

COMPUESTOS TRICÍCLICOS COMO INHIBIDORES DE KRAS

SOLICITUDES RELACIONADAS

- Esta solicitud está relacionada con la solicitud provisional estadounidense n.º 63/219,274 presentada el 7 de julio de 2021; solicitud provisional estadounidense n.º 63/292,774, presentada el 22 de diciembre de 2021; y la solicitud provisional estadounidense n.º 63/310,811, presentada el 16 de febrero de 2022, cuyo contenido se incorpora en su totalidad.

10 CAMPO DE LA INVENCIÓN

La descripción proporciona compuestos así como sus composiciones y métodos de uso. Los compuestos modulan la actividad de KRAS y son útiles en el tratamiento de diversas enfermedades, incluido el cáncer.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

- Las proteínas Ras forman parte de la familia de pequeñas GTPasas que se activan mediante factores de crecimiento y diversos estímulos extracelulares. La familia Ras regula las vías de señalización intracelular responsables del crecimiento, migración, supervivencia y diferenciación de las células. La activación de las proteínas RAS en la membrana celular da como resultado la unión de efectores clave y el inicio de una cascada de vías de señalización intracelular dentro de la célula, incluidas las vías de la quinasa RAF y PI3K. Las mutaciones somáticas en RAS pueden provocar un crecimiento celular descontrolado y una transformación maligna, mientras que la activación de las proteínas RAS está estrechamente regulada en las células normales (Simanshu, D. et ál. Cell 170.1 (2017):17-33).

- La familia Ras está compuesta por tres miembros: KRAS, NRAS y HRAS. Los cánceres mutantes RAS representan alrededor del 25 % de los cánceres humanos. KRAS es la isoforma mutada con mayor frecuencia y representa el 85 % de todas las mutaciones RAS, mientras que NRAS y HRAS se encuentran mutadas en el 12 % y el 3 % de todos los cánceres mutantes de Ras, respectivamente (Simanshu, D. et ál. Cell 170.1 (2017):17- 33). Las mutaciones de KRAS prevalecen entre los tres tipos de cáncer más mortales: páncreas (97 %), colorrectal (44 %) y pulmón (30 %) (Cox, A.D. et ál. Nat Rev Drug Discov (2014) 13:828-51). La mayoría de las mutaciones de RAS ocurren en los residuos de aminoácidos 12, 13 y 61. La frecuencia de mutaciones específicas varía entre las isoformas del gen RAS y, aunque las mutaciones G12 y Q61 son predominantes en KRAS y NRAS respectivamente, las mutaciones G12, G13 y Q61

son más frecuentes en HRAS. Además, el espectro de mutaciones en una isoforma RAS difiere entre los tipos de cáncer. Por ejemplo, las mutaciones KRAS G12D predominan en los cánceres de páncreas (51 %), seguidas de los adenocarcinomas colorrectales (45 %) y los cánceres de pulmón (17 %), mientras que las mutaciones KRAS G12 V se asocian con los

5 cánceres de páncreas (30 %), seguidas de los adenocarcinomas colorrectales (27 %) y adenocarcinomas de pulmón (23 %) (Cox, A.D. et ál. Nat Rev Drug Discov (2014) 13:828-51). Por el contrario, las mutaciones KRAS G12C predominan en el cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, por su sigla en inglés) que comprende del 11 al 16 % de los adenocarcinomas de pulmón y del 2 al 5 % de los adenocarcinomas de páncreas y colorrectales (Cox, A.D. et ál. Nat.

10 Rev. Drug Discov. (2014) 13:828-51). Los estudios genómicos en cientos de líneas celulares cancerosas han demostrado que las células cancerosas que albergan mutaciones de KRAS dependen en gran medida de la función de KRAS para el crecimiento y la supervivencia celular (McDonald, R. et ál. Cell 170 (2017): 577-592). El papel del KRAS mutante como impulsor oncogénico está respaldado además por una amplia evidencia experimental in vivo que muestra

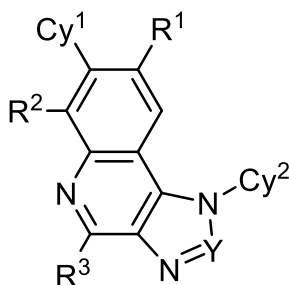
15 que el KRAS mutante es necesario para la aparición temprana y el mantenimiento de tumores en modelos animales (Cox, A.D. et ál. Nat Rev Drug Discov (2014) 13:828- 51).

En conjunto, estos hallazgos sugieren que las mutaciones de KRAS desempeñan un papel fundamental en los cánceres humanos; por lo tanto, el desarrollo de inhibidores dirigidos a KRAS mutante puede ser útil en el tratamiento clínico de enfermedades caracterizadas por

20 una mutación de KRAS.

COMPENDIO

La presente descripción proporciona, *de modo no taxativo*, un compuesto de la Fórmula I:



(I)

o sales farmacéuticamente aceptables de este, donde las variables constitutivas se definen en la presente.

La presente descripción proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que

comprende un compuesto de la descripción, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

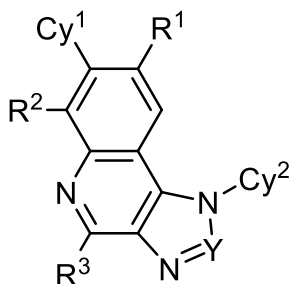
La presente descripción proporciona además métodos para inhibir la actividad de KRAS, que comprende administrar a un individuo un compuesto de la descripción, o una sal farmacéuticamente aceptable de este. La presente descripción también proporciona usos de los compuestos descritos en la presente en la fabricación de un medicamento para el uso en terapia. La presente descripción también proporciona los compuestos descritos en la presente para uso en terapia.

La presente descripción proporciona adicionalmente métodos para tratar una enfermedad o trastorno en un paciente que comprende administrarle al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la descripción, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Compuestos

En un aspecto, en la presente se proporciona un compuesto que tiene la Fórmula (I):



I

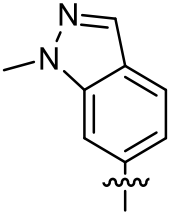
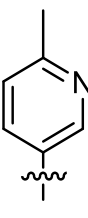
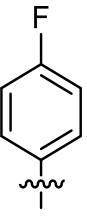
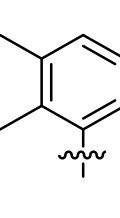
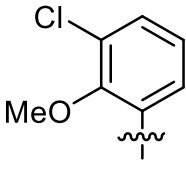
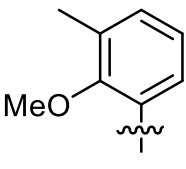
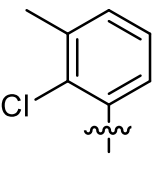
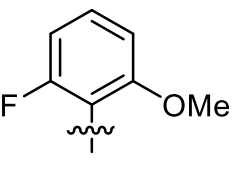
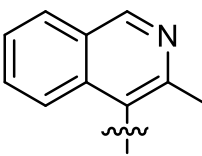
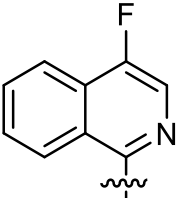
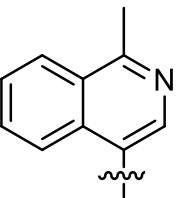
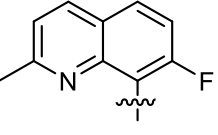
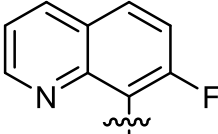
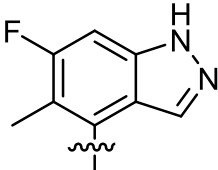
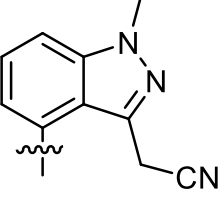
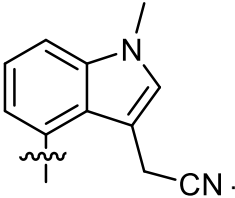
o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde:

Y es N o CH;

R¹ se selecciona de Cl, CH₃, CH₂F, CHF₂ y CF₃;

Cy¹ se selecciona de

Cy¹-a	Cy¹-b	Cy¹-c	Cy¹-d

			
Cy¹-e	Cy¹-f	Cy¹-g	Cy¹-h
			
Cy¹-i	Cy¹-j	Cy¹-k	Cy¹-l
			
Cy¹-m	Cy¹-n	Cy¹-o	Cy¹-p
			y
Cy¹-q	Cy¹-r	Cy¹-s	
			
Cy¹-t			

R² se selecciona de F y Cl;

R³ se selecciona de

R ³ -a	R ³ -b	R ³ -c	R ³ -d

y,

Cy² se selecciona de

Cy ² -a	Cy ² -b	Cy ² -c
Cy ² -d	Cy ² -e	Cy ² -f

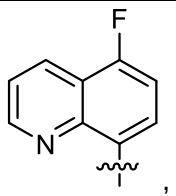
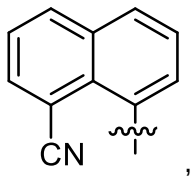
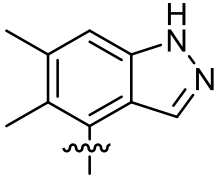
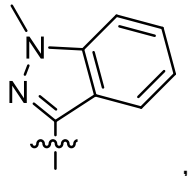
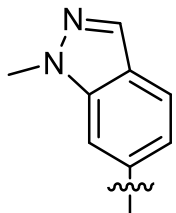
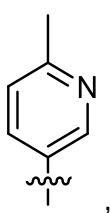
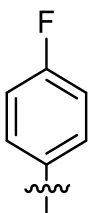
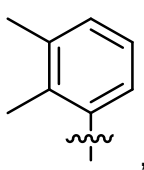
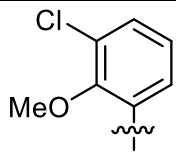
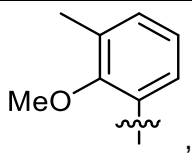
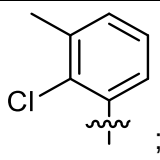
siempre que el compuesto de la Fórmula I sea distinto de,

2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo,
2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo, y
2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1H-indazol-4-il)-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo.

En una modalidad de la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de esta
Y es N o CH;

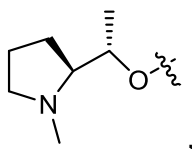
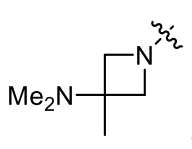
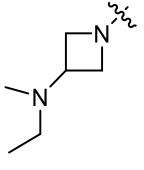
R¹ se selecciona de Cl, CH₃, CH₂F, CHF₂ y CF₃;

Cy¹ se selecciona de

			
Cy ¹ -a	Cy ¹ -b	Cy ¹ -c	Cy ¹ -d
			
Cy ¹ -e	Cy ¹ -f	Cy ¹ -g	Cy ¹ -h
		y	
Cy ¹ -i	Cy ¹ -j		Cy ¹ -k

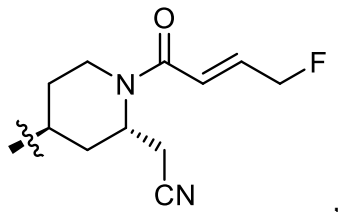
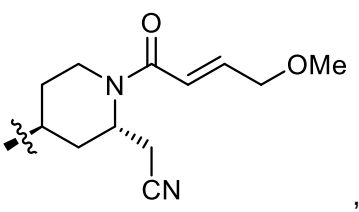
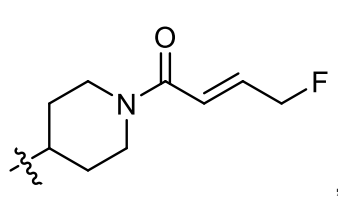
R² se selecciona de F y Cl;

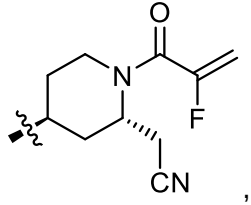
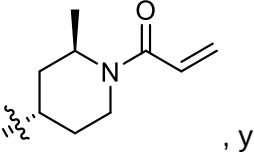
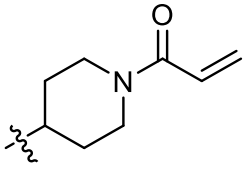
R³ se selecciona de

		y	
R ³ -a	R ³ -b		R ³ -c

y

Cy² se selecciona de

		
Cy ² -a	Cy ² -b	Cy ² -c

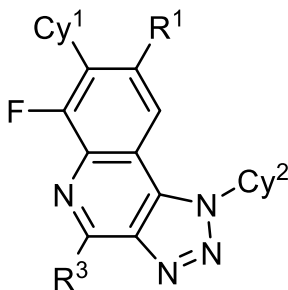
		
Cy²-d	Cy²-e	Cy²-f

siempre que el compuesto de la Fórmula I sea distinto de,

2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidín-2-il)acetonitrilo y

2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidín-2-il)acetonitrilo.

En aun otra modalidad, el compuesto de la Fórmula I es un compuesto de la Fórmula II:

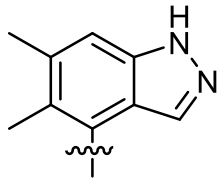
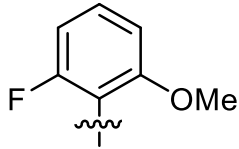
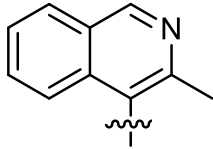
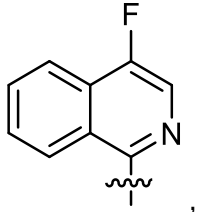


5 II

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde:

R¹ se selecciona de Cl y CH₃;

Cy¹ se selecciona de

			
Cy¹-c	Cy¹-l	Cy¹-m	Cy¹-n

Cy ¹ -o	Cy ¹ -p	Cy ¹ -q	Cy ¹ -r
	y		
Cy ¹ -s		Cy ¹ -t	

R³ se selecciona de

	y	
R ³ -a		R ³ -d

y,

Cy² se selecciona de

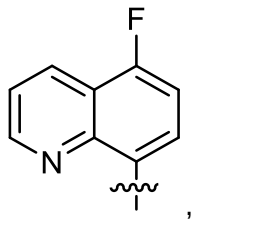
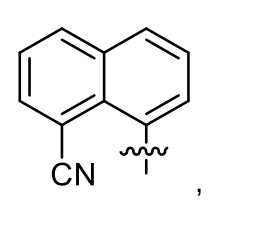
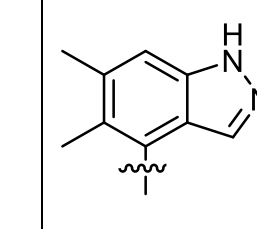
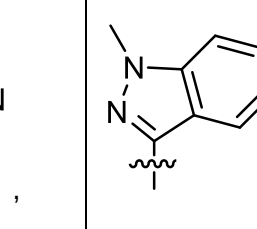
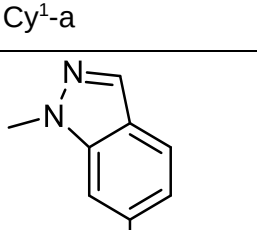
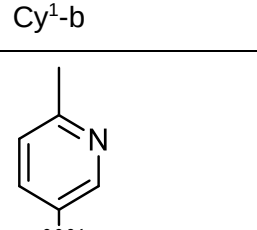
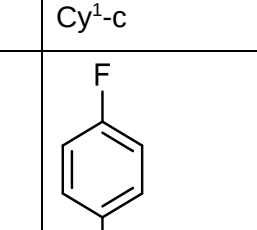
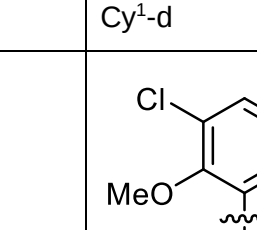
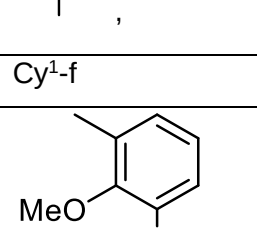
Cy ² -b	Cy ² -d	Cy ² -e
y		
	Cy ² -f	

5

En una modalidad de la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de esta,
Y es N o CH;

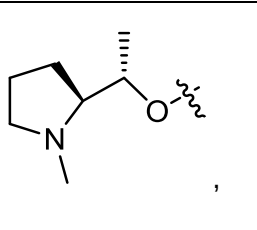
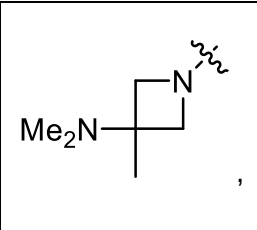
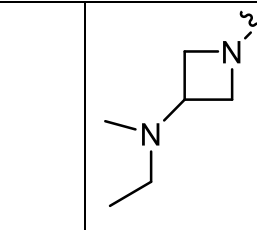
R¹ se selecciona de Cl, CH₃, CH₂F, CHF₂ y CF₃;

Cy¹ se selecciona de

			
Cy ¹ -a	Cy ¹ -b	Cy ¹ -c	Cy ¹ -d
			
Cy ¹ -e	Cy ¹ -f	Cy ¹ -g	Cy ¹ -i
y		;	
	Cy ¹ -j		

R² se selecciona de F y Cl;

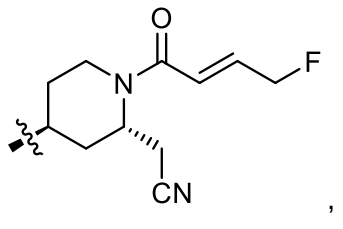
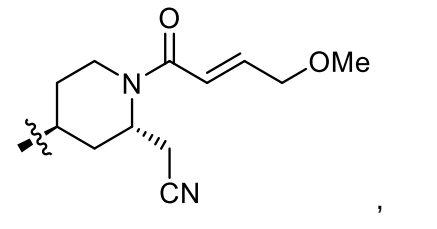
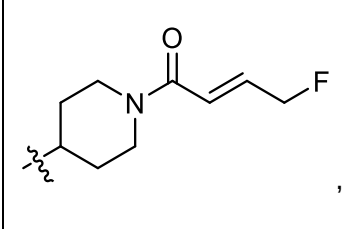
R³ se selecciona de

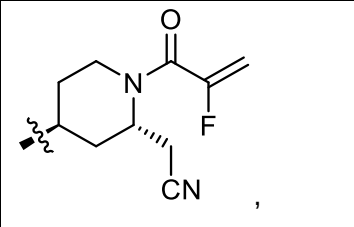
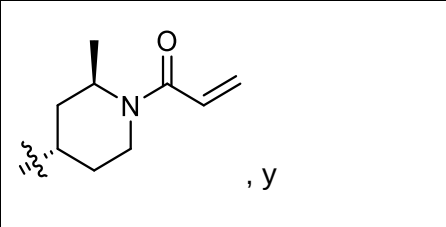
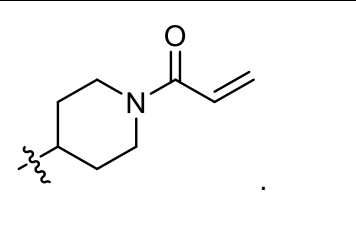
		y	
R ³ -a	R ³ -b		R ³ -c

y,

5

Cy² se selecciona de

		
Cy ² -a	Cy ² -b	Cy ² -c

		
Cy ² -d	Cy ² -e	Cy ² -f

En una modalidad, Y es CH. En una modalidad, Y es N.

