.1 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H), 4.80 – 4.74 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.61 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.30 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.31 (d, J = 6.0 Hz, 6H)
EGFR_3365_104	562.7	10.01 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.53 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.66 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.85 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.64 (dd, J = 8.7, 2.2 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.36 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 10.0, 1.9 Hz, 1H), 4.63 – 4.57 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 2.85 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.29 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 0.96 (d, J = 6.0 Hz, 6H)
EGFR_3365_105	547.7	10.03 (s, 1H), 8.59 – 8.50 (m, 3H), 7.79 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.95 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.88 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 6.62 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.77 – 5.70 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.50 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 3.32 (s, 3H), 3.29 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.31 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)
EGFR_3365_106	579.7	10.03 (s, 1H), 8.56 – 8.54 (m, 3H), 7.78 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.95 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.83 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 6.61 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.76 – 5.72 (m, 1H), 4.77 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.60 – 3.53 (m, 2H), 3.22 – 3.17 (m, 2H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H)
EGFR_3365_106a	579.7	-

EGFR_3365_108	573.7	10.03 (s, 1H), 8.59 – 8.58 (m, 2H), 8.54 (s, 1H), 7.87 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.02 – 6.97 (m, 2H), 6.90 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 6.39 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.78 – 5.69 (m, 1H), 4.86 (s, 1H), 3.79 (s, 4H), 3.72 – 3.68 (m, 1H), 3.56 – 3.51 (m, 1H), 3.01 – 2.96 (m, 1H), 2.88 – 2.83 (m, 3H), 2.70 (s, 3H), 2.32 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.92 – 1.89 (m, 1H), 1.80 – 1.71 (m, 1H), 1.51 – 1.35 (m, 2H)
EGFR_3365_109	573.7	10.03 (s, 1H), 8.59 – 8.53 (m, 3H), 7.87 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.04 – 6.95 (m, 2H), 6.90 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 6.39 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.76 – 5.73 (m, 1H), 4.93 (s, 1H), 3.79 (s, 4H), 3.70 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 3.57 – 3.51 (m, 1H), 3.03 – 2.94 (m, 1H), 2.88 – 2.83 (m, 3H), 2.70 (s, 3H), 2.33 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H), 1.92 – 1.88 (m, 1H), 1.78 – 1.73 (m, 1H), 1.50 – 1.37 (m, 2H)
EGFR_3365_110	587.7	10.04 (s, 1H), 8.64 – 8.48 (m, 3H), 7.87 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.00 – 6.99 (m, 2H), 6.93 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.39 (dd, J = 16.8, 10.0 Hz, 1H), 6.22 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 5.74 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.76 – 3.75 (m, 1H), 3.61 – 3.55 (m, 1H), 3.29 (s, 3H+1H), 3.22 – 3.08 (m, 2H), 2.86 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.31 (s, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.99 – 1.96 (m, 1H), 1.78 – 1.71 (m, 1H), 1.55 – 1.43 (m, 2H)
EGFR_3365_111	587.7	10.03 (s, 1H), 8.59 – 8.58 (m, 2H), 8.54 (s, 1H), 7.87 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.00 – 6.99 (m, 2H), 6.93 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 6.39 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.74 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.76 – 3.75 (m, 1H), 3.61 – 3.56 (m, 1H), 3.29 (s, 3H), 3.21 – 3.09 (m, 3H), 2.87 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.33 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H), 2.00 – 1.94 (m, 1H), 1.78 – 1.71 (m, 1H), 1.56 – 1.42 (m, 2H)
EGFR_3365_112	605.7	9.99 (s, 1H), 8.58 – 8.53 (m, 3H), 8.20 (s, 1H), 7.89 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.02 – 6.95 (m, 2H), 6.55 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.43 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 4.47 – 4.40 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.50 – 3.39 (m, 4H), 3.20 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 2.91 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.40 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.25 (s, 6H), 2.10 – 2.01 (m, 1H), 1.99 – 1.88 (m, 1H)
EGFR_3365_112a	605.7	-
EGFR_3365_113	559.7	9.97 (s, 1H), 8.58 – 8.51 (m, 3H), 7.88 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.07 – 6.91 (m, 2H), 6.55 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.50 – 6.38 (m, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.2, 1.8 Hz, 1H), 5.05 (s, 1H), 4.43 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.52 – 3.38 (m, 3H), 3.21 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 2.93 (s, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.43 (s, 2H), 2.28 (s, 6H), 2.10 – 2.01 (m, 1H), 1.98 – 1.89 (m, 1H)
EGFR_3365_114	573.7	9.92 (s, 1H), 8.58 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.89 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.04 – 6.93 (m, 2H), 6.57 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.51 (s, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 1.7 Hz, 1H), 5.74 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 4.12 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.52 – 3.32 (m, 6H), 3.28 (s, 3H), 2.97 (s, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.33 (s, 6H), 2.14 – 2.05 (m, 2H)