En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-c, Cy¹-l, Cy¹-m, Cy¹-n, Cy¹-o, Cy¹-p, Cy¹-q, Cy¹-r, Cy¹-s y Cy¹-t. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-l, Cy¹-m, Cy¹-n, Cy¹-o, Cy¹-p, Cy¹-q, Cy¹-r, Cy¹-s y Cy¹-t. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-c, Cy¹-m, Cy¹-n, Cy¹-o, Cy¹-p, Cy¹-q, Cy¹-r, Cy¹-s y Cy¹-t. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-f, Cy¹-g, Cy¹-h, Cy¹-i, Cy¹-j, Cy¹-k y Cy¹-l. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-a, Cy¹-m, Cy¹-n, Cy¹-o, Cy¹-p y Cy¹-q. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-c, Cy¹-d, Cy¹-e, Cy¹-r, Cy¹-s y Cy¹-t.

En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-a, Cy¹-c y Cy¹-r. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-c y Cy¹-r. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-s y Cy¹-t.

En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-l. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-m. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-n. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-o. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-p. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-q. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-r. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-s. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-t.

En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-a, Cy¹-b, Cy¹-c, Cy¹-d, Cy¹-e, Cy¹-f, Cy¹-g, Cy¹-i y Cy¹-j. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-a, Cy¹-b, Cy¹-c, Cy¹-d y Cy¹-e. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-f, Cy¹-g, Cy¹-h, Cy¹-i, Cy¹-j, y Cy¹-k. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-c, Cy¹-d y Cy¹-e. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-a, Cy¹-b y Cy¹-k. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-a y Cy¹-b. En una modalidad, Cy¹ se selecciona de Cy¹-h y Cy¹-k.

En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-a. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-b. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-c. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-d. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-e. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-f. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-g. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-h. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-i. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-j. En una modalidad, Cy¹ es Cy¹-k.

En una modalidad, R¹ se selecciona de CH₃, CH₂F, CHF₂ y CF₃. En una modalidad, R¹ se selecciona de Cl, CH₃, CHF₂ y CF₃. En una modalidad, R¹ se selecciona de CH₂F, CHF₂ y CF₃. En una modalidad, R¹ se selecciona de Cl, CH₂F, CHF₂ y CF₃. En una modalidad, R¹ se selecciona de Cl y CH₃. En una modalidad, R¹ se selecciona de Cl y CF₃. En una modalidad, R¹ se selecciona de CH₃ y CF₃. En una modalidad, R¹ es Cl. En una modalidad, R¹ es CH₂F. En una modalidad, R¹ es CHF₂. En una modalidad, R¹ es CH₃. En una modalidad, R¹ es CF₃.

En una modalidad, R^2 es F. En una modalidad, R^2 es Cl.

En una modalidad, R^3 se selecciona de R^3 -a y R^3 -b. En una modalidad, R^3 se selecciona de R^3 -b y R^3 -c. En una modalidad, R^3 se selecciona de R^3 -a y R^3 -c. En una modalidad, R^3 es R^3 -a. En una modalidad, R^3 es R^3 -b. En una modalidad, R^3 es R^3 -c.

5 En una modalidad, R^3 se selecciona de R^3 -b, R^3 -c y R^3 -d. En una modalidad, R^3 se selecciona de R^3 -b y R^3 -d. En una modalidad, R^3 se selecciona de R^3 -c y R^3 -d.

En una modalidad, R^3 se selecciona de R^3 -a y R^3 -d. En una modalidad, R^3 es R^3 -d.

En una modalidad, Cy^2 se selecciona de Cy^2 -b, Cy^2 -d, Cy^2 -e y Cy^2 -f. En una modalidad, Cy^2 se selecciona de Cy^2 -b y Cy^2 -d. En una modalidad, Cy^2 se selecciona de Cy^2 -c y Cy^2 -d.

10 En una modalidad, Cy^2 se selecciona de Cy^2 -a, Cy^2 -c y Cy^2 -d. En una modalidad, Cy^2 se selecciona de Cy^2 -a, Cy^2 -b y Cy^2 -d. En una modalidad, Cy^2 se selecciona de Cy^2 -a, Cy^2 -b y Cy^2 -c. En una modalidad, Cy^2 se selecciona de Cy^2 -d, Cy^2 -e y Cy^2 -f. En una modalidad, Cy^2 se selecciona de Cy^2 -a y Cy^2 -b. En una modalidad, Cy^2 se selecciona de Cy^2 -c y Cy^2 -f. En una modalidad, Cy^2 se selecciona de Cy^2 -e y Cy^2 -f.

15 En una modalidad, Cy^2 es Cy^2 -a. En una modalidad, Cy^2 es Cy^2 -b. En una modalidad, Cy^2 es Cy^2 -c. En una modalidad, Cy^2 es Cy^2 -d. En una modalidad, Cy^2 es Cy^2 -e. En una modalidad, Cy^2 es Cy^2 -f.

En otra modalidad, el compuesto de la Fórmula I es distinto de,

2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo,

2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo, y

2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1H-indazol-4-il)-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo.

20 En una modalidad, el compuesto de la Fórmula I es distinto de,

2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo y

2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-

il)acetonitrilo.

En otra modalidad, los compuestos de las Fórmulas de la presente son compuestos de las Fórmulas o sales farmacéuticamente aceptables de estos.

En una modalidad, el compuesto de la Fórmula I se selecciona de

- 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
- 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-7-(2-metoxi-3-metilfenil)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
- 2-((2S,4S)-4-(7-(3-cloro-2-metoxifenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
- 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
- 1-(4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona;
- 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
- 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-6-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
- 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(6-metilpiridin-3-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
- 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-3-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
- 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(4-fluorofenil)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
- 8-(1-(1-acriloilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo;
- 2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
- 2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-2-il)acetonitrilo;

8-(1-((2*R*,4*S*)-1-acriloil-2-metilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo;

2-((2*S*,4*S*)-4-(7-(5,6-dimetil-1*H*-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)azetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-2-il) acetonitrilo;

5 8-(6-fluoro-1-(1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-4-il)-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo;

8-(1-((2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-4-il)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo;

10 2-((2*S*,4*S*)-4-(6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;

2-((2*S*,4*S*)-4-(6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo; y

15 2-((2*S*,4*S*)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, el compuesto de la Fórmula I se selecciona de

20 2-((2*S*,4*S*)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;

2-((2*S*,4*S*)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(2-metoxi-3-metilfenil)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;

25 2-((2*S*,4*S*)-4-(7-(3-cloro-2-metoxifenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;

2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;

30 1-(4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona;

2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1*H*-indazol-6-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;

2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(6-metilpiridin-3-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-

il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
 2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1*H*-indazol-3-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
 2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-7-(4-fluorofenil)-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-
 5 [1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
 8-(1-(1-acriloilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-
 [1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo;
 8-(1-((2*R*,4*S*)-1-acriloil-2-metilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-
 2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo;
 10 2-((2*S*,4*S*)-4-(7-(5,6-dimetil-1*H*-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)azetidín-1-il)-6-fluoro-8-
 metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-2-il) acetonitrilo;
 8-(6-fluoro-1-(1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-4-il)-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-
 metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo;
 8-(1-((2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-4-il)-4-(3-(dimetilamino)-3-
 15 metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo;
 2-((2*S*,4*S*)-4-(6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-
 1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
 2-((2*S*,4*S*)-4-(6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-
 1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo; y
 20 2-((2*S*,4*S*)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-
 (trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-
 il)acetonitrilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, el compuesto de la Fórmula I se selecciona de:

25 2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-7-(4-fluoroisoquinolin-1-il)-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-
 il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
 2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-7-(4-fluoroisoquinolin-1-il)-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-
 il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
 2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(3-metilisoquinolin-4-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-
 30 il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
 2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(3-metilisoquinolin-4-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-
 il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;
 2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-7-(7-fluoro-2-metilquinolin-8-il)-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-
 metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-2-

il)acetonitrilo;

2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;

2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(7-fluoroquinolin-8-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilol)piperidin-2-il)acetonitrilo;

2-(4-(1-((2R,4S)-1-acrilol-2-metilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-metil-1H-indazol-3-il)acetonitrilo;

2-((2S,4S)-4-(4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1H-indazol-4-il)-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilol)piperidin-2-

10 il)acetonitrilo;

2-((2S,4S)-4-(7-(5,6-dimetil-1H-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilol)piperidin-2-il)acetonitrilo;

2-(4-(1-((2R,4S)-1-acrilol-2-metilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-metil-1H-indol-3-il)acetonitrilo;

15 2-(4-(1-(1-acrilolpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-metil-1H-indol-3-il)acetonitrilo;

2-((2S,4S)-4-(8-cloro-7-(5,6-dimetil-1H-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilol)piperidin-2-il)acetonitrilo;

20 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilol)piperidin-2-il)acetonitrilo; y

2-((2S,4S)-4-(8-cloro-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1H-indazol-4-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilol)piperidin-2-il)acetonitrilo;

25 o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En una modalidad, el compuesto de la Fórmula I se selecciona de

2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo;

2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilol)piperidin-2-il)acetonitrilo;

30 o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Además se entiende que algunas características de la invención que, con fines de claridad, se describen en el contexto de modalidades separadas, también se pueden proporcionar combinadas en una sola modalidad (mientras que se pretende que las

modalidades estén combinadas como si estuvieran escritas como dependientes y múltiples). Por el contrario, también pueden proporcionarse diversas características de la invención que, por motivos de brevedad, se describen en el contexto de una sola modalidad, de forma separada o en cualquier subcombinación adecuada. Por lo tanto, se contempla que las

5 características descritas como modalidades de los compuestos con la Fórmula I pueden combinarse en cualquier combinación adecuada.

Los compuestos que se describen en la presente pueden ser asimétricos (por ejemplo, tener uno o más estereocentros). Se incluyen todos los estereoisómeros, tales como enantiómeros y diastereómeros, a menos que se indique de otro modo. Los compuestos de la

10 presente invención que contienen átomos de carbono sustituidos de forma asimétrica pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas. En la técnica se conocen métodos sobre cómo preparar formas ópticamente activas a partir de materiales de partida ópticamente inactivos, tal como mediante resolución de mezclas racémicas o mediante síntesis estereoselectiva. Muchos isómeros geométricos de olefinas, enlaces dobles C=N, y similares,

15 también pueden estar presentes en los compuestos descritos en el presente, y todos estos isómeros estables se contemplan en la presente invención. Los isómeros geométricos *cis* y *trans* de los compuestos de la presente invención se describen y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas.

La resolución de mezclas racémicas de compuestos puede llevarse a cabo mediante

20 diversos métodos conocidos en la técnica. Un método incluye la recristalización fraccionada mediante el uso de un ácido de resolución quiral que es un ácido orgánico ópticamente activo que forma una sal. Los agentes de resolución adecuados para métodos de recristalización fraccionada son, por ejemplo, ácidos ópticamente activos tales como las formas D y L de ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico, ácido

25 láctico o los diversos ácidos canforsulfónicos ópticamente activos tales como β -ácido canforsulfónico. Otros agentes de resolución adecuados para los métodos de cristalización fraccionada incluyen formas estereoisoméricamente puras de α -metilbenzilamina (por ejemplo, las formas *S* y *R*, o formas diastereoméricamente puras), 2-fenilglicinol, norefedrina, efedrina, *N*-metilefedrina, ciclohexiletilamina, 1,2-diaminociclohexana, y similares.

La resolución de mezclas racémicas también puede llevarse a cabo mediante elución en

30 una columna rellena con un agente de resolución ópticamente activo (por ejemplo, dinitrobenzoilfenilglicina). Un experto en la técnica puede determinar la composición de solvente de elución adecuada.

En algunas modalidades, los compuestos de la invención tienen la configuración (*R*). En

otras modalidades, los compuestos tienen la configuración (S). En compuestos con más de un centro quiral, cada uno de los centros quirales en el compuesto puede ser independientemente (R) o (S), a menos que se indique de otro modo.

Los compuestos de la invención pueden incluir formas tautoméricas. Las formas tautoméricas surgen del intercambio de un enlace simple con un enlace doble adyacente junto con la migración concomitante de un protón. Las formas tautoméricas incluyen tautómeros prototrópicos que son estados de protonación isoméricos con la misma fórmula empírica y carga total. Los ejemplos de tautómeros prototrópicos incluyen pares cetona-enol, pares amida-ácido imídico, pares lactama-lactima, pares enamina-imina y formas anulares donde un protón puede ocupar dos o más posiciones de un sistema heterocíclico, por ejemplo, 1*H*- y 3*H*-imidazol, 1*H*-, 2*H*- y 4*H*- 1,2,4-triazol, 1*H*- y 2*H*- isoindol y 1*H*- y 2*H*-pirazol. Las formas tautoméricas pueden encontrarse en equilibrio o bloqueadas estéricamente en una forma mediante una sustitución adecuada.

Los compuestos de la invención también incluyen todos los isótopos de átomos que aparecen en los intermedios o en los compuestos finales. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico, pero diferentes números másicos. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio. Uno o más átomos constituyentes de los compuestos de la invención pueden reemplazarse o sustituirse con isótopos de los átomos en cantidades naturales o no naturales. En algunas modalidades, el compuesto incluye al menos un átomo de deuterio. Por ejemplo, uno o más átomos de hidrógeno en un compuesto de la presente descripción pueden reemplazarse o sustituirse con deuterio. En algunas modalidades, el compuesto incluye dos o más átomos de deuterio. En algunas modalidades, el compuesto incluye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 átomos de deuterio. Se conocen en la técnica métodos sintéticos para incluir isótopos en compuestos orgánicos (Deuterium Labeling in Organic Chemistry por Alan F. tomaz (Nueva York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange por Jens Atzrodt, Volker Derdau, torsten Fey y Jochen Zimmermann, Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 7744-7765; The Organic Chemistry of Isotopic Labelling by James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011). Los compuestos etiquetados con isótopos se pueden utilizar en diversos estudios, como espectroscopia de RMN, experimentos de metabolismo y/o ensayos.

La sustitución con isótopos más pesados, tales como el deuterio, puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas producidas una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor semivida in vivo o una reducción de los requisitos de dosificación y, por lo tanto, puede preferirse en algunas circunstancias. (A. Kerekes et ál. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 201-210; R. Xu

et ál. *J. Label Compd. Radiopharm.* **2015**, 58, 308-312).

El término "compuesto", tal como se usa en la presente, pretende incluir todos los estereoisómeros, isómeros geométricos, tautómeros e isótopos de las estructuras representadas. El término también hace referencia a los compuestos de la invención, independientemente de cómo se preparen, por ejemplo, sintéticamente, a través de un proceso biológico (por ejemplo, metabolismo o conversión enzimática), o una combinación de estos.

Todos los compuestos, y sales farmacéuticamente aceptables de estos, pueden encontrarse junto con otras sustancias tales como agua y solventes (por ejemplo, hidratos y solvatos) o pueden estar aislados. Cuando están en estado sólido, los compuestos que se describen en la presente y las sales de estos pueden presentarse en diversas formas y pueden, por ejemplo, tener forma de solvatos, incluidos los hidratos. Los compuestos pueden estar en cualquier forma de estado sólido, tal como un polimorfo o solvato, por lo que, a menos que se indique claramente lo contrario, se entenderá que la referencia en la memoria descriptiva a compuestos y sales de estos abarca cualquier forma de estado sólido del compuesto.

En algunas modalidades, los compuestos de la invención, o sus sales, están sustancialmente aislados. "Sustancialmente aislado" significa que el compuesto está al menos parcialmente o sustancialmente separado del ambiente en el cual se formó o detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en los compuestos de la invención. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos alrededor de 50 %, al menos alrededor de 60 %, al menos alrededor de 70 %, al menos alrededor de 80 %, al menos alrededor de 90 %, al menos alrededor de 95 %, al menos alrededor de 97 %, o al menos alrededor de 99 % en peso de los compuestos de la invención, o sal de estos.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente para hacer referencia a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, según el buen criterio médico, son adecuados para su uso en contacto con tejidos de seres humanos y animales sin provocar una toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, con una relación beneficio/riesgo correspondiente razonable.

Las expresiones "temperatura ambiente", "temperatura ambiental" y "ta", tal como se usan en la presente, se entienden en la técnica y se refieren generalmente a una temperatura, por ejemplo, una temperatura de reacción, que es alrededor de la temperatura de la habitación donde se lleva a cabo la reacción, por ejemplo, a una temperatura de alrededor de 20 °C a alrededor de 30 °C.

La presente invención también incluye sales farmacéuticamente aceptables de los

compuestos descritos en el presente. La expresión “sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico” hace referencia a derivados de los compuestos que se describen en los que el compuesto original se modifica convirtiendo un resto ácido o base existente en su forma de sal. Los ejemplos de sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico incluyen, de modo no taxativo, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico de la presente invención incluyen las sales no tóxicas del compuesto original formado, por ejemplo, a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto original que contiene un resto ácido o básico mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o el ácido adecuado en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefiere un medio no acuoso como éter, acetato de etilo, alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, iso-propanol o butanol) o acetonitrilo (MeCN). Pueden encontrarse listas de sales adecuadas en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17.^a Ed., (Mack Publishing Company, Easton, 1985), p. 1418, Berge et ál., *J. Pharm. Sci.*, **1977**, 66(1), 1-19 y en Stahl et ál., *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Wiley, 2002). En algunas modalidades, los compuestos que se describen en la presente incluyen las formas de N-óxido.

Síntesis

Los compuestos de la invención, que incluyen sales de estos, se pueden preparar usando técnicas de síntesis orgánica conocidas y se pueden sintetizar de acuerdo con cualquiera de diversas vías de síntesis posibles, como las que se muestran en los esquemas a continuación.

Las reacciones para preparar compuestos de la invención se pueden llevar a cabo en disolventes adecuados que pueden ser seleccionados fácilmente por un experto en la técnica de síntesis orgánica. Los disolventes adecuados pueden ser sustancialmente no reactivos con los materiales de partida (reactivos), los productos intermedios o los productos a las temperaturas a las que se llevan a cabo las reacciones, por ejemplo, temperaturas que pueden variar desde la temperatura de congelación del solvente hasta la temperatura de ebullición del solvente. Una reacción dada puede llevarse a cabo en un solvente o en una mezcla de más de un solvente. Dependiendo del paso de reacción particular, un experto puede seleccionar

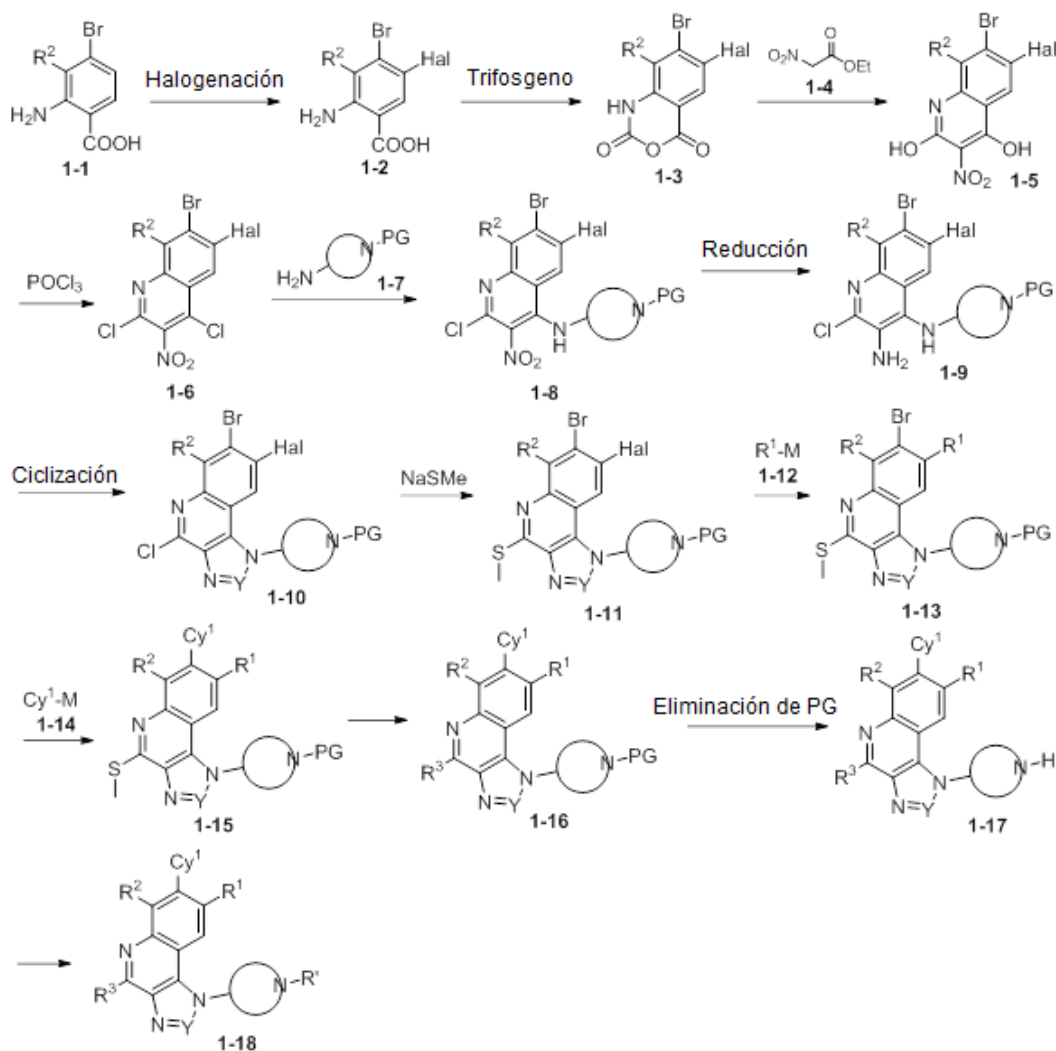
solventes adecuados para un paso de reacción particular.

La preparación de compuestos de la invención puede implicar la protección y desprotección de varios grupos químicos. La necesidad de protección y desprotección, y la selección de grupos protectores apropiados, puede determinarse fácilmente por un experto en la técnica. La química de los grupos protectores se describe, por ejemplo, en Kocienski, *Protecting Groups*, (Thieme, 2007); Robertson, *Protecting Group Chemistry*, (Oxford University Press, 2000); Smith et ál., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 6.^a ed. (Wiley, 2007); Petursson et ál., "Protecting Groups in Carbohydrate Chemistry," *J. Chem. Educ.*, 1997, 74(11), 1297; y Wuts et ál., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4.^a ed., (Wiley, 2006).

Las reacciones pueden controlarse de acuerdo con cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación de productos se puede controlar por medios espectroscópicos, tal como espectroscopía de resonancia magnética nuclear (por ejemplo, ^1H or ^{13}C), espectroscopia infrarroja, espectrofotometría (por ejemplo, UV-visible) o espectrometría de masas, o mediante métodos cromatográficos como alta cromatografía líquida de rendimiento (HPLC) o cromatografía en capa fina (TLC).

Los siguientes esquemas proporcionan una guía general en relación con la preparación de los compuestos de la invención. El entendido en la técnica comprenderá que las preparaciones que se muestran en los esquemas se pueden modificar u optimizar utilizando el conocimiento general de la química orgánica para preparar diversos compuestos de la invención.

Esquema 1



Los compuestos de las fórmulas **1-18** se pueden preparar *mediante* la vía sintética descrita en el Esquema 1. La halogenación del material de partida **1-1** con un reactivo apropiado, tal como *N*-cloro-succinimida (NCS), proporciona el intermedio **1-2** (Hal es un haluro, tal como F, Cl, Br o I). Los compuestos **1-3** se pueden preparar tratando **1-2** con reactivos tales como trifosgeno. El intermedio **1-3** puede reaccionar entonces con el éster **1-4** para liberar el compuesto nitro **1-5**, que puede tratarse con un reactivo apropiado (por ejemplo, POCl_3) para producir el compuesto **1-6**. La reacción $\text{AS}_\text{N}\text{Ar}$ del intermedio **1-6** con la amina **1-7** (PG es un grupo protector apropiado, tal como Boc) se puede llevar a cabo para generar el compuesto **1-8**. El grupo nitro en **1-8** se puede reducir a NH_2 en presencia de agentes reductores (por ejemplo, Fe en ácido acético o ditionito de sodio). Luego, el intermedio **1-9** puede sufrir una reacción de ciclación (por ejemplo, usando ortoformiato de trietilo) para producir el intermedio **1-**

10, seguido de una reacción de SnAr con tiometóxido de sodio para proporcionar **1-11**. Una reacción de acoplamiento cruzado con **1-12**, en la que M es un ácido borónico, éster borónico o un metal o metaloide apropiadamente sustituido [por ejemplo, M es B(OR)₂, Sn(alquil)₃, Zn-Hal o CF₃TMS], en condiciones de acoplamiento cruzado estándar Suzuki (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio y una base adecuada), o condiciones de acoplamiento cruzado estándar de Stille (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio), o condiciones de acoplamiento cruzado de Negishi estándar (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio) o condiciones de trifluorometilación (por ejemplo, en presencia de un catalizador de cobre) producen **1-13**. El intermedio **1-15** se puede preparar mediante una reacción de acoplamiento cruzado entre **1-13** y un aducto de la fórmula **1-14**, en la que M es un ácido borónico, éster borónico o un metal apropiadamente sustituido [por ejemplo, M es B(OR)₂, Sn(alquil)₃, o Zn-Hal], en condiciones de acoplamiento cruzado estándar Suzuki (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio y una base adecuada), o condiciones de acoplamiento cruzado estándar de Stille (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio), o condiciones de acoplamiento cruzado de Negishi estándar (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio). El intermedio **1-15** se puede convertir en el intermedio **1-16** mediante la oxidación del grupo azufre con un oxidante adecuado (por ejemplo, m-CPBA) seguido de una reacción de SnAr o una reacción de acoplamiento cruzado (Org. Lett. **2002**, 4, 979-981). La eliminación del grupo protector en **1-16** produce la amina **1-17**. La funcionalización de la amina resultante (tal como acoplamiento con cloruro de ácido, por ejemplo, cloruro de acrilóilo) proporciona entonces el producto deseado **1-18**. El orden de las reacciones químicas descritas anteriormente se puede reorganizar u omitir según sea apropiado para adaptarse a la preparación de diferentes análogos.

25 *Proteína KRAS*

La familia Ras está compuesta por tres miembros: KRAS, NRAS y HRAS. Los cánceres mutantes RAS representan alrededor del 25 % de los cánceres humanos. KRAS es la isoforma mutada con mayor frecuencia en los cánceres humanos: el 85 % de todas las mutaciones de RAS están en KRAS, el 12 % en NRAS y el 3 % en HRAS (Simanshu, D. et ál. Cell **170**.1 (2017):17-33). Las mutaciones de KRAS prevalecen entre los tres tipos de cáncer más mortales: páncreas (97 %), colorrectal (44 %) y pulmón (30 %) (Cox, A.D. et ál. Nat Rev Drug Discov (2014) 13:828-51). La mayoría de las mutaciones de RAS ocurren en los residuos de aminoácidos/codones 12, 13 y 61; las mutaciones del codón 12 son más frecuentes en KRAS. La frecuencia de mutaciones específicas varió entre los genes RAS y las mutaciones G12D son

más predominantes en KRAS, mientras que las mutaciones Q61R y G12R son más frecuentes en NRAS y HRAS. Además, el espectro de mutaciones en una isoforma RAS difiere entre los tipos de cáncer. Por ejemplo, las mutaciones KRAS G12D predominan en los cánceres de páncreas (51 %), seguidas de los adenocarcinomas colorrectales (45 %) y los cánceres de pulmón (17 %) (Cox, A.D. et ál. Nat Rev Drug Discov (2014) 13:828-51). Por el contrario, las mutaciones KRAS G12C predominan en el cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, por su sigla en inglés) que comprende del 11 al 16 % de los adenocarcinomas de pulmón (casi la mitad de KRAS mutante en G12C), así como del 2 al 5 % de los adenocarcinomas de páncreas y colorrectales (Cox, A.D. et ál. Nat. Rev. Drug Discov. (2014) 13:828-51). Utilizando la atenuación génica de ARNhp de miles de genes en cientos de líneas celulares cancerosas, los estudios genómicos han demostrado que las células cancerosas que exhiben mutaciones de KRAS dependen en gran medida de la función de KRAS para el crecimiento celular (McDonald, R. et ál. Cell 170 (2017): 577-592). En conjunto, estos hallazgos sugirieron que las mutaciones de KRAS desempeñan un papel fundamental en los cánceres humanos, por lo tanto el desarrollo de los inhibidores dirigidos a KRAS mutante puede ser útil en el tratamiento clínico de enfermedades han sido caracterizadas por una mutación de KRAS.

Métodos de uso

Los tipos de cáncer en los que está implicado KRAS que alberga las mutaciones G12C, G12V y G12D incluyen, de modo no taxativo: carcinomas (por ejemplo, de páncreas, colorrectal, de pulmón, de vejiga, gástrico, esofágico, de mama, de cabeza y cuello, de piel cervical, tiroides); neoplasias hematopoyéticas (por ejemplo, neoplasias mieloproliferativas (MPN), síndrome mielodisplásico (MDS), leucemia mielomonocítica crónica y juvenil (CMML y JMML), leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfocítica aguda (ALL) y mieloma múltiple (MM)); y otras neoplasias (por ejemplo, glioblastoma y sarcomas). Además, se encontraron mutaciones de KRAS en la resistencia adquirida a la terapia anti-EGFR (Knickelbein, K. et ál. Genes & Cancer, (2015): 4-12). Se encontraron mutaciones de KRAS en trastornos inmunológicos e inflamatorios (Fernandez-Medarde, A. et ál. Genes & Cancer, (2011): 344-358) como el trastorno linfoproliferativo asociado a Ras (RALD) o la leucemia mielomonocítica juvenil (JMML) causada por mutaciones somáticas de KRAS o NRAS.

Los compuestos de la presente descripción pueden inhibir la actividad de la proteína KRAS. Por ejemplo, los compuestos de la presente descripción se pueden usar para inhibir la actividad de KRAS en una célula o en un individuo o paciente que necesite la inhibición de la enzima mediante la administración de una cantidad inhibidora de uno o más compuestos de la

presente descripción a la célula, individuo o paciente.

Como inhibidores de KRAS, los compuestos de la presente descripción son útiles en el tratamiento de diversas enfermedades asociadas con la expresión o actividad anormal de KRAS. Los compuestos que inhiben KRAS serán útiles para proporcionar un medio para
5 prevenir el crecimiento o inducir la apoptosis en tumores, o mediante la inhibición de la angiogénesis. Por lo tanto, se anticipa que los compuestos de la presente descripción resultarán útiles en el tratamiento o prevención de trastornos proliferativos como los cánceres. En particular, los tumores con mutantes activadores de tirosina cinasas receptoras o la regulación positiva de tirosina cinasas receptoras pueden ser particularmente sensibles a los
10 inhibidores.

En un aspecto, en la presente se proporciona un método para inhibir la actividad de KRAS, comprendiendo dicho método poner en contacto un compuesto de la presente descripción con KRAS. En una modalidad, el contacto comprende administrar el compuesto a un paciente.

15 En un aspecto, en la presente se proporciona un método para inhibir una proteína de KRAS que alberga una mutación G12C, comprendiendo dicho método poner en contacto un compuesto de la presente descripción con KRAS.

En un aspecto, en la presente se proporciona un método para inhibir una proteína de KRAS que alberga una mutación G12D, comprendiendo dicho método poner en contacto un
20 compuesto de la presente descripción con KRAS.

En un aspecto, en la presente se proporciona un método para inhibir una proteína de KRAS que alberga una mutación G12V, comprendiendo dicho método poner en contacto un compuesto de la presente descripción con KRAS.

En otro aspecto, se proporciona en la presente un método para tratar una enfermedad o
25 trastorno asociado con la inhibición de la interacción KRAS, comprendiendo dicho método administrar a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de cualquiera de las fórmulas descritas en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En aún otro aspecto, se proporciona en la presente un método para tratar una
30 enfermedad o trastorno asociado con la inhibición de una proteína KRAS que alberga una mutaciones de G12C, comprendiendo dicho método administrar a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de cualquiera de las fórmulas descritas en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En aún otro aspecto más, en la presente también se proporciona un método para tratar

el cáncer en un paciente que lo necesita, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos descritos en la presente, donde el cáncer se caracteriza por una interacción con una proteína KRAS que alberga una mutación G12C.

5 En aún otro aspecto, en la presente se proporciona un método para tratar un cáncer en un paciente, comprendiendo dicho método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos descritos en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

10 En un aspecto, en la presente se proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno asociado con la inhibición de la interacción de KRAS o un mutante de esta, en un paciente que lo necesite, que comprende el paso de administrar al paciente un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o una composición que comprende un compuesto descrito en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en combinación con otra terapia o agente terapéutico tal como se describe en la presente.

15 En una modalidad, el cáncer se selecciona de cánceres hematológicos, sarcomas, cánceres de pulmón, cánceres gastrointestinales, cánceres del tracto genitourinario, cánceres de hígado, cánceres óseos, cánceres del sistema nervioso, cánceres ginecológicos y cánceres de piel.

20 En otra modalidad, el cáncer de pulmón se selecciona de cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), cáncer de pulmón microcítico, carcinoma broncogénico, carcinoma broncogénico de células escamosas, carcinoma broncogénico de células pequeñas no diferenciadas, carcinoma broncogénico de células grandes no diferenciadas, adenocarcinoma, carcinoma bronogénico, carcinoma alveolar, carcinoma bronquiolar, adenoma bronquial, hamartoma condromatoso, mesotelioma, carcinoma pavicular y no pavicular, adenoma bronquial y blastoma pleuropulmonar.

25 En aun otra modalidad, el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC). En incluso otra modalidad, el cáncer de pulmón es adenocarcinoma.

30 En una modalidad, el cáncer gastrointestinal se selecciona de carcinoma de células escamosas de esófago, adenocarcinoma de esófago, leiomioma de esófago, linfoma de esófago, carcinoma estomacal, linfoma estomacal, leiomioma estomacal, carcinoma de páncreas exocrino, adenocarcinoma de los conductos de páncreas, insulinooma de páncreas, glucagonoma de páncreas, gastrinooma de páncreas, tumores carcinoides de páncreas, vipoma de páncreas, adenocarcinoma de intestino delgado, linfoma de intestino delgado, tumores carcinoides de intestino delgado, sarcoma de Kaposi, leiomioma de intestino delgado, hemangioma de intestino delgado, lipoma de intestino delgado, neurofibroma de intestino

delgado, fibroma de intestino delgado, adenocarcinoma de intestino grueso, adenoma tubular de intestino grueso, adenoma vellosa de intestino grueso, hamartoma de intestino grueso, leiomioma de intestino grueso, cáncer colorrectal, cáncer de vesícula biliar, y cáncer anal.

En una modalidad, el cáncer gastrointestinal es cáncer colorrectal.