EGFR_3365_115	573.7	9.96 (s, 1H), 8.58 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.89 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.99 – 6.98 (m, 2H), 6.57 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.44 (s, 1H), 6.23 (dd, J = 16.9, 1.7 Hz, 1H), 5.74 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 4.12 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.52 – 3.32 (m, 6H), 3.28 (s, 3H), 2.93 (s, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.27 (s, 6H), 2.15 – 2.04 (m, 2H)
EGFR_3365_116	530.6	10.03 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.63 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.04 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.14 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.08 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 3.97 – 3.93 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.86 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 0.87 – 0.82 (m, 2H), 0.71 – 0.67 (m, 2H)
EGFR_3365_120	602.7	10.03 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.51 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.53 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.81 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.61 (dd, J = 8.9, 2.1 Hz, 1H), 6.46 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.0, 1.9 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 3.41 – 3.34 (m, 4H), 2.85 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.47 – 2.40 (m, 4H), 2.29 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.19 (s, 6H)
EGFR_3365_121	572.7	10.05 (s, 1H), 8.59 – 8.54 (m, 3H), 7.88 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.03 – 6.97 (m, 2H), 6.92 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.74 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 3.88 (d, J = 13.0 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 2.99 – 2.94 (m, J = 11.1 Hz, 2H), 2.87 – 2.79 (m, 3H), 2.71 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.78 – 1.75 (m, 2H), 1.28 – 1.18 (m, 2H)
EGFR_3365_121a	600.8	10.03 (s, 1H), 8.62 – 8.56 (m, 2H), 8.53 (s, 1H), 7.89 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.00 – 6.99 (m, 2H), 6.93 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 6.39 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.75 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 3.97 (d, J = 12.9 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 2.93 – 2.85 (m, 4H), 2.70 (s, 3H), 2.37 – 2.28 (m, 3H), 2.19 (s, 6H), 2.20 (s, 6H), 1.82 (d, J = 11.4 Hz, 2H), 1.44 – 1.34 (m, 2H)
EGFR_3365_122	587.7	10.04 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.51 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.53 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.80 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.59 (dd, J = 9.0, 2.1 Hz, 1H), 6.45 – 6.31 (m, 2H), 6.22 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.78 – 5.69 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.58 (s, 3H), 3.43 – 3.41 (m, 4H), 2.85 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.29 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.61 (s, 6H)
EGFR_3365_123	573.7	10.03 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.49 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.55 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.76 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.26 – 6.19 (m, 2H), 6.04 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 5.73 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.58 (s, 3H), 3.38 – 3.34 (m, 4H), 2.85 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.28 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.00 – 1.97 (m, 4H)
EGFR_3365_124	564.6	10.02 (s, 1H), 8.59 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.02 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.38 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.27 (s, 2H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 5.78 – 5.70 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.63 (s, 6H), 2.85 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.30 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)

EGFR_3365_126	602.74	¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.02 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.52 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 8.31 (s, 2H), 8.25 (s, 1H), 7.54 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.81 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 6.63 (dd, <i>J</i> = 9.0, 2.1 Hz, 1H), 6.50 – 6.39 (m, 2H), 6.22 (dd, <i>J</i> = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.74 (dd, <i>J</i> = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 4.03 (d, <i>J</i> = 13.4 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.60 (s, 3H), 3.30 – 3.23 (m, 1H), 2.98 (t, <i>J</i> = 12.2 Hz, 2H), 2.91 (t, <i>J</i> = 5.7 Hz, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.41 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 2.26 (s, 6H), 1.96 (d, <i>J</i> = 10.7 Hz, 2H), 1.57 – 1.49 (m, 2H)
EGFR_3365_127	630.79	¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.03 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.51 (d, <i>J</i> = 4.8 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.53 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.80 (d, <i>J</i> = 4.9 Hz, 1H), 6.61 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 1H), 6.47 – 6.32 (m, 2H), 6.22 (d, <i>J</i> = 17.1 Hz, 1H), 5.74 (d, <i>J</i> = 10.4 Hz, 1H), 3.99 (d, <i>J</i> = 12.6 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 2.96 – 2.82 (m, 4H), 2.69 (s, 3H), 2.42 – 2.28 (m, 3H), 2.21 (s, 12H), 1.84 (d, <i>J</i> = 11.9 Hz, 2H), 1.50 – 1.35 (m, 2H)

Ejemplo 11. Determinación de la estabilidad química en líquidos biológicos simulados.

1) Determinación de la estabilidad química en líquido intestinal simulado, líquido gástrico simulado y plasma sanguíneo humano.

Se usó concentrado de SGF sin enzimas, pH=1,4 (Sigma Ireland, cat#01651) como líquido gástrico simulado. La solución candidata inicial (10 mM en DMSO) se diluyó con una solución de trabajo de SGF hasta una concentración de 10 µM (solución de prueba). La solución de prueba se incubó en un termostato de bloque seco durante 2 horas a 37°C. Se usó concentrado de SIF sin enzimas, pH=6,5 (Sigma Ireland, cat#55331) como líquido intestinal simulado. La solución candidata inicial (10 mM en DMSO) se diluyó con una solución de trabajo como SIF hasta una concentración de 10 µM (solución de prueba). La solución de prueba se incubó en un termostato de bloque seco durante 2 horas a 37°C. Se usó HPLC con sistema de cromatografía líquida Agilent 1200 (Agilent, EE.UU) para determinar las áreas de los picos de los compuestos en las muestras de prueba, dichas áreas de pico correspondientes al momento de prueba inicial (antes de la incubación) y al momento de prueba final (luego de la incubación en un termostato de bloque seco durante 2 horas a 37°C). Utilizamos gradiente de elución (velocidad de flujo de 1 mL/min). Se determinó la cantidad de sustancia % en una muestra luego de termostatizarla.

Se calculó la estabilidad de los compuestos. Los compuestos descritos aquí mostraron valores de estabilidad química superiores al 80% en líquidos biológicos simulados (véase la Tabla 9), por ej., son químicamente estables en el ambiente ácido del líquido gástrico simulado y en el ambiente ácido débil del líquido intestinal simulado.

Tabla 9. Resultados de la determinación de estabilidad química en líquidos biológicos simulados.

Compuesto	Estabilidad en SGF, %	Estabilidad en SIF, %
EGFR_3365	100,0	100,0
EGFR_3365_3	100,0	100,0
EGFR_3365_11	100,0	100,0
EGFR_3365_12	100,0	100,0
EGFR_3365_13	98,9	100,0
EGFR_3365_16	100,0	100,0
EGFR_3365_17	100,0	98,8
EGFR_3365_28	100,0	100,0

EGFR_3365_29	98,1	100,0
EGFR_3365_31	100,0	97,2
EGFR_3365_32	98,0	99,7
EGFR_3365_33	99,5	96,8
EGFR_3365_34	99,0	100,0
EGFR_3635_4	100,0	100,0
EGFR_3635_5	100,0	89,8
EGFR_3635_10	100,0	100,0
EGFR_3635_30	100,0	92,9
EGFR_3635_36	100,0	100,0
EGFR_3635_50	100,0	98,5
EGFR_3635_51	100,0	100,0
EGFR_3635_52	100,0	100,0
EGFR_3635_53	100,0	98,8
EGFR_3635_54	99,9	98,8
EGFR_3635_55	98,8	97,2
EGFR_3635_56	99,8	96,4
EGFR_3635_57	100,0	96,6
EGFR_3635_58	89,9	100,0
EGFR_3635_61	100,0	98,8
EGFR_3635_62	100,0	100,0
EGFR_3635_63	100,0	100,0
EGFR_3635_64	100,0	100,0
EGFR_3635_66	100,0	96,5
EGFR_3635_68	100,0	98,2
EGFR_3635_69	100,0	100,0
EGFR_3635_70	100,0	98,6
EGFR_3635_71	100,0	100,0
EGFR_3635_72	100,0	91,5
EGFR_3635_73	100,0	100,0
EGFR_3635_78	91,1	91,1
EGFR_3635_85	100,0	98,4
EGFR_3635_86	99,7	99,4

2) Determinación de la estabilidad química en el plasma sanguíneo humano.