- 5 En otra modalidad, el cáncer es un carcinoma. En aun otra modalidad, el carcinoma se selecciona de carcinoma de páncreas, carcinoma colorrectal, carcinoma pulmonar, carcinoma de vejiga, carcinoma gástrico, carcinoma de esófago, carcinoma de mamas, carcinoma de cabeza y cuello, carcinoma de la piel del cuello uterino y carcinoma de tiroides.

- 10 En incluso otra modalidad, e cáncer es una neoplasia maligna hematopoyética. En una modalidad, la neoplasia maligna hematopoyética se selecciona de mieloma múltiple, leucemia mielógena aguda y neoplasias mieloproliferativas.

En otra modalidad, el cáncer es una neoplasia. En aun otra modalidad, la neoplasia es glioblastoma o sarcomas.

- 15 En determinadas modalidades, la descripción proporciona un método para tratar un trastorno mediado por KRAS en un paciente que lo necesita, que comprende el paso de administrar a dicho paciente un compuesto de acuerdo con la invención, o una composición aceptable desde un punto de vista farmacéutico de este.

- 20 En algunas modalidades, las enfermedades e indicaciones que son tratables usando los compuestos de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, cánceres hematológicos, sarcomas, cánceres de pulmón, cánceres gastrointestinales, cánceres del tracto genitourinario, cánceres de hígado, cánceres de huesos, cánceres del sistema nervioso, cánceres ginecológicos y cánceres de piel.

- 25 Los ejemplos de cánceres hematológicos incluyen linfomas y leucemias tales como leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia promielocítica aguda (LPA), leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia mielógena crónica (LMC), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBGB), linfoma de células del manto, linfoma no Hodgkin (incluido el LNH en recaída o refractario y folicular recurrente), linfoma de Hodgkin, enfermedades mieloproliferativas (por ejemplo, mielofibrosis primaria (MFP), policitemia vera (PV), trombocitosis esencial (TE), 8p11 mieloproliferativo), síndrome de mielodisplasia (SMD),
30 linfoma linfoblástico agudo de linfocitos T (LLA-T), mieloma múltiple, linfoma cutáneo de linfocitos T, leucemia de linfocitos T adultos, macroglobulinemia de Waldenstrom, linfoma de células pilosas, linfoma de la zona marginal, linfoma crónico linfoma mielogénico y linfoma de Burkitt.

Los ejemplos de sarcomas incluyen condrosarcoma, sarcoma de Ewing, osteosarcoma,

rabdomiosarcoma, angiosarcoma, fibrosarcoma, liposarcoma, mixoma, rabdomioma, rabdosarcoma, fibroma, lipoma, hamartoma, linfosarcoma, leiomiosarcoma y teratoma.

Los cánceres de pulmón ilustrativos incluyen cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC),
 5 cáncer de pulmón microcítico, carcinoma broncogénico (células escamosas, células pequeñas
 no diferenciadas, células grandes no diferenciadas, adenocarcinoma), carcinoma alveolar
 (bronquiolar), adenoma bronquial, hamartoma condromatoso, mesotelioma, carcinoma
 pavicelular y no pavicelular, adenoma bronquial y blastoma pleuropulmonar.

Los cánceres gastrointestinales ilustrativos incluyen cánceres de esófago (carcinoma de
 células escamosas, adenocarcinoma, leiomiosarcoma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma,
 10 leiomiosarcoma), páncreas (carcinoma pancreático exocrino, adenocarcinoma ductal,
 insulinoma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado
 (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma,
 lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma
 vellosa, hamartoma, leiomioma), cáncer colorrectal, cáncer de vesícula biliar y cáncer anal.

Los ejemplos de cánceres del tracto genitourinario incluyen cánceres de riñón
 (adenocarcinoma, tumor de Wilm [nefroblastoma], carcinoma de células renales), vejiga y uretra
 (carcinoma de células escamosas, carcinoma de células de transición, adenocarcinoma),
 próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículo (seminoma, teratoma carcinoma embrionario,
 15 teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma,
 fibroadenoma, tumores adenomatoideos, lipoma) y carcinoma urotelial.

Los cánceres de hígado ejemplares incluyen hepatoma (carcinoma hepatocelular),
 colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular y hemangioma.

Los ejemplos de cánceres óseos incluyen, por ejemplo, sarcoma osteogénico
 (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing,
 25 linfoma maligno (sarcoma de células reticulares), mieloma múltiple, cordoma de tumor maligno
 de células gigantes, osteocronoma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno,
 condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes.

Los ejemplos de cánceres del sistema nervioso incluyen cánceres de cráneo (osteoma,
 hemangioma, granuloma, xantoma, osteítis deformante), meninges (meningioma,
 30 meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduoblastoma, glioma, ependimoma,
 germinoma (pinealoma), glioblastoma, glioblastoma multiforme, oligodendroglioma,
 schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos, tumores neuroectodérmicos) y de médula
 espinal (neurofibroma, meningioma, glioma, sarcoma), neuroblastoma, enfermedad de
 Lhermitte-Duclos y tumores pineales.

Los cánceres ginecológicos de ejemplo incluyen cánceres de mama (carcinoma ductal, carcinoma lobulillar, sarcoma de mama, cáncer de mama triple negativo, cáncer de mama HER2 positivo, cáncer de mama inflamatorio, carcinoma papilar), útero (carcinoma endometrial), cuello uterino (carcinoma cervical, pre displasia cervical tumoral), ovarios (carcinoma de ovario
 5 (cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado), tumores de células de la granulosa-tecal, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioide (rabdomyosarcoma embrionario) y trompas de Falopio
 10 (carcinoma).

Los ejemplos de cánceres de piel incluyen melanoma, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, cáncer de piel de células de Merkel, lunares, nevus displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma y queloides.

Los ejemplos de cánceres de cabeza y cuello incluyen glioblastoma, melanoma,
 15 rabdosarcoma, linfosarcoma, osteosarcoma, carcinomas de células escamosas, adenocarcinomas, cáncer oral, cáncer de laringe, cáncer de nasofaringe, cánceres nasales y paranasales, cánceres de tiroides y paratiroides, tumores del ojo, tumores de los labios y cáncer de boca y escamoso de cabeza y cuello.

Los compuestos de la presente descripción también pueden ser útiles en la inhibición
 20 de metástasis tumorales.

Además de las neoplasias oncogénicas, los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de trastornos esqueléticos y de condrocitos que incluyen, de modo no taxativo, acrocondroplasia, hipocondroplasia, enanismo, displasia tanatofórica (TD) (formas clínicas TD I y TD II), síndrome de Apert, síndrome de Crouzon, síndrome de Jackson-Weiss, síndrome de
 25 cutis girado de Beare-Stevenson, síndrome de Pfeiffer y síndromes de craneosinostosis. En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un método para tratar a un paciente que padece un trastorno esquelético y de condrocitos.

En algunas modalidades, los compuestos descritos en la presente memoria se pueden usar para tratar la enfermedad de Alzheimer, el VIH o la tuberculosis.

30 Como se usa en la presente memoria, la expresión "síndrome mieloproliferativo 8p11" hace referencia a neoplasias mieloides/linfoides asociadas con la eosinofilia y anomalías de FGFR1.

Tal como se usa en la presente, el término "célula" hace referencia a una célula que está *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*. En algunas modalidades, una célula *ex vivo* puede ser parte de una

muestra de tejido extirpada de un organismo, tal como un mamífero. En algunas modalidades, una célula *in vitro* puede ser una célula en un cultivo celular. En algunas modalidades, una célula *in vivo* es una célula que vive en un organismo, tal como un mamífero.

Tal como se usa en la presente, la expresión "poner en contacto" hace referencia a la unión de los restos indicados en un sistema *in vitro* o un sistema *in vivo*. Por ejemplo, "poner en contacto" una KRAS con un compuesto descrito en la presente incluye la administración de un compuesto descrito en la presente a un individuo o paciente, tal como un ser humano, que tiene KRAS, así como, por ejemplo, introducir un compuesto descrito en la presente en un muestra que contiene una preparación celular o purificada que contiene la KRAS.

Tal como se usan en la presente, los términos "individuo", "sujeto" o "paciente", que se usan de forma indistinta, hacen referencia a cualquier animal, incluidos los mamíferos, preferentemente, ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado, ovejas, caballos o primates y, más preferentemente, seres humanos.

Tal como se usa en la presente, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" hace referencia a la cantidad del compuesto activo o agente farmacéutico, tal como una cantidad de cualquiera de las formas sólidas o sales de este, tal como se describe en la presente, que genera la respuesta biológica o médica en un tejido, sistema, animal, individuo o ser humano buscada por un investigador, veterinario, doctor en medicina u otro tipo de profesional médico. Una cantidad "eficaz" adecuada en cualquier caso individual puede determinarse mediante técnicas conocidas por el experto en la técnica.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se utiliza en la presente para hacer referencia a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del criterio médico bien fundado, se adecuan al uso en contacto con tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones excesivos, en consonancia con una relación riesgo/beneficio razonable.

Como se usa en la presente, la frase "portador o excipiente farmacéuticamente aceptable" hace referencia a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un relleno líquido o sólido, diluyente, solvente o material de encapsulación. Los excipientes o portadores son generalmente seguros, no tóxicos y no indeseables biológicamente ni de otro modo e incluyen excipientes o portadores que son aceptables para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano. En una modalidad, cada componente es "farmacéuticamente aceptable" como se define en la presente. Ver, por ejemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21.^a ed.; Lippincott Williams & Wilkins: Filadelfia, Pa.,

2005; *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6.^a ed.; Rowe et ál., Eds.; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009; *Handbook of Pharmaceutical Additives*, 3.^a ed.; Ash y Ash Eds.; Gower Publishing Company: 2007; *Pharmaceutical Preformulation and Formulation*, 2.^a ed.; Gibson Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, Fla., 2009.

5 Como se usa en la presente, el término "tratar" o "tratamiento" hace referencia a inhibir la enfermedad; por ejemplo, inhibir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o que muestra la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, detener el desarrollo adicional de la patología y/o sintomatología) o mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que
10 está experimentando o que muestra la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o sintomatología) tal como disminuir la gravedad de la enfermedad.

 El término "prevenir", "que previene" o "prevención", como se usa en el presente documento, comprende la prevención de al menos un síntoma asociado o causado por el
15 estado, enfermedad o trastorno que se está previniendo.

 Se aprecia que determinadas características de la invención que, para mayor claridad, se describen en el contexto de modalidades separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única modalidad (mientras que se pretende que las modalidades se combinen como si se escribieran de forma múltiple y dependiente). Por el contrario, también
20 pueden proporcionarse diversas características de la invención que, por motivos de brevedad, se describen en el contexto de una sola modalidad, de forma separada o en cualquier subcombinación adecuada.

Terapias de combinación

25 I. Terapias contra el cáncer

 El crecimiento y la supervivencia de las células cancerosas pueden verse afectados por la disfunción en múltiples vías de transducción de señales. Por lo tanto, es útil combinar diferentes inhibidores de enzimas/proteínas/receptores, que muestren diferentes preferencias en los objetivos cuyas actividades modulan, para tratar dichas afecciones. El direccionamiento
30 de más de una vía de señalización (o más de una molécula biológica involucrada en una vía de señalización determinada) puede reducir la probabilidad de que surja una resistencia al fármaco en una población celular y/o reducir la toxicidad del tratamiento.

 Uno o más agentes farmacéuticos adicionales como, por ejemplo, quimioterapéuticos, agentes antiinflamatorios, esteroides, inmunosupresores, agentes inmuno-oncológicos,

inhibidores de enzimas metabólicas, inhibidores de receptores de quimioquinas e inhibidores de fosfatasa, así como terapias dirigidas como inhibidores de quinasa Bcr-Abl , Flt-3, EGFR, HER2, JAK, c-MET, VEGFR, PDGFR, c-Kit, IGF-1R, RAF, FAK y CDK4/6 como, por ejemplo, los descritos en WO 2006/056399 se puede usar en combinación con los compuestos de la presente descripción para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones asociados con CDK2. Se pueden usar otros agentes tales como anticuerpos terapéuticos en combinación con los compuestos de la presente descripción para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones asociadas a CDK2. El uno o más agentes farmacéuticos adicionales se pueden administrar a un paciente de forma simultánea o secuencial.

En algunas modalidades, el inhibidor de CDK2 se administra o se usa en combinación con un inhibidor de BCL2 o un inhibidor de CDK4/6.

Los compuestos descritos en la presente se pueden usar en combinación con una o más de otras terapias con inhibidores de enzimas/proteínas/receptores para el tratamiento de enfermedades, como el cáncer y otras enfermedades o trastornos descritos en la presente. Los ejemplos de enfermedades e indicaciones tratables con terapias de combinación incluyen las descritas en la presente. Los ejemplos de cánceres incluyen tumores sólidos y tumores no sólidos, como tumores líquidos, cánceres de la sangre. Los ejemplos de infecciones incluyen infecciones virales, infecciones bacterianas, infecciones por hongos o infecciones por parásitos. Por ejemplo, los compuestos de la presente descripción se pueden combinar con uno o más inhibidores de las siguientes quinasas para el tratamiento del cáncer: Akt1, Akt2, Akt3, BCL2, CDK4/6, TGF- β R, PKA, PKG, PKC, CaM-quinasa, fosforilasa quinasa, MEKK, ERK, MAPK, mTOR, EGFR, HER2, HER3, HER4, INS-R, IDH2, IGF-1R, IR-R, PDGF α R, PDGF β R, PI3K (alpha, beta, gamma, delta, y múltiple y selectivo), CSF1R, KIT, FLK-II, KDR/FLK-1, FLK-4, flt-1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, c-Met, PARP, Ron, Sea, TRKA, TRKB, TRKC, TAM quinasas (Axl, Mer, Tyro3), FLT3, VEGFR/Flt2, Flt4, EphA1, EphA2, EphA3, EphB2, EphB4, Tie2, Src, Fin, Lck, Fgr, Btk, Fak, SYK, FRK, JAK, ABL, ALK y B-Raf. En algunas modalidades, los compuestos de la presente descripción se pueden combinar con uno o más de los siguientes inhibidores para el tratamiento de cáncer o infecciones. Los ejemplos no taxativos de inhibidores que se pueden combinar con los compuestos de la presente descripción para el tratamiento del cáncer e infecciones incluyen un inhibidor de FGFR (FGFR1, FGFR2, FGFR3 o FGFR4, por ejemplo, pemigatinib (INCB54828), INCB62079), un Inhibidor de EGFR (también conocido como ErB-1 o HER-1; por ejemplo, erlotinib, gefitinib, vandetanib, orsimertinib, cetuximab, necitumumab o panitumumab), un inhibidor de VEGFR o bloqueador de vías (por ejemplo, bevacizumab, pazopanib, sunitinib, sorafenib, axitinib, regorafenib, ponatinib,

cabozantinib, vandetanib, ramucirumab, lenvatinib, ziv-aflibercept), un inhibidor de PARP (por ejemplo, olaparib, rucaparib, veliparib o niraparib), un inhibidor de JAK (JAK1 y/o JAK2; por ejemplo, ruxolitinib o baricitinib; o JAK1; por ejemplo, itacitinib (INCB39110), INCB052793 o INCB054707), un inhibidor de IDO, (por ejemplo, epacadostat, NLG919 o BMS-986205, MK7162), un inhibidor de LSD1 (por ejemplo, GSK2979552, INCB59872 e INCB60003), un inhibidor de TDO, un inhibidor de PI3K-delta (por ejemplo, parsaclisib (INCB50465) o INCB50797), un inhibidor de PI3K-gamma como el inhibidor selectivo de PI3K-gamma, un inhibidor de Pim (por ejemplo, INCB53914), un inhibidor de CSF1R, un receptor de tirosina quinasas TAM (Tyro-3, Axl y Mer, por ejemplo, INCB081776), un antagonista del receptor de adenosina (por ejemplo, antagonista del receptor A2a/A2b), un inhibidor de HPK1, un inhibidor del receptor de quimiocinas (por ejemplo, inhibidor de CCR2 o CCR5), un inhibidor de la fosfatasa SHP1/2, un inhibidor de la histona desacetilasa (HDAC), como un inhibidor de HDAC8, un inhibidor de la angiogénesis, un inhibidor del receptor de interleucina, bromo e inhibidores de eslabones de la familia extraterminal (por ejemplo, inhibidores de bromodominio o inhibidores de BET como INCB54329 e INCB57643), inhibidores de c-MET (por ejemplo, capmatinib), un anticuerpo anti-CD19 (por ejemplo, tafasitamab), un inhibidor de ALK2 (por ejemplo, INCB00928); o combinaciones de estos.

En algunas modalidades, el compuesto o la sal descritos en la presente se administra con un inhibidor de PI3K δ . En algunas modalidades, el compuesto o sal descritos en el presente documento se administran con un inhibidor de JAK. En algunas modalidades, el compuesto o la sal descritos en la presente se administra con un inhibidor de JAK1 o JAK2 (por ejemplo, baricitinib o ruxolitinib). En algunas modalidades, el compuesto o la sal descritos en la presente se administra con un inhibidor de JAK1. En algunas modalidades, el compuesto o la sal descrita en la presente se administra con un inhibidor de JAK1, que se selecciona en JAK2.

Además, para tratar el cáncer y otras enfermedades proliferativas, los compuestos descritos en la presente se pueden usar en combinación con terapias objetivo tales como, por ejemplo, inhibidores de c-MET (por ejemplo, capmatinib), un anticuerpo anti-CD19 (por ejemplo, tafasitamab), un inhibidor de ALK2 (por ejemplo, INCB00928); o combinaciones de estos.

Los ejemplos de anticuerpos para su uso en terapia de combinación incluyen, de modo no taxativo, trastuzumab (por ejemplo, anti-HER2), ranibizumab (por ejemplo, anti-VEGF-A), bevacizumab (AVASTINTM, por ejemplo, anti-VEGF), panitumumab (por ejemplo, anti-EGFR), cetuximab (por ejemplo, anti-EGFR), rituxan (por ejemplo, anti-CD20) y anticuerpos dirigidos contra c-MET.