La determinación de la estabilidad en el plasma sanguíneo humano se realizó usando plasma sanguíneo humano agrupado proveniente de donantes sanos. La solución candidata inicial (10 mM en DMSO) se diluyó con plasma sanguíneo agrupado hasta una concentración de 10 μ M (solución de prueba). La solución de prueba se incubó en un termostato de bloque seco durante 4 horas a 37°C. Se usó HPLC con sistema de cromatografía líquida Agilent 1200 (Agilent, EE.UU) para determinar las áreas de los picos de los compuestos en las muestras de prueba, dichas áreas de pico corresponden al momento de prueba inicial (antes de la incubación) y al momento de prueba final (luego de la incubación en un termostato de bloque seco durante 4 horas a 37°C), las proteínas fueron precipitadas en primer lugar con acetonitrilo. Utilizamos gradient de elución (velocidad de flujo 1 mL/min). Se determinó la cantidad de sustancia % en una muestra luego de termostatizarla.

Se calculó la estabilidad de los compuestos. Los compuestos descritos aquí mostraron valores de estabilidad química superiores al 60% en plasma sanguíneo humano (véase la Tabla 10).

Tabla 10. Resultados de la determinación de estabilidad química de los compuestos en plasma sanguíneo humano.

Compuesto	Estabilidad en plasma sanguíneo, %
EGFR_3365	90,3
EGFR_3365_3	82,1
EGFR_3365_11	85,4
EGFR_3365_12	76,3
EGFR_3365_13	82,4
EGFR_3365_16	83,5
EGFR_3365_17	97,0
EGFR_3365_28	86,2
EGFR_3365_29	79,7
EGFR_3365_31	93,1
EGFR_3365_32	67,5
EGFR_3365_33	60,5
EGFR_3365_34	82,7
EGFR_3635_10	94,2
EGFR_3635_36	98,5
EGFR_3635_50	89,0
EGFR_3635_53	91,8
EGFR_3635_54	69,9
EGFR_3635_55	84,8
EGFR_3635_56	83,2
EGFR_3635_58	99,7
EGFR_3635_61	91,8
EGFR_3635_62	98,4
EGFR_3635_63	100,0
EGFR_3635_64	87,2
EGFR_3635_66	97,0
EGFR_3635_67	92,8
EGFR_3635_68	78,4
EGFR_3635_69	100,0
EGFR_3635_70	90,0
EGFR_3635_71	100,0
EGFR_3635_72	94,6
EGFR_3635_73	90,5
EGFR_3635_78	81,7
EGFR_3635_85	100,0
EGFR_3635_86	100,0

EGFR_3635_87	73,3
EGFR_3635_88	68,2
EGFR_3635_90	98,1
EGFR_3635_91	95,4
EGFR_3635_92	99,1
EGFR_3635_93	96,3
EGFR_3635_94	83,3
EGFR_3635_97	99,3
EGFR_3635_98	96,1
EGFR_3635_101	99,2
EGFR_3635_102	82,7
EGFR_3635_103	96,2
EGFR_3635_104	77,2
EGFR_3635_105	89,4
EGFR_3635_106	95,2
EGFR_3635_108	100,0
EGFR_3635_109	98,2
EGFR_3635_110	95,7
EGFR_3635_111	100,0
EGFR_3635_112	96,9
EGFR_3635_113	94,0
EGFR_3635_114	93,9
EGFR_3635_115	94,6
EGFR_3635_116	86,0
EGFR_3635_120	100,0
EGFR_3635_121	98,3
EGFR_3635_121a	99,0
EGFR_3635_122	92,2
EGFR_3635_123	87,3
EGFR_3635_124	90,7

Por consiguiente, como se deduce a partir del ejemplo 11, los compuestos revelados de fórmula I, muestran suficiente estabilidad en el ambiente ácido del líquido gástrico simulado, en el ambiente ácido débil del líquido intestinal simulado y en plasma sanguíneo humano.

Ejemplo 12. Determinación de la estabilidad de enzimas.

La medición de la estabilidad de la enzima candidata permitió calcular la estabilidad de los compuestos hacia la acción de las enzimas hepáticas.

Se midió la velocidad de degradación enzimática incubando la mezcla de reacción en un termostato de bloque seco a 37°C, dicha mezcla de reacción consta de 0,5 mg/mL de fracciones S9 hepáticas humanas agrupadas (XenoTech, EE.UU, cat# H0610), 10 µM de compuesto, 2 mM de β-nicotinamida adenina dinucleótido (Carbosynth, UK, cat#NN10871) y 4 mM de cloruro de magnesio en buffer sodio-fosfato 0,1M, pH=7,4. La reacción se desactivó con acetonitrilo (100 µL de acetonitrilo/100 µL de la mezcla de reacción). Luego de la desactivación, las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 minutos. El líquido sobrenadante se analizó mediante técnica cromatográfica usando Agilent1200 (Agilent, EE.UU). Utilizamos gradiente de elución (velocidad de flujo de 1 mL/min). Se realizó un gráfico del logaritmo del área de pico de la sustancia en función del tiempo. El factor dependiente de la línea correspondió a la constante de la velocidad de eliminación K sobre la cual se calculó la vida media T1/2 y el clearance intrínseco CLint del fármaco:

Constante de velocidad de eliminación (k) = (- gradiente)

Vida media ($t_{1/2}$) (min) = $\frac{0,693}{K}$

V ($\mu\text{L}/\text{mg}$) = $\frac{\text{volumen de incubación } (\mu\text{L})}{\text{proteína en incubación (mg)}}$

Clearance intrínseco (Cl_{int}) ($\mu\text{L}/\text{min.}/\text{mg}$ proteína) = $\frac{V \times 0,693}{t_{1/2}}$

Tabla 11. Resultados de la medición de la estabilidad enzimática de los compuestos

Compuesto	Estabilidad en fracciones S9 hepáticas, Cl_{int} , $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$
EGFR_3365	13,6
EGFR_3365_16	17,9
EGFR_3365_17	10,9
EGFR_3635_4	0,9
EGFR_3635_10	6,8
EGFR_3635_30	1,2
EGFR_3635_50	1,1
EGFR_3635_51	16,2
EGFR_3635_52	16,6
EGFR_3635_53	10,1
EGFR_3635_54	12,3
EGFR_3635_55	5,0
EGFR_3635_56	9,1
EGFR_3635_58	17,7
EGFR_3635_61	12,8
EGFR_3635_62	3,7
EGFR_3635_63	15,6
EGFR_3635_64	16,6
EGFR_3635_66	1,3
EGFR_3635_67	18,7
EGFR_3635_68	14,5
EGFR_3635_69	14,4
EGFR_3635_70	0,7
EGFR_3635_72	20,2
EGFR_3635_73	11,1
EGFR_3635_85	17,8
EGFR_3635_87	11,6
EGFR_3635_88	17,0
EGFR_3635_90	23,1
EGFR_3635_93	19,5
EGFR_3635_101	21,3
EGFR_3635_102	21,9
EGFR_3635_103	20,4
EGFR_3635_104	21,8
EGFR_3635_105	11,3
EGFR_3635_106	6,7

EGFR_3635_108	12,8
EGFR_3635_109	14,8
EGFR_3635_112	6,8
EGFR_3635_113	10,5
EGFR_3635_114	16,0
EGFR_3635_115	19,8
EGFR_3635_120	3,8
EGFR_3635_121	1,4
EGFR_3635_121a	2,1
EGFR_3635_123	9,2
EGFR_3635_124	22,2

Por consiguiente, como se deduce a partir del ejemplo 11, los compuestos revelados de fórmula I mostraron suficiente estabilidad a las enzimas hepáticas, con un valor de clearance intrínseco enzimático, Clint, menor a 24 µl/min/mg.

Ejemplo 13. Medición de la permeabilidad de los compuestos.

1) Medición de la permeabilidad pasiva a través de membrana sintética.

La permeabilidad pasiva se midió usando una membrana sintética, la L-α-fosfatidilcolina de la membrana actúa en la bicapa lipídica.

Se aplicó 5 µl de solución de L-α-fosfatidilcolina, proveniente de porotos de soja, (Sigma, Ireland, cat #8002-43-5) en una concentración de 20 mg/ml en DMSO a la membrana de una placa de filtro aceptora, se agregó 150 µl de buffer de fosfato de sodio 0,01 M pH = 7,4 a los pocillos de la placa de filtro aceptora. Se agregó 300 µl de solución del compuesto de prueba (10 mM en DMSO) a los pocillos de una placa donante. El sistema armado se incubó durante 20 horas a temperatura ambiente. Las muestras de las placas donantes y aceptoras se analizaron mediante técnica cromatográfica usando un cromatógrafo Agilent1200 (Agilent, EE.UU). Utilizamos gradiente de elución (velocidad de flujo de 1 mL/min). Se midieron las áreas de pico de los analitos en la placa donante y aceptora en los cromatogramas y se calculó la concentración del compuesto. Se calculó la permeabilidad pasiva P_e a través de una membrana artificial mediante la siguiente fórmula:

$$P_e = \left\{ -2,303 \times \left(\frac{V_D \times V_A}{(V_D + V_A) \text{Área} \times (t_1 - t_0)} \right) \times \lg \left(1 - \frac{V_D + V_A}{V_D \times S} \times \frac{C_{a(t)}}{C_{d(0)}} \right) \right\},$$

$$\text{donde } S = \frac{V_A}{V_D} \times \frac{C_{a(t)}}{C_{d(0)}} + \frac{C_{d(t)}}{C_{d(0)}}$$

P_e - constante de permeabilidad efectiva, m/s

V_D - volumen de solución del donante (0,3 ml), ml

V_A - volumen de solución aceptora (0,15 ml), ml

Área - área de superficie de la membrana (0,24 cm²), cm²

t_1 - tiempo de incubación (72000 seg), seg

t_0 - tiempo requerido para llenar la membrana (1140 seg), s

$C_{d(0)}$ - concentración de la solución aceptora en el momento inicial, µM

$C_{a(0)}$ - concentración de la solución donante en el momento inicial, µM

$C_{d(t)}$ - concentración de la solución aceptora luego de 20 horas, µM

$C_{a(t)}$ - concentración de la solución donante luego de 20 horas, µM

Los compuestos mostraron una gran velocidad de transporte pasivo (véase la Tabla 12), es decir, los compuestos son capaces de penetrar en la célula a través de la membrana.

Tabla 12. Resultados de la medición de permeabilidad de los compuestos.

Compuesto	P_e , cm/seg
EGFR_3365	6,0
EGFR_3365_3	16,1
EGFR_3365_11	16,6
EGFR_3365_12	12,3

EGFR_3365_13	19,0
EGFR_3365_16	12,5
EGFR_3365_17	22,0
EGFR_3365_28	7,1
EGFR_3365_29	14,1
EGFR_3365_31	14,9
EGFR_3365_32	11,1
EGFR_3365_34	17,2
EGFR_3635_4	12,8
EGFR_3635_10	21,1
EGFR_3635_30	14,9
EGFR_3635_50	7,2
EGFR_3635_51	10,3
EGFR_3635_52	17,0
EGFR_3635_53	4,8
EGFR_3635_54	10,2
EGFR_3635_56	7,8
EGFR_3635_57	21,1
EGFR_3635_58	3,9
EGFR_3635_63	5,6
EGFR_3635_66	6,1
EGFR_3635_67	11,8
EGFR_3635_68	9,5
EGFR_3635_70	11,7
EGFR_3635_71	13,0
EGFR_3635_78	2,9

2) Evaluación de la permeabilidad a través de una monocapa de células Caco-2.