Se pueden usar uno o más de los siguientes agentes en combinación con los

compuestos de la presente descripción y se presentan como una lista no taxativa: un agente citostático, cisplatino, doxorubicina, taxotere, taxol, etopósido, irinotecán, camptosar, topotecán, paclitaxel, docetaxel, epotilonas, tamoxifeno, 5-fluorouracilo, metotrexato, temozolomida, ciclofosfamida, SCH 66336, R115777, L778,123, BMS 214662, IRESSA™(gefitinib), TARCEVA™ (erlotinib), anticuerpos de EGFR, intrón, ara-C, adriamicina, citoxano, gemcitabina, uracilo mostaza, clormetina, ifosfamida, melfalán, clorambucilo, pipobroman, trietilenmelamina, trietilentiofosforamina, busulfano, carmustina, lomustina, estreptozocina, dacarbazina, floxuridina, citarabina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fludarabina fosfato, oxaliplatino, leucovirino, ELOXATIN™ (oxaliplatino), pentostatina, vinblastina, vincristina, vindesina, bleomicina, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, mitramicina, desoxicoformicina, mitomicina-C, L-asparaginasa, tenipósido 17.alfa.-etinilestradiol, dietilestilbestrol, testosterona, prednisona, fluoximesterona, propionato de dromostanolona, testolactona, megestrolacetato, metilprednisolona, metiltestosterona, prednisolona, triamcinolona, clorotrianiseno, hidroxiprogesterona, aminoglutetimida, prednisolona, triamcinolona, clorotrianiseno, hidroxiprogesterona, aminoglutetimida, estramustina, medroxiprogesteronacetato, leuprolida, flutamida, toremifeno, goserelina, carboplatino, hidroxíurea, amsacrina, procarbazona, mitotano, mitoxantrona, levamisol, navelbino, anastrozol, letrozol, capecitabina, reloxafina, droloxafina, hexametilmelamina, Avastin, HERCEPTIN™ (trastuzumab), BEXXAR™ (tositumomab), VELCADE™ (bortezomib), ZEVALIN™ (ibritumomab tiuxetan), TRISENOX™ (tríóxido de arsénico), XELODA™ (capecitabina), vinorelbina, porfímero, ERBITUX™ (cetuximab), tiotepa, altretamina, melfalán, trastuzumab, lerozol, fulvestrant, exemestano, isofosfamida, rituximab, C225 (cetuximab), Campath (alemtuzumab), clofarabina, cladribina, aphidicolon, rituxan, sunitinib, dasatinib, tezacitabina, Sml1, fludarabina, pentostatina, triapina, didox, trimidox, amidox, 3-AP y MDL-101,731.

Los compuestos de la presente descripción se pueden usar además en combinación con otros métodos de tratamiento de cánceres, por ejemplo mediante quimioterapia, radioterapia, terapia dirigida a tumores, terapia adyuvante, inmunoterapia o cirugía. Los ejemplos de inmunoterapia incluyen tratamiento con citocinas (por ejemplo, interferones, GM-CSF, G-CSF, IL-2), inmunoterapia CRS-207, vacuna contra el cáncer, anticuerpo monoclonal, anticuerpo biespecífico o multiespecífico, conjugado de anticuerpo y fármaco, transferencia de linfocitos T adoptivos, agonistas del receptor Toll, agonistas de RIG-I, viroterapia oncolítica y moléculas pequeñas inmunomoduladoras, que incluyen talidomida o inhibidor de JAK1/2, inhibidor de PI3Kδ y similares. Los compuestos se pueden administrar en combinación con uno o más

fármacos contra el cáncer, tales como un agente quimioterapéutico. Los ejemplos de quimioterapéuticos incluyen cualquiera de: abarelix, aldesleukina, alemtuzumab, alitretinoin, alopurinol, altretamina, anastrozol, trióxido arsénico, asparaginasa, azacitidina, bevacizumab, bexaroteno, baricitinib, bleomicina, bortezomib, busulfán intravenoso, busulfán oral, calusterona, capecitabina, carboplatino, carmustina, cetuximab, clorambucilo, cisplatina, cladribina, clofarabina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, dalteparina sódica, dasatinib, daunorrubicina, decitabina, denileukina, denileukina diftitox, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina, propionato de dromostanolona, eculizumab, epirubicina, erlotinib, estramustina, fosfato de etopósido, etopósido, exemestano, citrato de fentanilo, filgrastim, floxuridina, fludarabina, fluorouracilo, fulvestrant, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab ozogamicina, acetato de goserelina, acetato de histrelina, ibritumomab tiuxetán, idarrubicina, ifosfamida, mesilato de imatinib, interferón alfa 2a, irinotecán, ditosilato de lapatinib, lenalidomida, letrozol, leucovorina, acetato de leuprolida, levamisol, lomustina, mecloretamina, acetato de megestrol, melfalán, mercaptopurina, metotrexato, metoxsalen, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, fenpropionato de nandrolona, nelarabina, nofetumomab, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, panitumumab, pegaspargasa, pegfilgrastim, pemetrexed disódico, pentostatina, pipobroman, plicamicina, procarbazona, quinacrina, rasburicasa, rituximab, ruxolitinib, sorafenib, estreptozocina, sunitinib, maleato de sunitinib, tamoxifeno, temozolomida, tenipósido, testolactona, talidomida, tioguanina, tiotepa, topotecan, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, tretinoína, mostaza de uracilo, valrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina, vorinostat y zoledronato.

Los ejemplos adicionales de quimioterapéuticos incluyen inhibidores del proteosoma (por ejemplo, bortezomib), talidomida, revlimid y agentes que dañan el ADN tales como melfalán, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, etopósido, carmustina y similares.

Los esteroides de ejemplo incluyen corticosteroides tales como dexametasona o prednisona.

Los ejemplos de inhibidores de Bcr-Abl incluyen mesilato de imatinib (GLEEVAC™), nilotinib, dasatinib, bosutinib y ponatinib, y sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico. Otros ejemplos de inhibidores de Bcr-Abl adecuados incluyen los compuestos, y sus sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico, de los géneros y especies descritos en las patentes de EE.UU. n.º 5,521,184, WO 04/005281 y n.º de serie EE. UU. 60/578,491.

Los ejemplos de inhibidores de Flt-3 adecuados incluyen midostaurina, lestaurtinib, linifanib, sunitinib, sunitinib, maleato, sorafenib, quizartinib, crenolanib, pacritinib, tandutinib, PLX3397 y ASP2215, y sus sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico. Otros ejemplos de inhibidores de Flt-3 adecuados incluyen compuestos y sus sales aceptables desde

un punto de vista farmacéutico, como se describe en las patentes WO 03/037347, WO 03/099771 y WO 04/046120.

Los ejemplos de inhibidores de RAF adecuados incluyen dabrafenib, sorafenib y vemurafenib, y sus sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico. Otros ejemplos de inhibidores de RAF adecuados incluyen compuestos y sus sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico, como se describe en las patentes WO 00/09495 y WO 05/028444.

Los ejemplos de inhibidores de FAK adecuados incluyen VS-4718, VS-5095, VS-6062, VS-6063, BI853520 y GSK2256098, y sus sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico. Otros ejemplos de inhibidores de FAK adecuados incluyen compuestos y sus sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico, como se describe en las patentes WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 y WO 01/014402.

Los ejemplos de inhibidores de CDK4/6 adecuados incluyen palbociclib, ribociclib, trilaciclib, lerociclib y abemaciclib, y sus sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico. Otros ejemplos de inhibidores de CDK4/6 adecuados incluyen compuestos y sus sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico, como se describe en las patentes WO 09/085185, WO 12/129344, WO 11/101409, WO 03/062236, WO 10/075074 y WO 12/061156.

En algunas modalidades, los compuestos de la descripción pueden usarse en combinación con uno o más inhibidores de cinasas adicionales que incluyen imatinib, en particular, para el tratamiento de pacientes con resistencia a imatinib u otros inhibidores de cinasas.

En algunas modalidades, los compuestos de la descripción se pueden usar en combinación con un quimioterapéutico en el tratamiento del cáncer y pueden mejorar la respuesta al tratamiento en comparación con la respuesta al agente quimioterapéutico solo, sin exacerbar sus efectos tóxicos. En algunas modalidades, los compuestos de la descripción se pueden usar en combinación con un quimioterapéutico proporcionado en la presente. Por ejemplo, los agentes farmacéuticos adicionales usados en el tratamiento del mieloma múltiple pueden incluir, de modo no taxativo, melfalán, melfalán más prednisona [MP], doxorubicina, dexametasona y Velcade (bortezomib). Otros agentes adicionales utilizados en el tratamiento del mieloma múltiple incluyen inhibidores de cinasa Bcr-Abl, Flt-3, RAF y FAK. En algunas modalidades, el agente es un agente alquilante, un inhibidor del proteasoma, un corticosteroide o un agente inmunomodulador. Los ejemplos de un agente alquilante incluyen ciclofosfamida (CY), melfalán (MEL) y bendamustina. En algunas modalidades, el inhibidor del proteasoma es carfilzomib. En algunas modalidades, el corticosteroide es dexametasona (DEX). En algunas modalidades, el agente inmunomodulador es lenalidomida (LEN) o pomalidomida (POM). Los

efectos aditivos o sinérgicos son resultados deseables de combinar un inhibidor de CDK2 de la presente descripción con un agente adicional.

Los agentes se pueden combinar con el presente compuesto en una forma de dosificación única o continua, o los agentes se pueden administrar simultánea o
5 secuencialmente como formas de dosificación separadas.

Los compuestos de la presente descripción se pueden usar en combinación con uno o más inhibidores o una o más terapias para el tratamiento de infecciones. Los ejemplos de infecciones incluyen infecciones virales, infecciones bacterianas, infecciones por hongos o infecciones por parásitos.

10 En algunas modalidades, se administra un corticosteroide tal como dexametasona a un paciente en combinación con los compuestos de la descripción en los que la dexametasona se administra de forma intermitente en lugar de forma continua.

Los compuestos de la Fórmula (I) o cualquiera de las fórmulas tal como se describen en la presente, un compuesto como se enumera en cualquiera de las reivindicaciones y se describe en la presente, o sus sales se pueden combinar con otro agente inmunogénico, como
15 células cancerosas, antígenos tumorales purificados (incluidas proteínas recombinantes, péptidos y moléculas de carbohidratos), células y células transfectadas con genes que codifican citocinas inmunoestimuladoras. Los ejemplos no taxativos de vacunas tumorales que pueden usarse incluyen péptidos de antígenos de melanoma, tales como péptidos de gp100, antígenos
20 MAGE, Trp-2, MARTI y/o tirosinasa, o células tumorales transfectadas para expresar la citoquina GM-CSF.

Los compuestos de la Fórmula (I) o cualquiera de las fórmulas descritas en la presente, un compuesto citado en cualquiera de las reivindicaciones y descrito en la presente, o las sales de estos, se pueden usar en combinación con un protocolo de vacunación para el tratamiento
25 del cáncer. En algunas modalidades, las células tumorales se transducen para expresar GM-CSF. En algunas modalidades, las vacunas contra tumores incluyen las proteínas de virus implicados en cánceres humanos tales como virus del papiloma humano (VPH), virus de la hepatitis (HBV y HCV) y virus del sarcoma del herpes de Kaposi (KHSV). En algunas modalidades, los compuestos de la presente descripción pueden usarse en combinación con
30 antígenos específicos de tumores tales como proteínas de choque térmico aisladas del propio tejido tumoral. En algunas modalidades, los compuestos de la Fórmula (I) o cualquiera de las fórmulas descritas en la presente, un compuesto como se enumera en cualquiera de las reivindicaciones y descrito en la presente, o las sales de estos, se pueden combinar con inmunización de células dendríticas para activar potentes respuestas antitumorales.

Los compuestos de la presente descripción pueden usarse en combinación con péptidos macrocíclicos biespecíficos que se dirigen a células efectoras que expresan el receptor Fe alfa o Fe gamma a células tumorales. Los compuestos de la presente descripción también se pueden combinar con péptidos macrocíclicos que activan la respuesta inmune del huésped.

5 En algunas modalidades adicionales, se pueden administrar combinaciones de los compuestos de la descripción con otros agentes terapéuticos a un paciente antes, durante y/o después de un trasplante de médula ósea o de células madre. Los compuestos de la presente descripción se pueden usar en combinación con el trasplante de médula ósea para el tratamiento de una variedad de tumores de origen hematopoyético.

10 Los compuestos de la Fórmula (I) o cualquiera de las fórmulas tal como se describe en la presente, un compuesto como se enumera en cualquiera de las reivindicaciones y descrito en la presente, o las sales de estos, se pueden usar en combinación con vacunas, para estimular la respuesta inmunitaria a patógenos, toxinas, y autoantígenos. Los ejemplos de patógenos para los que este enfoque terapéutico puede ser particularmente útil incluyen patógenos para
15 los que actualmente no existe una vacuna eficaz, o patógenos para los que las vacunas convencionales son menos que completamente eficaces. Estos incluyen, de modo no taxativo, VIH, Hepatitis (A, B y C), Influenza, Herpes, Giardia, Malaria, Leishmania, Staphylococcus aureus, Pseudomonas Aeruginosa.

Los virus que causan infecciones que se pueden tratar mediante los métodos de la
20 presente divulgación incluyen, de modo no taxativo, virus del papiloma humano, influenza, virus de la hepatitis A, B, C o D, adenovirus, poxvirus, virus del herpes simple, citomegalovirus humano, virus del síndrome respiratorio agudo severo, virus del Ébola, virus del sarampión, virus del herpes (por ejemplo, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II y CMV, virus de Epstein Barr), flavivirus, echovirus, rinovirus, virus coxsackie, cornovirus, virus respiratorio sincitial, virus de
25 las paperas, rotavirus, virus del sarampión, virus de la rubéola, parvovirus, virus vaccinia, virus HTLV, virus del dengue, virus del papiloma, virus del molusco, poliovirus, virus de la rabia, virus JC y virus de la encefalitis arboviral.

Las bacterias patógenas que causan infecciones tratables mediante los métodos de la descripción incluyen, entre otras, clamidia, bacterias rickettsiales, micobacterias, estafilococos,
30 estreptococos, neumococos, meningococos y conococos, klebsiella, proteus, serratia, pseudomonas, legionella, difteria, salmonella, bacili, cólera, tétanos, botulismo, ántrax, peste, leptoespirosis y bacterias de la enfermedad de Lyme.

Los hongos patógenos que provocan infecciones tratables mediante los métodos de la descripción incluyen, de modo no taxativo, Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis, etc.),

Cryptococcus neoformans, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger*, etc.), Género *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizopus*), *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* e *Histoplasma capsulatum*.

Los parásitos patógenos que causan infecciones tratables mediante los métodos de la descripción incluyen, de modo no taxativo, *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* sp., *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* sp., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii* y *Nippostrongylus brasiliensis*.

Cuando se administra más de un agente farmacéutico a un paciente, estos se pueden administrar simultáneamente, independientemente, secuencialmente o en combinación (por ejemplo, para más de dos agentes).

Los métodos para la administración segura y eficaz de la mayoría de estos agentes quimioterapéuticos son conocidos por los expertos en la técnica. Además, su administración está descrita en la bibliografía estándar. Por ejemplo, la administración de muchos de los agentes quimioterapéuticos se describe en "Physicians' Desk Reference" (PDR, por ejemplo, edición de 1996, Medical Economics Company, Montvale, NJ), cuya descripción se incorpora a la presente mediante esta referencia como se estableció en su totalidad.

II. Terapias de puntos de control inmunitarios

Los compuestos de la presente descripción se pueden usar en combinación con uno o más inhibidores de puntos de control inmunitarios para el tratamiento de enfermedades, por ejemplo, cáncer o infecciones. Los inhibidores del punto de control inmunitario de ejemplo incluyen inhibidores contra las moléculas de puntos de control inmunitarios como CBL-B, CD20, CD28, CD40, CD70, CD122, CD96, CD73, CD47, CDK2, GITR, CSF1R, JAK, PI3K delta, PI3K gamma, TAM, arginasa, HPK1, CD137 (también conocido como 4-1BB), ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, TLR (TLR7/8), TIGIT, CD112R, VISTA, PD-1, PD-L1 y PD-L2. En algunas modalidades, la molécula de puntos de control inmunitarios es una molécula de punto de control estimuladora seleccionada de CD27, CD28, CD40, ICOS, OX40, GITR y CD137. En algunas modalidades, la molécula del punto de control inmunitario es una molécula del punto de control inhibidor seleccionada de A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, TIM3, TIGIT y VISTA. En algunas modalidades, los compuestos proporcionados en la presente memoria se pueden usar en combinación con uno o más agentes seleccionados de inhibidores de KIR, inhibidores de TIGIT, inhibidores de LAIR1, inhibidores de CD160, inhibidores de 2B4 e inhibidores de TGFR beta.

En algunas modalidades, los compuestos proporcionados en la presente memoria se pueden usar en combinación con uno o más agonistas de moléculas de puntos de control inmunitarios, por ejemplo, OX40, CD27, GITR y CD137 (también conocido como 4-1BB).

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un anticuerpo anti-PD1, un anticuerpo anti-PD-L1 o un anticuerpo anti-CTLA-4.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de PD-1 o PD-L1, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 o anti-PD-L1. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1 es nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, durvalumab, avelumab, cemiplimab, atezolizumab, avelumab, tislelizumab, spartalizumab (PDR001), cetrelimab (JNJ-63723283), toripalimab (JS001), camrelizumab (SHR-1210), sintilimab (IBI308), AB122 (GLS-010), AMP-224, AMP-514/MEDI-0680, BMS936559, JTX-4014, BGB-108, SHR-1210, MEDI4736, FAZ053, BCD-100, KN035, CS1001, BAT1306, LZM009, AK105, HLX10, SHR-1316, CBT-502 (TQB2450), A167 (KL-A167), STI-A101 (ZKAB001), CK-301, BGB-A333, MSB-2311, HLX20, TSR-042 o LY3300054.

En algunas modalidades, el inhibidor de PD-1 o PD-L1 es uno descrito en la patente estadounidense núm. 7,488,802, 7,943,743, 8,008,449, 8,168,757, 8,217, 149, o 10,308,644; publicación estadounidense núm. 2017/0145025, 2017/0174671, 2017/0174679, 2017/0320875, 2017/0342060, 2017/0362253, 2018/0016260, 2018/0057486, 2018/0177784, 2018/0177870, 2018/0179179, 2018/0179201, 2018/0179202, 2018/0273519, 2019/0040082, 2019/0062345, 2019/0071439, 2019/0127467, 2019/0144439, 2019/0202824, 2019/0225601, 2019/0300524, o 2019/0345170; o pub. PCT núm. WO 03042402, WO 2008156712, WO 2010089411, WO 2010036959, WO 2011066342, WO 2011159877, WO 2011082400 o WO 2011161699, cada uno de los cuales se incorporan en la presente mediante referencia en su totalidad. En algunas modalidades, el inhibidor de PD-L1 es INCB086550.