La evaluación de la permeabilidad a través de una monocapa de células Caco-2 permite estudiar la capacidad de los compuestos candidatos para penetrar a través de membranas biológicas mediante transporte activo y pasivo.

Se cultivaron células Caco-2 del epitelio intestinal en los insertos de las placas transwell con los filtros (con poros de 0,4 µm, BD Falcon con Alta Densidad) durante 21 días, y luego se midió la integridad de la monocapa con Lucifer Amarillo (Sigma-Aldrich, EE.UU) según protocolo estándar. Cuando se establece la transferencia A→B (transferencia "lumen intestinal" - "corriente sanguínea"), se agregaron soluciones de sustancias de prueba en un buffer con pH 6,5 (HBSS, HEPES 10 mM, solución de glucosa 15 mM) con la concentración de 10 µM dentro de la cámara superior; la cámara inferior se llenó con un buffer de pH 7,4 (HBSS, HEPES 10 mM, Glucosa 15 mM, BSA 1%). Cuando se establece la transferencia B→A ("corriente sanguínea" - "lumen intestinal"), la cámara superior se llenó con el buffer de pH 6,5 y se agregaron soluciones de las sustancias de prueba en el buffer de pH 7,4 en una concentración de 10 µM en la cámara inferior. Se utilizó propranolol como sustancia de control (dado que posee alta permeabilidad).

Luego de incubar durante 2 h a 37°C bajo atmósfera de 5% de CO₂, se determinaron las cantidades de las sustancias de prueba en las cámaras superior e inferior mediante HPLC usando un cromatógrafo Agilent 1200 (Agilent, EE.UU) con precipitación preliminar de proteínas con acetonitrilo. Utilizamos gradient de elución (velocidad de flujo de 1 mL/min). Determinamos las áreas de los picos correspondientes a los compuestos. Sobre la base de las áreas de pico en los estándares de calibración, determinamos la concentración del compuesto en la solución inicial y en las muestras a partir de los picos de las cámaras superior e inferior.

P_{app}, la permeabilidad a través de la capa de células se calculó usando la siguiente fórmula:

$$P_{app} = (C_{(t)} * V) / (C_{(0)} * t * Area), \text{ donde}$$

P_{app} - constante de permeabilidad efectiva, m/s

V - volumen de solución (0,8 ml en prueba A→B, 0,2 ml en prueba B→A), ml

Área - área de superficie de la membrana (0,33 cm²), cm²

t - tiempo de incubación (7200 seg), seg

$C_{(0)}$ - concentración de la solución inicial, μM

$C_{(t)}$ - concentración de la solución luego de 2 horas (la concentración en la muestra desde el pocillo de la cámara inferior en la prueba A→B; concentración en la muestra desde el pocillo de la cámara superior en la prueba B→A), μM

El coeficiente de eflujo muestra la capacidad de las células para eliminar la sustancia de la corriente sanguínea. El valor se calculó con la siguiente fórmula:

$$eflujo = \frac{P_{app \text{ B} \rightarrow \text{A}}}{P_{app \text{ A} \rightarrow \text{B}}}, \text{ donde}$$

$P_{app \text{ A} \rightarrow \text{B}}$ - volumen de permeabilidad en prueba A→B;

$P_{app \text{ B} \rightarrow \text{A}}$ - volumen de permeabilidad en prueba B→A.

Los compuestos una gran velocidad de transporte directo "lumen intestinal" - "corriente sanguínea", mientras que el coeficiente de eflujo no excede de 2 (véase la Tabla 13), lo cual indica que el transportador Pgp no impone restricciones a la biodisponibilidad de los compuestos de prueba.

Tabla 13. Resultados de la evaluación de la permeabilidad a través de una monocapa de células Caco-2.

Compuesto	A – B , P_{app} m/c	eflujo
EGFR_3365	5,28	1,29
EGFR_3365_3	5,90	0,80
EGFR_3365_12	1,94	0,98
EGFR_3365_28	3,84	1,87
EGFR_3365_29	4,26	1,50
EGFR_3365_31	3,70	1,10
EGFR_3635_4	2,86	2,00
EGFR_3635_10	2,88	0,58
EGFR_3635_30	4,36	0,50
EGFR_3635_50	2,00	0,30
EGFR_3635_51	3,20	1,70
EGFR_3635_52	3,00	1,20
EGFR_3635_54	1,80	1,00
EGFR_3635_56	1,80	1,70
EGFR_3635_58	5,80	1,10
EGFR_3635_61	5,50	1,80
EGFR_3635_63	4,90	1,00
EGFR_3635_66	1,30	0,40
EGFR_3635_70	2,50	0,40
EGFR_3635_72	3,50	1,50
EGFR_3635_73	5,10	1,60
EGFR_3635_90	2,20	1,49
EGFR_3635_94	6,54	0,86
EGFR_3635_102	27,52	1,62
EGFR_3635_121	1,87	0,87

Por consiguiente, como se deduce a partir del Ejemplo 13, los compuestos revelados de fórmula I muestran una gran velocidad en el transporte pasivo y activo, lo cual significa que los compuestos revelados aquí tienen potencialmente una buena biodisponibilidad.

Ejemplo 14. Actividad inhibitoria in vitro contra EGFR.

Para evaluar los valores de IC_{50} de los compuestos revelados aquí, se utilizó un ensayo bioquímico de inhibición de la actividad de la quinasa en un sistema no celular y un ensayo funcional celular de anti-proliferación.

Para evaluar la inhibición de WT EGFR (EGFR de Tipo Salvaje), se utilizaron los kits de detección de actividad de la quinasa DM EGFR (DoubleMutantEGFR, L828R/T790M), sistema para quinasa SignalChem y Ensayo de Quinasa ADP-Glo™ (V9102, Promega).

Las mediciones se realizaron en un volumen de reacción de 25 μ L usando una placa de 96 pocillos. La enzima quinasa y el inhibidor fueron pre-incubados durante 10 minutos en el buffer de reacción conteniendo MOPS 25 mM (pH 7,2), β -glicerofosfato 12,5 mM, $MgCl_2$ 27 mM, $MnCl_2$ 2 mM, EGTA 5 mM, EDTA 2 mM, DTT 0,3 mM y 1,2 mg/mL de albúmina sérica bovina. Se usó estaurosporina (S4400, Sigma) como inhibidor de referencia y DMSO al 0,1% en el buffer de reacción – como control negativo. Se agregó solución de 0,5 mg/mL sustrato péptido y 50 μ M de ATP en el mismo buffer; la solución se incubó durante 180 minutos a 37 °C. Para detectar la cantidad de ATP captada durante la reacción de la quinasa, se usó el Kit de Detección ADP Glo (V9102, Promega). La luminescencia se midió con el espectrofotómetro de placas Infinite M200Pro (Tecan, Suiza). Los valores de IC_{50} se calcularon usando el software Magellan 7.2 (Tecan, Suiza) de puntos experimentales aproximados mediante el modelo logístico de cuatro parámetros con la optimización según Levenberg-Marquardt (Tabla 14).

La actividad antiproliferativa de los inhibidores de EGFR (Tablas 15 y 16) se midió en un ensayo biológico basado en células sobre cultivos celulares epiteliales continuos: A549 (adenocarcinoma de pulmón, ATCC® CRM-CCL-185®– WT), HCC827 (adenocarcinoma de pulmón, ATCC® CRL-2868®– SM (SingleMutantEGFR, exon19delE746–A750)) y H1975 (adenocarcinoma de pulmón, ATCC® CRL-5908® – DM (DoubleMutantEGFR, L828R/T790M)) usando reactivo de viabilidad celular Alamar Blue (ThermoFisher, #DAL1100). Las células fueron cultivadas en FBS-suplementado al 10% (Gibco, #16140071) RPMI-1640 (PanEco, S330p) durante al menos 1 pasaje luego del descongelamiento, se lavaron con PBS y se pasaron en placas de cultivo de 96 pocillos (3599, Corning) con medio de crecimiento RPMI-1640 suplementado con FBS al 2% en una cantidad de 5×10^3 células/pocillo para A549, 10×10^3 células/pocillo para HCC827 y 15×10^3 células/pocillo para H1975 en 100 μ L, y fueron incubadas a 37°C en una incubadora (Thermo Forma, EE.UU) bajo atmósfera al 5% de CO_2 durante 16-18 h para la adhesión celular.

Los compuestos de prueba se disolvieron en DMSO en el rango seleccionado de concentraciones y fueron transferidos al medio RPMI-1640 (PanEco, S330p) suplementado con FBS al 2%. Luego de agregar 50 μ L de las diluciones preparadas a las células, la mezcla de incubación contenía las concentraciones finales de las sustancias de prueba y no más de 1% de DMSO. Las placas fueron incubadas a 37°C durante 72 h. Luego de la incubación, se agregó a cada pocillo 15 μ L de colorante vital Alamar Azul (ThermoFisher, #DAL1100). Las placas fueron agitadas en un agitador orbital (Biosan, Latvia) y se volvieron a incubar durante 3-5 h en una incubadora con CO_2 (Thermo Forma, EE.UU). se calculó el número de células vivas un espectrofotómetro de placas Infinite M200Pro, (Tecan, Suiza) midiendo la señal fluorescente a la longitud de onda de excitación (λ_{Ex}) de 540 nm y la longitud de onda de emisión de (λ_{Em}) de 590 nm.

La IC_{50} se calculó usando el software Magellan 7.2 (Tecan, Suiza) de puntos experimentales aproximados mediante el modelo logístico de cuatro parámetros con la optimización según Levenberg-Marquardt.

Los valores de CC_{50} se determinaron en la prueba para citotoxicidad general en células HepG2 (carcinoma hepatocelular, ATCC® HB-8065®) (Tabla 16). Las células fueron subcultivadas en medio DMEM (PanEco, S420p) suplementado con FBS al 10% (Gibco, #16140071) durante al menos 1 pasaje luego del descongelamiento, se lavaron con PBS y se pasaron a placas de cultivo de 96 pocillos (3599, Corning) a una concentración de 2×10^4 células/100 μ L por pocillo, y se incubaron durante 16-18 h. Las sustancias de prueba se titularon en DMSO y fueron transferidas a medio DMEM (PanEco, S420p) suplementado con FBS al 2%, se agregaron a las células y se incubaron a 37°C durante 72 horas; luego se evaluó la viabilidad de las células usando colorante Alamar Azul (ThermoFisher, #DAL1100). La CC_{50} se determinó de forma similar a la IC_{50} .

La relación entre la CC_{50} para la línea celular HepG2 y la IC_{50} para la línea celular H1975 es el índice terapéutico (TI):

$$\text{Índice Terapéutico} = \frac{CC_{50}(\text{HepG2})}{IC_{50}(\text{H1975})}$$

La relación entre los valores de IC_{50} para las líneas celulares que contienen el tipo salvaje de EGFR (A549) y los valores de IC_{50} para las líneas celulares que contienen la mutación específica L828R/T790M (H1975) es el índice de selectividad (SI):

$$\text{Índice de Selectividad} = \frac{IC_{50}(\text{A549})}{IC_{50}(\text{H1975})}$$

Los compuestos de la presente invención demostraron una inhibición efectiva de la actividad de la quinasa con una mutación EGFR específica (L828R/T790M), y también demostraron baja actividad contra el tipo salvaje de EGFR. Los compuestos de la presente invención mostraron alta selectividad por el EGFR mutante.

Los compuestos de la presente invención mostraron alta actividad antiproliferativa contra las líneas celulares específicas (EGFR con una mutación L828R/T790M y con una eliminación en el exón 19) en los ensayos basados en células.

Los compuestos de la presente invención mostraron baja toxicidad en la prueba para citotoxicidad general.

Tabla 14. Resultados de la inhibición de la actividad de la quinasa.