En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-PD-1. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab, spartalizumab, camrelizumab, cetrelimab, toripalimab, sintilimab, AB122, AMP-224, JTX-4014, BGB-108, BCD-100, BAT1306, LZM009, AK105, HLX10 o TSR-042. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab, spartalizumab, camrelizumab, cetrelimab, toripalimab o sintilimab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es cemiplimab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es spartalizumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es camrelizumab. En algunas modalidades, el anticuerpo

anti-PD-1 es cetrelimab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es toripalimab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es sintilimab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es AB122. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es AMP-224. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es JTX-4014. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es BGB-108. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es BCD-100. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es BAT1306. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es LZM009. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es AK105. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es HLX10. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es TSR-042. En algunas modalidades, el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 es nivolumab o pembrolizumab. En algunas modalidades, el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 es MGA012 (INCMGA0012; retifanlimab). En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD1 es SHR-1210. Otro/s agente/s anticancerígeno/s incluyen terapias de anticuerpos como 4-1BB (por ejemplo, urelumab, utomilumab). En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de PD-L1, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-PD-L1. En algunas modalidades, el anticuerpo monoclonal anti-PD-L1 es atezolizumab, avelumab, durvalumab, tislelizumab, BMS-935559, MEDI4736, atezolizumab (MPDL3280A; también conocido como RG7446), avelumab (MSB0010718C), FAZ053, KN035, CS1001, SHR-1316, CBT-502, A167, STI-A101, CK-301, BGB-A333, MSB-2311, HLX20 o LY3300054. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es atezolizumab, avelumab, durvalumab o tislelizumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es atezolizumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es avelumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es durvalumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es tislelizumab. En algunas modalidades, un anticuerpo PD-L1 es BMS-935559. En algunas modalidades, un anticuerpo PD-L1 es MEDI4736. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es FAZ053. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es KN035. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es CS1001. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es SHR-1316. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es CBT-502. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es A167. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es STI-A101. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es CK-301. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es BGB-A333. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es MSB-2311. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es HLX20. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es LY3300054.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es una molécula pequeña que se une a PD-L1, o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es una molécula pequeña que se une e internaliza PD-L1 o una sal aceptables desde un punto de vista farmacéutico de esta. En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un compuesto seleccionado entre los de US 2018/0179201, US 2018/0179197, US 2018/0179179, US 2018/0179202, US 2018/0177784, US 2018/0177870, n.o de serie de EE. UU. 16/369,654 (presentada el 29 de marzo de 2019), y n.o de serie de EE. UU 62/688,164, o una sal aceptable desde un punto de vista farmacéutico de este, cada uno de los cuales se incorpora en la presente memoria mediante esta referencia en su totalidad.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de KIR, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y TGFR beta.

En algunas modalidades, el inhibidor es MCLA-145.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de CTLA-4, por ejemplo, un anticuerpo anti-CTLA-4. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CTLA-4 es ipilimumab, tremelimumab, AGEN1884 o CP-675,206.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de LAG3, por ejemplo, un anticuerpo anti-LAG3. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG3 es BMS-986016, LAG525, INCAGN2385 o eftilagimod alfa (IMP321).

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de CD73. En algunas modalidades, el inhibidor de CD73 es oleclumab.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de TIGIT. En algunas modalidades, el inhibidor de TIGIT es OMP-31M32.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de VISTA. En algunas modalidades, el inhibidor de VISTA es JNJ-61610588 o CA-170.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de B7-H3. En algunas modalidades, el inhibidor de B7-H3 es enoblituzumab, MGD009 u 8H9.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de KIR. En algunas modalidades, el inhibidor de KIR es lirilumab o IPH4102.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de A2aR. En algunas modalidades, el inhibidor de A2aR es CPI-444.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de TGF-beta. En algunas modalidades, el inhibidor de TGF-beta es trabedersen, galusertinib o M7824.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de PI3K-gamma. En algunas modalidades, el inhibidor de PI3K-gamma es IPI-549.

5 En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de CD47. En algunas modalidades, el inhibidor de CD47 es Hu5F9-G4 o TTI-621.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de CD73. En algunas modalidades, el inhibidor de CD73 es MEDI9447.

10 En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de CD70. En algunas modalidades, el inhibidor de CD70 es cusatuzumab o BMS-936561.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de TIM3, por ejemplo, un anticuerpo anti-TIM3. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-TIM3 es INCAGN2390, MBG453 o TSR-022.

15 En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de CD20, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD20. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD20 es obinutuzumab o rituximab.

20 En algunas modalidades, el agonista de una molécula de puntos de control inmunitarios es un agonista de OX40, CD27, CD28, GITR, ICOS, CD40, TLR7/8 y CD137 (también conocido como 4-1BB).

En algunas modalidades, el agonista de CD137 es urelumab. En algunas modalidades, el agonista de CD137 es utomilumab.

25 En algunas modalidades, el agonista de una molécula de puntos de control inmunitarios es un inhibidor de GITR. En algunas modalidades, el agonista de GITR es TRX518, MK-4166, INCAGN1876, MK-1248, AMG228, BMS-986156, GWN323, MEDI1873 o MEDI6469. En algunas modalidades, el agonista de una molécula de puntos de control inmunitarios es un agonista de OX40, por ejemplo, anticuerpo agonista OX40 o proteína de fusión OX40L. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-OX40 es INCAGN01949, MEDI0562 (tavolimab), MOXR-0916, PF-04518600, GSK3174998, BMS-986178 o 9B12. En algunas modalidades, la

30 proteína de fusión OX40L es MEDI6383.

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de puntos de control inmunitarios es un agonista de CD40. En algunas modalidades, el agonista de CD40 es CP-870893, ADC-1013, CDX-1140, SEA-CD40, RO7009789, JNJ-64457107, APX-005M o Chi Lob 7/4.

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de puntos de control inmunitarios

es un agonista de ICOS. En algunas modalidades, el agonista de ICOS es GSK-3359609, JTX-2011 o MEDI-570.

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de puntos de control inmunitarios es un agonista de CD28. En algunas modalidades, el agonista de CD28 es theralizumab.

5 En algunas modalidades, el agonista de una molécula de puntos de control inmunitarios es un agonista de CD27. En algunas modalidades, el agonista de CD27 es varlilumab.

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de puntos de control inmunitarios es un agonista de TLR7/8. En algunas modalidades, el agonista de TLR7/8 es MEDI9197.

10 Los compuestos de la presente descripción pueden usarse en combinación con anticuerpos biespecíficos. En algunas modalidades, uno de los dominios del anticuerpo biespecífico se dirige al receptor PD-1, PD-L1, CTLA-4, GITR, OX40, TIM3, LAG3, CD137, ICOS, CD3 o TGF β . En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico se une a PD-1 y PD-L1. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico se une a PD-1 y PD-L1 es MCLA-136. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico se une a PD-L1 y CTLA-4. En algunas
15 modalidades, el anticuerpo biespecífico se une a PD-L1 y CTLA-4 es AK104.

En algunas modalidades, los compuestos de la divulgación pueden usarse en combinación con uno o más inhibidores de enzimas metabólicas. En algunas modalidades, el inhibidor de enzimas metabólicas es un inhibidor de IDO1, TDO o arginasa. Los ejemplos de inhibidores de IDO1 incluyen epacadostat, NLG919, BMS-986205, PF-06840003, IOM2983,
20 RG-70099 y LY338196. Los inhibidores de los inhibidores de la arginasa incluyen INCB1158.

Tal como se proporciona en todo el documento, los compuestos, inhibidores, agentes, etc. adicionales pueden combinarse con el presente compuesto en una forma farmacéutica única o continua, o pueden administrarse simultánea o secuencialmente como formas farmacéuticas separadas.

25

Formulaciones, formas de dosificación y administración

Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los compuestos de la presente descripción se pueden administrar en forma de composiciones farmacéuticas. Por tanto, la presente descripción proporciona una composición que comprende un compuesto de la
30 Fórmula I, II o cualquiera de las fórmulas que se describen en la presente, un compuesto como se menciona en cualquiera de las reivindicaciones y se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o cualquier modalidad de estos, y al menos un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones se pueden preparar de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica y se pueden administrar mediante una

variedad de vías, dependiendo de si está indicado un tratamiento local o sistémico y del área a tratar. La administración puede ser tópica (lo que incluye transdérmica, epidérmica, oftálmica y para membranas de la mucosa que incluyen la administración intranasal, vaginal y rectal), pulmonar (por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluso por medio de nebulizador; intratraqueal o intranasal), oral o parenteral. *La administración parenteral incluye intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal, intramuscular o inyección o infusión; o administración intracraneal, por ejemplo, intratecal o intraventricular.* La administración parenteral puede ser en forma de una sola dosis en bolo o puede ser, por ejemplo, mediante una bomba de perfusión continua. Las composiciones y formulaciones farmacéuticas para administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, ungüentos, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, aerosoles, líquidos y polvos. Pueden ser necesarios o convenientes portadores farmacéuticos, bases acuosas, en polvo u oleosas, espesantes, y similares, convencionales.

Esta invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como el ingrediente activo, el compuesto de la presente descripción o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, en combinación con uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables. En algunas modalidades, la composición es adecuada para la administración tópica. Al realizar las composiciones de la invención, el ingrediente activo se mezcla típicamente con un excipiente, se diluye por un excipiente o se incluye dentro de este portador, por ejemplo, en forma de cápsula, sobrecito, papel u otro contenedor. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido, que actúa como vehículo, portador o medio para el ingrediente activo. Por tanto, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un medio sólido o líquido), pomadas que contienen, por ejemplo, hasta 10 % en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.

Al preparar una formulación, el compuesto activo se puede moler para proporcionar el tamaño de partícula apropiado antes de combinarlo con los otros ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, se puede moler hasta un tamaño de partícula inferior a 200 mesh. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partícula se puede ajustar mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, alrededor de 40 mesh.

Los compuestos de la invención se pueden moler usando procedimientos de molienda

conocidos, tal como molienda húmeda, para obtener un tamaño de partícula adecuado para la formación de comprimidos y para otros tipos de formulación. Las preparaciones finamente divididas (nanoparticuladas) de los compuestos de la invención pueden prepararse mediante procesos conocidos en la técnica, ver, por ejemplo, WO 2002/000196.

5 Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen, lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma acacia, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir, adicionalmente: agentes lubricantes tales como, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes de suspensión y
10 emulsionantes, agentes conservantes tales como metil y propilhidroxibenzoatos, y agentes endulzantes o agentes saborizantes. Las composiciones de la invención pueden formularse para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo después de la administración al paciente mediante el empleo de procedimientos conocidos en la técnica.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende celulosa
15 microcristalina silicificada (SMCC) y al menos un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la celulosa microcristalina silicificada comprende alrededor de 98 % de celulosa microcristalina y alrededor de 2 % de dióxido de silicio p/p.

En algunas modalidades, la composición es una composición de liberación sostenida
20 que comprende al menos un compuesto descrito en la presente memoria, o una sal aceptable desde un punto de vista farmacéutico de este, y al menos un portador o excipiente aceptable desde un punto de vista farmacéutico. En algunas modalidades, la composición comprende al menos un compuesto descrito en la presente memoria, o una sal aceptable desde un punto de vista farmacéutico de este, y al menos un componente seleccionado entre celulosa
25 microcristalina, lactosa monohidratada, hidroxipropilmetilcelulosa y óxido de polietileno. En algunas modalidades, la composición comprende al menos un compuesto descrito en la presente memoria, o una sal aceptable desde un punto de vista farmacéutico de este, y celulosa microcristalina, lactosa monohidratada e hidroxipropilmetilcelulosa. En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende al menos un compuesto descrito en la presente memoria,
30 o una sal aceptable desde un punto de vista farmacéutico de este, y celulosa microcristalina, lactosa monohidratada y óxido de polietileno. En algunas modalidades, la composición comprende adicionalmente estearato de magnesio o dióxido de silicio. En algunas modalidades, la celulosa microcristalina es Avicel PH102™. En algunas modalidades, la lactosa monohidratada es Fast-flo 316™. En algunas modalidades, la hidroxipropilmetilcelulosa es

hidroxipropilmetilcelulosa 2208 K4M (por ejemplo, Metocel K4 M Premier™) y/o hidroxipropilmetilcelulosa 2208 K100LV (por ejemplo, Metocel K00LV™). En algunas modalidades, el óxido de polietileno es óxido de polietileno WSR 1105 (por ejemplo, Polyox WSR 1105™).

- 5 En algunas modalidades, se usa un proceso de granulación húmeda para producir la composición. En algunas modalidades, se utiliza un proceso de granulación seca para producir la composición.

Las composiciones se pueden formular en una forma de dosificación unitaria, cada dosificación contiene entre alrededor de 5 y alrededor de 1 000 mg (1 g), más comúnmente
10 alrededor entre 100 mg y alrededor de 500 mg del ingrediente activo. En algunas modalidades, cada dosificación contiene alrededor de 10 mg del ingrediente activo. En algunas modalidades, cada dosificación contiene alrededor de 50 mg del ingrediente activo. En algunas modalidades, cada dosificación contiene alrededor de 25 mg del ingrediente activo. La expresión "formas de dosificación unitaria" hace referencia a unidades físicamente distintas adecuadas como dosis
15 unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, cada unidad contiene una cantidad predeterminada del material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

Los componentes usados para formular las composiciones farmacéuticas son de alta pureza y están sustancialmente libres de contaminantes potencialmente dañinos (por ejemplo,
20 al menos de grado alimenticio nacional, generalmente al menos de grado analítico y más típicamente al menos de grado farmacéutico). Particularmente para el consumo humano, la composición se fabrica o formula preferentemente según los estándares de Buenas prácticas de fabricación como se define en las regulaciones aplicables de la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos. Por ejemplo, las formulaciones adecuadas
25 pueden ser estériles y/o sustancialmente isotónicas y/o en total conformidad con todas las regulaciones de Buenas Prácticas de Fabricación de la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos.

El compuesto activo puede ser eficaz en un amplio intervalo de dosis y generalmente se administra en una cantidad eficaz desde un punto de vista terapéutico. Sin embargo, se
30 entenderá que la cantidad del compuesto realmente administrado usualmente la determinará un médico, de acuerdo con las circunstancias relevantes, incluso la afección que se tratará, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

La dosis terapéutica de un compuesto de la presente invención puede variar según, por

ejemplo, el uso particular para el que se realiza el tratamiento, la forma de administración del compuesto, la salud y el estado del paciente y el criterio del médico que prescribe. La proporción o concentración de un compuesto de la invención en una composición farmacéutica puede variar dependiendo de varios factores que incluyen la dosis, las características químicas (por ejemplo, hidrofobicidad) y la vía de administración. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden proporcionarse en una solución amortiguadora fisiológica acuosa que contiene alrededor de 0,1 a alrededor de 10 % p/v del compuesto para la administración parenteral. Algunos intervalos de dosis típicos van desde alrededor de 1 µg/kg a alrededor de 1 g/kg de peso corporal por día. En algunas modalidades, el intervalo de dosis es de alrededor de 0,01 mg/kg a alrededor de 100 mg/kg de peso corporal por día. Es probable que la dosificación dependa de variables tales como el tipo y grado de progresión de la enfermedad o trastorno, el estado de salud general del paciente en particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Las dosis eficaces se pueden extrapolar de curvas de respuesta a la dosis derivadas de sistemas de análisis de modelos animales o in vitro.

Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, el ingrediente activo principal se mezcla con un excipiente farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, el ingrediente activo se dispersa típicamente de manera uniforme a través de toda la composición de modo que se pueda subdividir fácilmente la composición en formas de dosificación unitarias igualmente eficaces tales como comprimidos, píldoras y cápsulas. Esta preformulación sólida se subdivide luego en formas de dosificación unitaria del tipo descrito anteriormente que contienen, por ejemplo, de alrededor de 0,1 a alrededor de 1 000 mg del ingrediente activo de la presente invención.

Los comprimidos o píldoras de la presente invención pueden recubrirse o componerse de otro modo para proporcionar una forma de dosificación que proporcione la ventaja de una acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o píldora puede comprender un componente de dosificación interno y un componente de dosificación externo, y este último tiene la forma de una envoltura sobre el primero. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permite que el componente interno pase intacto al duodeno o se retrase en su liberación. Puede usarse una variedad de materiales para tales capas o revestimientos entéricos, tales materiales incluyen varios ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, alcohol

cetílico y acetato de celulosa.

Las formas líquidas en las que se pueden incorporar los compuestos y composiciones de la presente invención para la administración oral o por inyección incluyen soluciones acuosas, jarabes aromatizados adecuadamente, suspensiones acuosas o oleosas y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares.

Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos aceptables desde un punto de vista farmacéutico, o mezclas de estos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes aceptables desde un punto de vista farmacéutico adecuados como se describió anteriormente. En algunas modalidades, las composiciones se administran por vía respiratoria oral o nasal para un efecto local o sistémico. Las composiciones pueden nebulizarse mediante el uso de gases inertes. Las soluciones nebulizadas se pueden respirar directamente desde el dispositivo nebulizador o el dispositivo nebulizador se puede conectar a una máscara facial, una tienda o una máquina de respiración de presión positiva intermitente. Las composiciones en solución, suspensión o polvo se pueden administrar por vía oral o nasal desde dispositivos que administran la formulación de manera apropiada.