Compuesto	IC ₅₀ , nM		SI,
	EGFR DM	EGFR WT	IC ₅₀ (WT)/IC ₅₀ (DM)
EGFR_3365	22,01	587,37	26,69
EGFR_3365-3	14,47	76,59	5,29
EGFR_3365-11	6,44	170,25	26,43
EGFR_3365-12	25,53	389,33	15,25
EGFR_3365-13	18,15	112,87	6,22
EGFR_3365-16	32,78	153,93	4,70
EGFR_3365-17	21,54	171,31	7,95
EGFR_3365-28	6,27	127,52	20,33
EGFR_3365-29	10,73	201,58	18,79
EGFR_3365-31	8,65	130,77	15,12
EGFR_3365-32	5,26	202,09	38,41
EGFR_3365-33	6,79	75,78	11,16
EGFR_3365-34	6,95	514,46	74,07
EGFR_3365-4	21,35	230,43	10,79
EGFR_3365-5	22,04	463,61	21,03
EGFR_3365-10	7,28	211,48	29,06
EGFR_3365-30	7,69	613,49	79,77
EGFR_3365-36	18,90	360,00	19,05
EGFR_3365-50	3,29	32,00	9,74
EGFR_3365-66	1,86	46,82	25,13
EGFR_3365-70	14,74	250,00	16,96
EGFR_3365-77	4,97	49,88	10,04
EGFR_3365-51	4,72	50,78	10,75
EGFR_3365-52	6,41	67,87	10,58
EGFR_3365-54	5,53	144,98	26,20
EGFR_3365-55	25,39	76,63	3,02
EGFR_3365-56	6,30	120,57	19,14
EGFR_3365-63	0,94	22,86	24,32
EGFR_3365-85	8,36	59,96	7,17
EGFR_3365-57	6,24	49,69	7,96
EGFR_3365-58	2,36	39,69	16,81

EGFR_3365-62	6,58	127,37	19,37
EGFR_3365-67	10,52	97,51	9,27
EGFR_3365-68	9,03	93,90	10,40
EGFR_3365-69	2,59	23,63	9,12
EGFR_3365-73	2,35	32,68	13,89
EGFR_3365-53	7,31	183,11	25,06
EGFR_3365-61	2,76	53,09	19,27
EGFR_3365-72	3,71	55,92	15,09
EGFR_3365-87	2,75	67,36	24,50
EGFR_3365-88	5,09	78,19	15,37
EGFR_3365-90	0,75	32,33	43,40
EGFR_3365-91	4,55	107,46	23,60
EGFR_3365-92	7,57	132,95	17,56
EGFR_3365-93	< 1	41,48	>41,48
EGFR_3365-115	1,99	126,32	63,44
EGFR_3365-94	1,41	25,43	18,02
EGFR_3365-110	2,32	97,74	42,20
EGFR_3365-105	2,93	108,92	37,17
EGFR_3365-114	2,02	51,35	25,37
EGFR_3365-106	5,50	108,22	19,68
EGFR_3365-97	2,30	84,18	36,55
EGFR_3365-98	1,86	83,21	44,62
EGFR_3365-103	2,14	22,64	10,60
EGFR_3365-108	1,71	25,41	14,85
EGFR_3365-109	3,14	25,23	8,03
EGFR_3365-111	2,33	185,82	79,88
EGFR_3365-112	2,05	23,55	11,48
EGFR_3365-116	1,75	34,99	19,99
EGFR_3365-124	3,57	76,35	21,41
EGFR_3365-121	0,89	21,62	24,30
EGFR_3365-121a	0,96	29,59	30,92
EGFR_3365-101	2,54	29,32	11,55
EGFR_3365-102	11,17	205,58	18,40
EGFR_3365-120	2,37	30,88	13,01
EGFR_3365-122	2,67	19,66	7,35
EGFR_3365-123	2,65	51,98	19,58
EGFR_3365-113	2,54	43,39	17,09
EGFR_3365-104	6,42	113,09	17,61
EGFR_3365-126	1,86	19,75	10,62
EGFR_3365-127	2,96	24,54	8,29

* Los valores de IC₅₀ posteriores a ">" y "<" están fuera del rango de concentraciones considerado.

**Los valores posteriores a "<" y ">" dados son aproximados y calculados sobre la base del valor de IC₅₀ que está fuera del rango de concentraciones considerado.

Tabla 15. Resultados de la evaluación de la actividad específica de los compuestos en la prueba antiproliferativa basada en células usando líneas celulares: H1975 (DM), HCC827 (SM).

Compuesto	IC ₅₀ , nM		IC ₅₀ , nM	SI
	H1975 (DM)	HCC827 (SM)	A549 (WT)	IC ₅₀ (A549)/IC ₅₀ (DM)
EGFR_3365	60,1	14,3	>10000*	>166**
EGFR_3365_3	44,5	2,3	6069	136,32

EGFR_3365_11	351,2	6,2	12420	35,37
EGFR_3365_12	21,5	20,3	15419	716,20
EGFR_3365_13	30,8	10,3	4481	145,63
EGFR_3365_16	53,7	10,0	2206	41,10
EGFR_3365_17	393,5	41,3	2391	6,08
EGFR_3365_28	17,1	15,3	3639	213,04
EGFR_3365_29	26,9	6,2	16022	595,06
EGFR_3365_31	7,3	8,3	11078	1509,19
EGFR_3365_32	93,4	11,1	35133	376,12
EGFR_3365_33	5,6	5,9	>10000*	>1786**
EGFR_3365_34	164,5	111,2	16162	98,26
EGFR_3365_4	35,3	15,3	5378	152,17
EGFR_3365_5	57,3	28,6	7590	132,56
EGFR_3365_10	211,3	5,9	13247	62,70
EGFR_3365_30	16,4	2,0	5545	337,72
EGFR_3365_36	183,7	-	73924	402,37
EGFR_3365_50	47,51	26,85	4922	104
EGFR_3365_66	34,73	12,80	4640	134
EGFR_3365_70	203,08	36,79	4390	22
EGFR_3365_77	249,28	23,51	2167	9
EGFR_3365_51	33,78	8,60	11488	340
EGFR_3365_52	66,08	22,54	10824	164
EGFR_3365_54	34,22	13,87	4424	129
EGFR_3365_55	211,30	20,07	11636	55
EGFR_3365_56	29,22	29,89	4544	156
EGFR_3365_63	5,79	4,27	10816	5383
EGFR_3365_85	138,17	18,02	1410	10
EGFR_3365_57	69,39	5,64	8638	124
EGFR_3365_58	10,47	6,23	>10000	>1235
EGFR_3365_62	60,79	12,10	12268	539
EGFR_3365_67	220,67	26,27	2471	11
EGFR_3365_68	34,61	19,05	8141	235
EGFR_3365_69	7,93	2,46	>10000	>1261
EGFR_3365_73	10,28	4,47	16014	1678
EGFR_3365_53	44,94	26,55	8235	183
EGFR_3365_61	8,12	5,77	23418	2884
EGFR_3365_72	11,52	13,52	10732	932
EGFR_3365_87	57,59	-	8020	139
EGFR_3365_88	62,64	-	14877	238
EGFR_3365_90	7,58	4,39	5305	1060
EGFR_3365_91	>200	-	31571	<158
EGFR_3365_92	35,06	-	22853	652
EGFR_3365_93	103,68	-	9152	88
EGFR_3365_115	19,11	-	12810	670
EGFR_3365_94	6,65	-	6895	1037
EGFR_3365_110	21,66	-	9514	439
EGFR_3365_105	21,57	-	84086	3898
EGFR_3365_114	12,09	-	14208	1175
EGFR_3365_106	33,31	-	>20000	>601
EGFR_3365_97	22,95	-	13798	601
EGFR_3365_98	13,65	-	14542	1065

EGFR_3365_103	13,17	-	12569	954
EGFR_3365_108	4,35	-	21410	4925
EGFR_3365_109	8,66	-	17705	2043
EGFR_3365_111	36,59	-	11241	307
EGFR_3365_112	15,26	-	37286	2443
EGFR_3365_116	29,47	-	11795	400
EGFR_3365_124	66,31	-	19726	298
EGFR_3365_121	4,21	15,19	8354	1983
EGFR_3365_121a	2,55	13,52	3268	1284
EGFR_3365_101	12,90	-	8324	645
EGFR_3365_102	80,48	-	5569	69
EGFR_3365_120	4,50	5,19	16395	3644
EGFR_3365_122	2,21	-	5307	2398
EGFR_3365_123	1,18	-	7194	6105
EGFR_3365_113	4,42	-	13589	3073
EGFR_3365_104	257,58	-	3780	15
EGFR_3365_127	8,45	-	>10000*	>166**

* Los valores de IC₅₀ posteriores a ">" y "<" están fuera del rango de concentraciones considerado.

** Los valores dado luego de "<" y ">" son aproximados y calculados sobre la base del valor de IC₅₀ que está fuera del rango de concentraciones considerado.

Tabla 16. Resultados de la evaluación de la actividad específica y de la toxicidad general de los compuestos usando líneas celulares H1975 y HepG2. Los resultados están presentados como valores promedio de la actividad obtenidos en varias pruebas.

Compuesto	H1975 (DM) IC ₅₀ , nM	HepG2 CC ₅₀ , nM	TI, CC ₅₀ /IC ₅₀
EGFR_3365	60,12	25408	423
EGFR_3365_3	44,52	15164	341
EGFR_3365_11	351,18	15046	43
EGFR_3365_12	21,53	22618	1051
EGFR_3365_13	30,77	14148	460
EGFR_3365_16	53,68	5789	108
EGFR_3365_17	393,47	6319	16
EGFR_3365_28	17,08	31361	1836
EGFR_3365_29	26,92	30564	1135
EGFR_3365_31	7,34	9494	1293
EGFR_3365_32	93,41	24783	265
EGFR_3365_33	5,60	57591	10285
EGFR_3365_34	164,49	10273	62
EGFR_3365_4	35,34	14809	419
EGFR_3365_5	57,26	17704	309
EGFR_3365_10	211,26	30388	144
EGFR_3365_30	16,42	10942	666
EGFR_3365_36	183,72	36549	199
EGFR_3365_50	47,5	12432	262
EGFR_3365_66	34,7	9640	278
EGFR_3365_70	203,1	11470	56
EGFR_3365_77	249,3	8342	33
EGFR_3365_51	33,8	20941	620
EGFR_3365_52	66,1	15635	237
EGFR_3365_54	34,2	7823	229

EGFR_3365_55	211,3	13298	63
EGFR_3365_56	29,2	9512	325
EGFR_3365_63	2,0	12968	2239
EGFR_3365_85	138,2	21168	153
EGFR_3365_57	69,4	22787	328
EGFR_3365_58	8,1	44405	4241
EGFR_3365_62	22,8	31149	512
EGFR_3365_67	220,7	9456	43
EGFR_3365_68	34,6	28560	825
EGFR_3365_69	7,9	51929	6549
EGFR_3365_73	9,5	35637	3465
EGFR_3365_53	44,9	20559	457
EGFR_3365_61	8,1	43010	5296
EGFR_3365_72	11,5	16225	1408
EGFR_3365_87	57,6	19469	338
EGFR_3365_88	62,6	26857	429
EGFR_3365_90	5,0	12804	1689
EGFR_3365_93	103,7	23557	227
EGFR_3365_115	19,11	22048	1154
EGFR_3365_94	6,65	11974	1801
EGFR_3365_110	21,66	18531	855
EGFR_3365_105	21,57	45604	2114
EGFR_3365_114	12,09	23812	1970
EGFR_3365_106	33,31	>50000*	>1501**
EGFR_3365_97	22,95	21632	943
EGFR_3365_98	13,65	24158	1770
EGFR_3365_103	13,17	29392	2232
EGFR_3365_108	4,35	47934	11026
EGFR_3365_109	8,66	45448	5245
EGFR_3365_111	36,59	27143	742
EGFR_3365_112	15,26	>50000	>3267
EGFR_3365_116	29,47	22079	749
EGFR_3365_124	66,31	>50000	>754
EGFR_3365_121	4,21	75129	17832
EGFR_3365_121a	2,55	11832	4649
EGFR_3365_101	12,90	15975	1238
EGFR_3365_102	80,48	27519	342
EGFR_3365_120	4,50	29309	6514
EGFR_3365_122	2,21	12638	5710
EGFR_3365_123	1,18	40021	33959
EGFR_3365_113	4,42	46343	10481
EGFR_3365_104	257,58	18722	73

* Los valores de IC₅₀ posteriores a ">" y "<" están fuera del rango de concentraciones considerado.

** Los valores dados luego de "<" y ">" son valores aproximados calculados sobre la base de valores de la IC₅₀ que está fuera del rango de concentraciones considerado.