Las formulaciones tópicas pueden contener uno o más portadores convencionales. En algunas modalidades, los ungüentos pueden contener agua y uno o más portadores hidrofóbicos seleccionados de, por ejemplo, parafina líquida, éter alquil de polioxietileno, propilenglicol, vaselina blanca y similares. Las composiciones portadoras de cremas pueden basarse en agua en combinación con glicerol y uno o más componentes, por ejemplo, monoestearato de glicerina, monoestearato de glicerina PEG y alcohol cetilestearílico. Los geles se pueden formular usando alcohol isopropílico y agua, adecuadamente en combinación con otros componentes tales como, por ejemplo, glicerol, hidroxietilcelulosa y similares. En algunas modalidades, las formulaciones tópicas contienen al menos alrededor de 0,1, al menos alrededor de 0,25, al menos alrededor de 0,5, al menos alrededor de 1, al menos alrededor de 2 o al menos alrededor de 5 % en peso del compuesto de la invención. Las formulaciones tópicas se pueden envasar adecuadamente en tubos de, por ejemplo, 100 g que están opcionalmente asociados con instrucciones para el tratamiento de la indicación seleccionada, por ejemplo, psoriasis u otra afección de la piel.

La cantidad de compuesto o composición administrada al paciente variará dependiendo de qué se está administrando, el propósito de la administración, por ejemplo profilaxis o terapia,

el estado del paciente, la forma de administración y simialres. En determinadas aplicaciones terapéuticas, las formulaciones farmacéuticas se administran a un paciente que ya padece una enfermedad o afección, en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente al menos uno de los síntomas de la enfermedad o afección. Las dosis efectivas dependerán del estado de la enfermedad que se esté tratando así como del juicio del médico que lo atiende, dependiendo de factores tales como la gravedad de la enfermedad, la edad, el peso y el estado general del paciente y similares.

Las composiciones administradas a un paciente pueden estar en forma de composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización convencionales o se pueden esterilizar por filtración. Las soluciones acuosas pueden envasarse para su uso en el estado en que se encuentran, o liofilizarse, combinándose la preparación liofilizada con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones de compuestos estará típicamente entre 3 y 11, más preferiblemente entre 5 y 9 y lo más preferiblemente entre 7 y 8. Se entenderá que el uso de algunos de los excipientes, vehículos o estabilizadores anteriores dará como resultado la formación de sales farmacéuticas.

La dosis terapéutica de un compuesto de la presente invención puede variar según, por ejemplo, el uso particular para el que se realiza el tratamiento, la forma de administración del compuesto, la salud y el estado del paciente y el criterio del médico que prescribe. La proporción o concentración de un compuesto de la invención en una composición farmacéutica puede variar dependiendo de varios factores que incluyen la dosis, las características químicas (por ejemplo, hidrofobicidad) y la vía de administración. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden proporcionarse en una solución amortiguadora fisiológica acuosa que contiene alrededor de 0,1 a alrededor de 10 % p/v del compuesto para la administración parenteral. Algunos intervalos de dosis típicos son de alrededor de 1 µg/kg a alrededor de 1 g/kg del peso corporal por día. En algunas modalidades, el intervalo de dosis es de alrededor de 0,01 mg/kg a alrededor de 100 mg/kg de peso corporal por día. Es probable que la dosificación dependa de variables tales como el tipo y grado de progresión de la enfermedad o trastorno, el estado de salud general del paciente en particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Las dosis eficaces se pueden extrapolar de curvas de respuesta a la dosis derivadas de sistemas de análisis de modelos animales o *in vitro*.

Compuestos etiquetados y métodos de ensayo

Otro aspecto de la presente invención hace referencia a los compuestos etiquetados de la descripción (radioetiquetados, fluorescentes, etc.) que serían útiles no solo en técnicas de formación de imágenes sino también en ensayos, tanto *in vitro* como *in vivo*, para localizar y cuantificar la proteína KRAS en muestras de tejido, incluidas las humanas, y para identificar ligandos de KRAS mediante la inhibición de la unión de un compuesto etiquetado. La sustitución de uno o más de los átomos de los compuestos de la presente descripción también puede ser útil para generar ADME (Adsorción, Distribución, Metabolismo y Excreción) diferenciados. Por consiguiente, la presente invención incluye ensayos de unión de KRAS que contienen tales compuestos etiquetados o sustituidos.

La presente descripción incluye, además, compuestos de la descripción etiquetados isotópicamente. Un compuesto "etiquetado isotópicamente" o "radioetiquetado" es un compuesto de la descripción donde uno o más átomos se reemplazan o sustituyen con un átomo que tiene una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o el número másico que se encuentra típicamente en la naturaleza (es decir, de origen natural). Los radionucleidos adecuados que pueden incorporarse en compuestos de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, ^2H (también escrito como D para deuterio), ^3H (también escrito como T para tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I . Por ejemplo, uno o más átomos de hidrógeno en un compuesto de la presente descripción pueden sustituirse por átomos de deuterio (por ejemplo, uno o más átomos de hidrógeno de un grupo alquilo C_{1-6} de la Fórmula I, II o cualquier fórmula proporcionada en la presente pueden sustituirse opcionalmente por átomos de deuterio, tal como $-\text{CD}_3$ sustituyéndose por $-\text{CH}_3$). En algunas modalidades, los grupos alquilo en la Fórmula I, II o cualquier fórmula proporcionada en la presente pueden perdeuterarse.

Uno o más átomos constituyentes de los compuestos que se presentan en la presente pueden reemplazarse o sustituirse con isótopos de los átomos en abundancia natural o no natural. En algunas modalidades, el compuesto incluye al menos un átomo de deuterio. En algunas modalidades, el compuesto incluye dos o más átomos de deuterio. En algunas modalidades, el compuesto incluye 1-2, 1-3, 1-4, 1-5 o 1-6 átomos de deuterio. En algunas modalidades, todos los átomos de hidrógeno en un compuesto pueden reemplazarse o sustituirse por átomos de deuterio.

Se conocen en la técnica métodos sintéticos para incluir isótopos en compuestos orgánicos (Deuterium Labeling in Organic Chemistry por Alan F. Thomas (Nueva York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange por Jens Atzrodt, Volker Derdau, torsten Fey y Jochen Zimmermann, Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 7744-7765; The

Organic Chemistry of Isotopic Labelling by James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011). Los compuestos etiquetados con isótopos se pueden usar en diversos estudios, tales como espectroscopia de NMR, experimentos de metabolismo y/o ensayos.

La sustitución con isótopos más pesados, tales como el deuterio, puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que son el resultado de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor semivida *in vivo* o requisitos de dosificación reducidos y, por lo tanto, puede preferirse en algunas circunstancias (ver, por ejemplo, A. Kerekes et. al. *J. Med. Chem.* 2011, 54, 201-210; R. Xu et. ál. *J. Label Compd. Radiopharm.* 2015, 58, 308-312). En particular, la sustitución en uno o más sitios del metabolismo puede proporcionar una o más de las ventajas terapéuticas.

El radionúclido que se incorpora en los presentes compuestos radioetiquetados dependerá de la aplicación específica de ese compuesto radioetiquetado. Por ejemplo, para ensayos de competición y marcaje de receptores de adenosina *in vitro*, pueden ser útiles compuestos que incorporan ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I o ^{35}S . Para aplicaciones de imágenes de radio pueden ser útiles ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br o ^{77}Br .

Se entiende que un "compuesto radioetiquetado" o "etiquetado" es un compuesto que tiene incorporado al menos un radionúclido. En algunas modalidades, el radionucleido se selecciona de ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S y ^{82}Br .

La presente descripción puede incluir además métodos sintéticos para incorporar radioisótopos en los compuestos de la descripción. Los métodos sintéticos para incorporar radioisótopos en compuestos orgánicos son bien conocidos en la técnica, y un experto normal en la técnica reconocerá fácilmente los métodos aplicables para los compuestos de la descripción.

Un compuesto etiquetado de la invención se puede usar en un ensayo de selección para identificar y/o evaluar compuestos. Por ejemplo, un compuesto recién sintetizado o identificado (es decir, compuesto de prueba) que está etiquetado puede evaluarse por su capacidad para unirse a una proteína KRAS monitoreando su variación de concentración cuando entra en contacto con el KRAS, a través del seguimiento del marcaje. Por ejemplo, un compuesto de prueba (etiquetado) puede evaluarse por su capacidad para reducir la unión de otro compuesto que se sabe que se une a una proteína KRAS (es decir, un compuesto estándar). Por consiguiente, la capacidad de un compuesto de prueba de competir con el compuesto estándar para unirse a la proteína KRAS se correlaciona directamente con su afinidad de unión. Por el contrario, en algunos otros ensayos de detección, el compuesto estándar está etiquetado y los compuestos de prueba no están etiquetados. Por consiguiente, se controla la concentración del

compuesto estándar etiquetado para evaluar la competencia entre el compuesto estándar y el compuesto de prueba, y así se determina la afinidad de unión relativa del compuesto de prueba.

Kits

5 La presente descripción también incluye kits farmacéuticos útiles, por ejemplo, en el tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos asociados con la actividad de KRAS, tal como cáncer o infecciones, que incluyen uno o más recipientes que contienen una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula I, II, o cualquiera de las modalidades de este. Dichos kits pueden incluir además uno o
10 más de varios componentes de kits farmacéuticos convencionales, tales como, por ejemplo, recipientes con uno o más vehículos aceptables desde un punto de vista farmacéutico, recipientes adicionales, etc., como será fácilmente evidente para los expertos en la técnica. También se pueden incluir en el kit instrucciones, ya sea en forma de prospectos o etiquetas, que indiquen las cantidades de los componentes a administrar, las pautas de administración y/o
15 las pautas para mezclar los componentes.

La invención se describirá con mayor detalle mediante ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos y no pretenden limitar la invención de ninguna manera. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente una variedad de
20 parámetros no fundamentales que se pueden cambiar o modificar para obtener básicamente los mismos resultados. Se ha descubierto que los compuestos de los Ejemplos inhiben la actividad de KRAS de acuerdo con al menos un ensayo descrito en la presente.

EJEMPLOS

25 Los procedimientos experimentales para los compuestos de la invención se proporcionan a continuación. Las purificaciones por LC-MS preparatorias de algunos de los compuestos preparados se realizaron en sistemas de fraccionamiento dirigido por masas de Waters. La configuración básica del equipo, los protocolos y el software de control para la operación de estos sistemas se han descrito en detalle en la bibliografía. Ver, por ejemplo,
30 "Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS", K. Blom, *J. Combi. Chem.*, 4, 295 (2002); "Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification", K. Blom, R. Sparks, J. Doughty, G. Everlof, T. Haque, A. Combs, *J. Combi. Chem.*, 5, 670 (2003); and "Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Combi. Chem.*, 6, 874-

883 (2004). Los compuestos separados se sometieron típicamente a cromatografía líquida/espectrometría de masas (LCMS) analítica para el control de pureza.

Los compuestos separados se sometieron típicamente a espectrometría de masas por cromatografía líquida analítica (LCMS) para el análisis de pureza en las siguientes condiciones:

- 5 Instrumento; Serie Agilent 1100, LC/MSD, Columna: Waters Sunfire™ C₁₈ 5 µm de tamaño de partícula, 2,1 x 5.0 mm, Amortiguadores: fase móvil A: TFA al 0,025 % en agua y fase móvil B: acetonitrilo; gradiente del 2 % al 80 % de B en 3 minutos con una velocidad de flujo de 2, la velocidad de flujo 0 ml/minuto.

- 10 Algunos de los compuestos preparados también se separaron a escala preparativa mediante cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (RP-HPLC) con detector MS o cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) como se indica en los Ejemplos. Las condiciones típicas de la columna de cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa preparativa (RP-HPLC) son las siguientes:

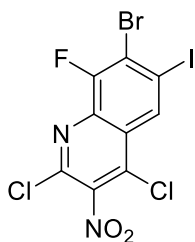
- 15 pH = 2 purificaciones: columna Waters Sunfire™ C₁₈ tamaño de partícula 5 µm, 19 x 100 mm, que eluye con fase móvil A: TFA al 0,1 % (ácido trifluoroacético) en agua y fase móvil B: acetonitrilo; la velocidad de flujo fue de 30 ml/minuto, el gradiente de separación se optimizó para cada compuesto mediante el protocolo de optimización de métodos específicos de compuestos tal como se describe en la bibliografía [ver "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Comb. Chem.*, **6**, 874-883 (2004)]. Generalmente, la velocidad de flujo utilizada con la columna de 30 x 100 mm fue de 60 ml/minuto.

- 25 pH = 10 purificaciones: columna Waters XBridge C₁₈ tamaño de partícula 5 µm, 19 x 100 mm, que eluye con fase móvil A: NH₄OH al 0,15 % en agua y fase móvil B: acetonitrilo; la velocidad de flujo fue de 30 ml/minuto, el gradiente de separación se optimizó para cada compuesto mediante el protocolo de optimización de métodos específicos de compuestos tal como se describe en la bibliografía [ver "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Comb. Chem.*, **6**, 874-883 (2004)]. Generalmente, la velocidad de flujo utilizada con la columna de 30 x 100 mm fue de 60 ml/minuto.

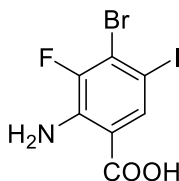
- 30 Las siguientes abreviaturas pueden usarse en la presente: AcOH (ácido acético); Ac₂O (anhídrido acético); ac. (acuoso); atm. (atmósfera(s)); Boc (*t*-butoxicarbonilo); BOP ((benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio hexafluorofosfato); br (ancho); Cbz (carboxibencilo); calc. (calculado); d (doblete); dd (doblete de dobletes); DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno); DCM (diclorometano); DIAD (azidodicarboxilato de *N,N'*-

diisopropilo); DIEA (N,N-diisopropiletilamina); DIPEA (N,N-diisopropiletilamina); DIBAL (hidruro de diisobutilaluminio); DMF (N,N-dimetilformamida); Et (etilo); EtOAc (acetato de etilo); FCC (cromatografía en columna ultrarrápida); g (gramo/s); h (hora/s); HATU (hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio); HCl (ácido clorhídrico); HPLC (cromatografía líquida de alta resolución); Hz (hercios); J (constante de acoplamiento); LCMS (cromatografía líquida – espectrometría de masas); LDA (diisopropilamida de litio); m (multiplete); M (molar); mCPBA (ácido 3-cloroperoxibenzoico); MS (espectrometría de masas); Me (metilo); MeCN (acetonitrilo); MeOH (metanol); mg (miligramo/s); mín. (minuto/s); ml (mililitro/s); mmol (milimol/es); N (normal); NCS (N-clorosuccinimida); NEt₃ (triethylamina); nM (nanomolar); NMP (N-metilpirrolidinona); NMR (espectroscopia de resonancia magnética nuclear); OTf (trifluorometanosulfonato); Ph (fenilo); pM (picomolar); PPT(precipitado); RP-HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento en fase inversa); ta. (temperatura ambiente), s (singlete); t (tripleto o terciario); TBS (terc-butildimetilsililo); tert (terciario); tt (tripleto de tripletes); TFA (ácido trifluoroacético); THF (tetrahidrofurano); µg (microgramo(s)); µl (microlitro(s)); µM (micromolar); % en peso (porcentaje en peso). La salmuera es cloruro de sodio acuoso saturado. *In vacuo* es al vacío.

Intermedio 1. 7-bromo-2,4-dicloro-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolina

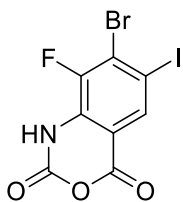


20 **Paso 1. Ácido 2-amino-4-bromo-3-fluoro-5-yodobenzoico**



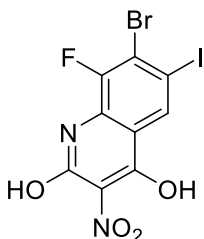
Se agregó NIS (9,61 g, 42,7 mmol) a una solución de ácido 2-amino-4-bromo-3-fluorobenzoico (10,0 g, 42,7 mmol) en DMF (100 ml) y luego la reacción se agitó a 80 °C durante 6h. La mezcla se enfrió con agua helada y luego se agregó agua (150 ml) y se agitó durante 20 minutos, el precipitado se filtró y se lavó con agua, se secó para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido. LCMS calculado para C₇H₅BrFINO₂ (M+H)⁺: m/z = 359,9; encontrado 359,8.

Paso 2: 7-bromo-8-fluoro-6-yodo-2H-benzo[d][1,3]oxazina-2,4(1H)-diona



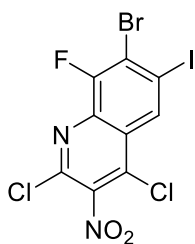
A una solución de ácido 2-amino-4-bromo-3-fluoro-5-yodobenzoico (8,4 g, 23,34 mmol) en 1,4-dioxano (200 ml) se le agregó trifosgeno (6,34 g, 21,37 mmol) y se agitó a 100 °C durante 1 h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se agregó hielo hasta que precipitó un sólido. Luego, la mezcla se diluyó completamente con agua (volumen final ~400 ml) y el sólido se recogió mediante filtración y luego se secó al aire. El producto bruto se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 3: 7-bromo-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolina-2,4-diol



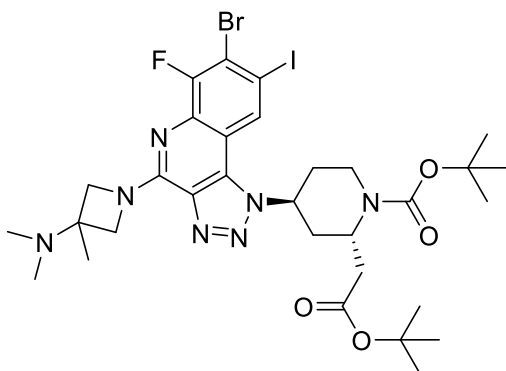
Se agregó DIPEA (6,06 ml, 34,7 mmol) a una solución de 2-nitroacetato de etilo (4,62 g, 17,36 mmol) en tolueno (10,0 ml) a temperatura ambiente y se agitó durante 10 min. Luego se agregó 7-bromo-8-fluoro-6-yodo-2H-benzo[d][1,3]oxazina-2,4(1H)-diona (6,7 g, 17,36 mmol) a la mezcla de reacción y la reacción se agitó a 95 °C durante 3 h. La reacción se enfrió con agua helada y luego se agregó HCl 1 N (40 ml). El precipitado sólido se recogió mediante filtración y luego se lavó con una pequeña cantidad de acetato de etilo para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido amarillo (6 g, 81 %). LCMS calculado para C₉H₄BrFIN₂O₄ (M+H)⁺: m/z = 428,8; se encontrado 428,8.

Paso 4: 7-bromo-2,4-dicloro-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolina

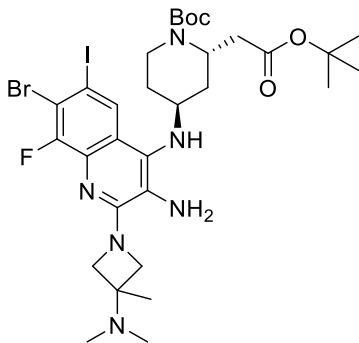


Se agregó DIPEA (3,67 ml, 21,03 mmol) a una mezcla de 7-bromo-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolina-2,4-diol (4,51 g, 10,51 mmol) en POCl₃ (4,9 ml, 52,6 mmol) y luego la reacción se agitó a 105 °C durante 3 h. El solvente se eliminó al vacío y luego se destiló azeotrópicamente con tolueno 3 veces para proporcionar el material bruto que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Intermedio 2. (2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-yodo-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidín-1-carboxilato de terc-butilo



Paso 1. (2S,4S)-4-((3-amino-7-bromo-2-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-8-fluoro-6-yodoquinolin-4-il)amino)-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

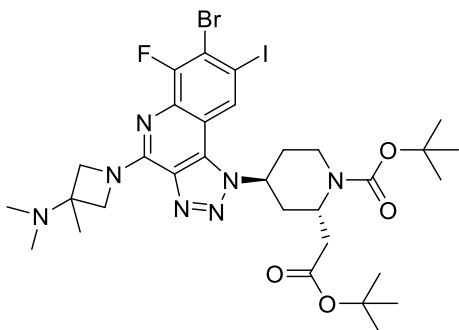


Se agregó DIPEA (15,37 ml, 88 mmol) a una solución de 7-bromo-2,4-dicloro-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolina (**Intermedio 1**) (20,49 g, 44 mmol) y (2S,4S)-4-amino-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (**Intermedio 6**) (13,83 g, 44 mmol) en CH₂Cl₂ (100

ml) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a 50 °C durante 3 h. Tras la conversión completa, se agregaron a la mezcla de reacción diclorhidrato de *N,N*,3-trimetilazetidín-3-amina (9,98 g, 52,8 mmol) y otros 2 equivalentes de DIPEA (15,37 ml, 88 mmol) y se agitaron a 50 °C durante la noche. El contenido de la reacción se transfirió a un embudo de decantación y se lavó con NH₄Cl saturado (200 ml) y salmuera (100 ml). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró.

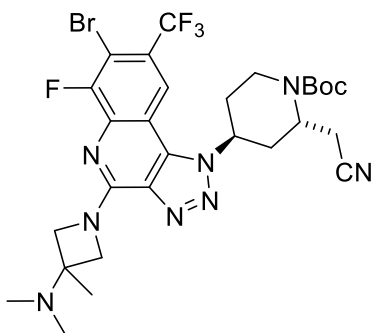
El residuo concentrado se redisolvió en MeOH (50 ml), CH₂Cl₂ (10 ml) e hidróxido de amonio acuoso (57 ml, 440 mmol). Se agregó ditionita de sodio (23 g, 132 mmol) en una parte, luego la reacción se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante la noche. Una vez completada, la reacción se inactivó con la adición de H₂O (100 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (100 ml). La fase orgánica se lavó con H₂O dos veces, se secó sobre Na₂SO₄ y después se concentró para dar el producto de diamina deseado como un aceite viscoso rojo (18,21 g, 56 % en 2 pasos). LCMS calculado para C₃₁H₄₆BrFIN₆O₄ (M+H)⁺: m/z = 791,2; encontrado: 791,1.

Paso 2. (2*S*,4*S*)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-yodo-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-(2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

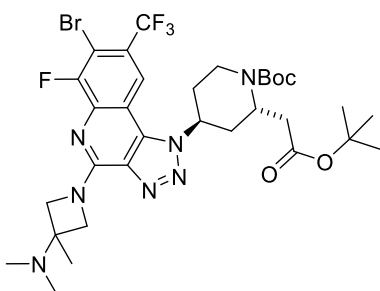


La diamina bruta del paso 1 (18,21 g, 23 mmol) se disolvió en ácido acético glacial (57,9 ml, 1012 mmol). Se agregó en una parte nitrito de sodio (2,38 g, 34,5 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Al finalizar, el contenido de la reacción se vertió en agua con hielo agitada vigorosamente. Los sólidos precipitados se recogieron mediante filtración, se lavaron con NaHCO₃, agua y éter dietílico. Después los sólidos se secaron al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido marrón (15 g, rendimiento del 81%). LCMS calculado para C₃₁H₄₃BrFIN₇O₄ (M+H)⁺: m/z = 802,2; encontrado 802,1.

Intermedio 3. (2*S*,4*S*)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

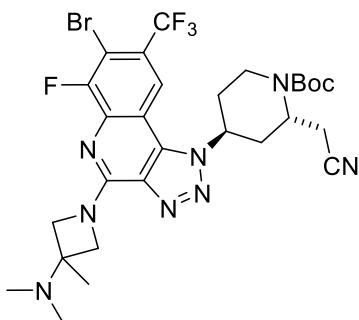


Paso 1. (2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



Se cargó un recipiente a presión con **el Intermedio 2** (1,10 g, 1,37 mmol), yoduro de cobre (I) (39 mg, 0,21 mmol), 1,10-fenantrolina (37 mg, 0,21 mmol) y fluoruro de potasio (239 mg, 411 mmol). Se agregó DMSO (2,74 ml) y el recipiente se lavó con N₂ durante 5 min. Se agregaron borato de trimetilo (0,46 ml, 4,11 mmol) y trimetil(trifluorometil)silano (0,61 ml, 4,11 mmol) antes de sellar el recipiente a presión y calentarlo a 80 °C durante la noche. Se dejó enfriar el recipiente hasta temperatura ambiente, luego se enfrió en una tanda de hielo y se abrió con cuidado. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con NaHCO₃, salmuera y se concentró. El producto bruto se purificó sobre gel de sílice (20 g, EtOAc al 50-100 % en CH₂Cl₂) para producir un sólido marrón (634 mg, rendimiento del 62 %). LCMS calculado para C₃₂H₄₃BrF₄N₇O₄ (M+H)⁺: m/z = 744,3; encontrado: 744,2.

Paso 2. (2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



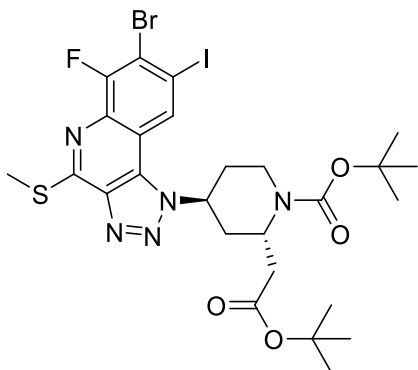
(2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (6,5 g, 8,7 mmol) se disolvió en dioxano (20 ml) y se agregó una solución de hidróxido de litio (7,27 ml, 6 M en H₂O). La reacción se calentó hasta 80 °C durante la noche. Tras la hidrólisis completa del éster *terc*-butílico, se agregó NH₄Cl saturado (100 ml) y la reacción se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron hasta sequedad para proporcionar ácido 2-((2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidín-2-il)acético. LCMS calculado para C₂₈H₃₅BrF₄N₇O₄ (M+H)⁺: m/z = 688,2; encontrado 688,1.

El ácido carboxílico se volvió a disolver en THF (20 ml). Se agregó DIPEA (3,1 ml, 17,5 mmol) y la mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C. Luego se agregó cloroformiato de isobutilo (1,7 ml, 13,1 mmol). Después de agitar a 0 °C durante 20 min, se agregó hidróxido de amonio (11,3 ml, 87 mmol) y la mezcla se agitó durante 10 min más. Una vez completada, la reacción se diluyó con EtOAc (20 ml), se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se concentró para producir (2S,4S)-2-(2-amino-2-oxoetil)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidín-1-carboxilato de terc-butilo. LCMS calculado para C₂₈H₃₆BrF₄N₈O₃ (M+H)⁺: m/z = 687,2; encontrado 687,4.

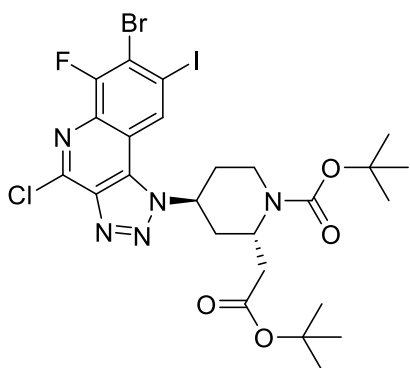
La amida cruda se volvió a disolver en THF (20 ml) y se enfrió hasta 0 °C. Se agregaron secuencialmente trietilamina (4,9 ml, 34,9 mmol) y TFAA (1,8 ml, 13,1 mol). Después de agitar durante 1 hora, la reacción se inactivó con la adición de NaHCO₃ ac. (50 ml), se extrajo con EtOAc (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se concentró y se purificó sobre sílice (100 g, EtOAc al 0-100 % en CH₂Cl₂) para producir el producto del título como un sólido amarillo (4,3 g, rendimiento del 74 % en 3 pasos). LCMS calculado para C₂₈H₃₄BrF₄N₈O₂ (M+H)⁺: m/z = 669,2; encontrado 669,4.

Intermedio 4. (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-

c]quinolin-1-il)-2-(2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Paso 1. (2S,4S)-4-(7-bromo-4-cloro-6-fluoro-8-yodo-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



5

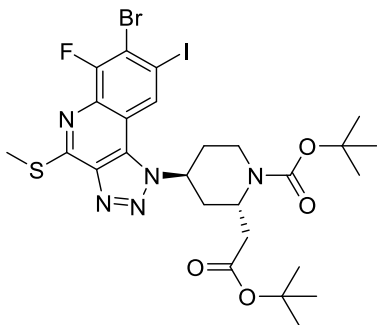
Se agregó DIPEA (1,92 ml, 11 mmol) a una solución de 7-bromo-2,4-dicloro-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolina (**Intermedio 1**) (2,56 g, 5.5 mmol) y (2S,4S)-4-amino-2-(2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**Intermedio 6**) (1,73 g, 5.5 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a 50 °C durante 3 h. Tras la conversión completa, el contenido de la reacción se transfirió a un embudo de decantación y se lavó con NH₄Cl saturado (50 ml) y salmuera (50 ml). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró.

El residuo concentrado se redisolvió en MeOH (5 ml), CH₂Cl₂ (5 ml) e hidróxido de amonio acuoso (7,3 ml, 55 mmol). Se agregó ditionita de sodio (2,88 g, 16,5 mmol) en una parte, luego la reacción se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante la noche. Una vez completada, la reacción se inactivó con la adición de H₂O (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (50 ml). La fase orgánica se lavó con H₂O dos veces, se secó sobre Na₂SO₄ y después se concentró para dar el producto de diamina deseado.

La diamina cruda se disolvió en ácido acético glacial (7,0 ml). Se agregó en una parte nitrito de sodio (0,76 g, 11 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Al finalizar, el contenido de la reacción se vertió en agua con hielo agitada vigorosamente. La

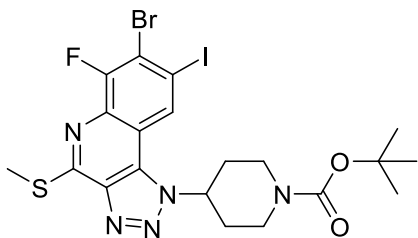
mezcla de reacción se extrajo con DCM. El producto bruto se purificó sobre gel de sílice (50 g, 0-100 % de EtOAc en CH₂Cl₂) para proporcionar el producto deseado (1,8 g, 70 % de rendimiento). LCMS calculado para C₂₅H₃₀BrClFIN₅O₄ (M+H)⁺: m/z = 724,0; encontrado: 724,0.

Paso 2. (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



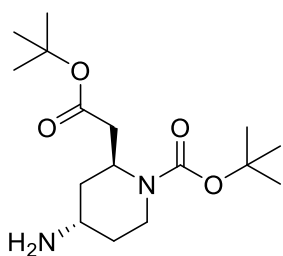
(2S,4S)-4-(7-bromo-4-cloro-6-fluoro-8-yodo-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,44 g, 1,99 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (5 ml) y MeOH (5 ml) y se agitó a temperatura ambiente hasta homogeneidad. Se agregó tiometóxido de sodio (0,28 g, 3,97 mmol) en una parte. Después de agitar durante 1 h, la reacción se inactivó con NH₄Cl saturado (10 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml), luego se lavó con NaHCO₃. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. LCMS calculado para C₂₆H₃₃BrFIN₅O₄S (M+H)⁺: m/z = 736,1; encontrado: 736,0.

Intermedio 5. 4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

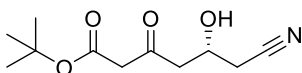


Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Intermedio 4**, reemplazando (2S,4S)-4-amino-2-(2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con 4-aminopiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para C₂₀H₂₃BrFIN₅O₂S (M+H)⁺: m/z = 622,0; encontrado: 622,1.

Intermedio 6. (2S,4S)-4-amino-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

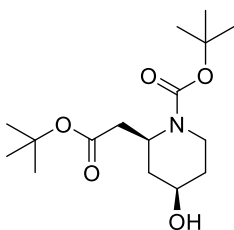


Paso 1. (R)-6-ciano-5-hidroxi-3-oxohexanoato de terc-butilo



Se enfrió una solución de LDA 2,0 M (100 ml, 200 mmol) en THF anhidro (223 ml) a -78 °C durante 1 h y después se agregó gota a gota acetato de *terc*-butilo (26,9 ml, 200 mmol) agitando durante 20 minutos. Después de 40 minutos más mantenidos a -78 °C, se agregó gota a gota una solución de (R)-4-ciano-3-hidroxi-2-oxobutanoato de etilo (10,5 g, 66,8 mmol). La mezcla se dejó agitar a -40°C durante 4 h y luego se agregó a la mezcla una cantidad apropiada de HCl (2 M), manteniendo el pH ~6. Durante este enfriamiento rápido, la temperatura de la mezcla se mantuvo a -10 °C. Al completarse, la temperatura de la mezcla se enfrió hasta 0 °C. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 × 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ (100 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proporcionar el material en forma de un aceite amarillo (15,0 g, rendimiento del 99 %).

Paso 2. (2S,4R)-2-(2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de terc-butilo

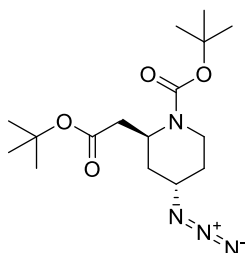


Se trató una solución de (R)-6-ciano-5-hidroxi-3-oxohexanoato de *terc*-butilo (15,0 g, 66,0 mmol) en ácido acético (110 ml) con hidrato de óxido de platino (IV) (0,868 g, 3,30 mmol). La botella de Parr se evacuó y se rellenó con H₂ tres veces y se agitó bajo una atmósfera de H₂ (45 psi, se recargó 4 veces) a 22 °C durante 3 h. La mezcla se filtró a través de Celite y la torta de filtración se lavó con EtOH. El filtrado se concentró para producir un producto con una relación de diastereómero *cis*:*trans* de ~9:1.

El residuo se disolvió en metanol (100 ml) y luego se agregó anhídrido Boc (15,32 ml, 66,0 mmol) y carbonato de sodio (13,99 g, 132 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró y concentró. Se purificó el residuo con una columna de gel de sílice para obtener el producto deseado (11,7 g, 56 %). LCMS

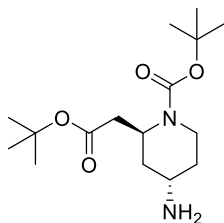
calculado para $C_{16}H_{29}NNaO_5$ ($M+Na$)⁺: m/z = 338,2; encontrado: 338,2.

Paso 3. (2S,4S)-4-azido-2-(2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



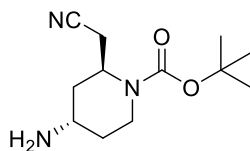
A una solución de (2S,4R)-2-(2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (2,10 g, 6,66 mmol) en DCM (33 ml) a 0 °C se agregó TEA (1,58 ml, 11,32 mmol) y Ms-Cl (0,67 ml, 8,66 mmol). Después de agitar durante 1 h, la reacción se diluyó con agua y la capa orgánica se separó y se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El residuo resultante se disolvió en DMF y se agregó azida sódica (1,3 g, 20 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 5 h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la reacción se diluyó con EtOAc y agua. La capa orgánica se separó y se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. Se purificó el residuo con una columna de gel de sílice para obtener el producto deseado (1,90 g, 84 %). LCMS calculado (Producto-Boc) para $C_{11}H_{21}N_4O_2$ ($M+H$)⁺: m/z = 241,2; encontrado: 241,2.

Paso 4. (2S,4S)-4-amino-2-(2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

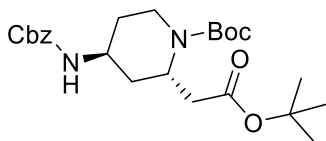


A una solución de (2S,4S)-4-azido-2-(2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,9 g, 5,58 mmol) en metanol (27,9 ml) se agregó paladio sobre carbón al 10 % (0,594 g, 0,558 mmol). La mezcla de reacción se evacuó al vacío y se rellenoó con H_2 , se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se lavó con metanol. El filtrado se concentró y se usó tal cual (1,5 g, 85 %). LCMS calculado para $C_{16}H_{31}N_2O_4$ ($M+H$)⁺: m/z = 315,2; encontrado: 315,2.

Intermedio 7. (2S,4S)-4-amino-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

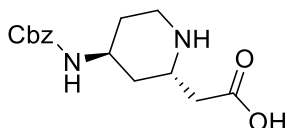


Paso 1. (2S,4S)-4-(((benciloxi)carbonil)amino)-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



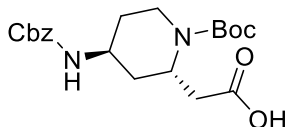
A una solución agitada del **Intermedio 6** (5,2 g, 16,54 mmol) en CH₂Cl₂ (80,0 ml) se le
 5 agregó N-(benciloxi-carboniloxi)succinimida (4,95 g, 19,85 mmol) seguida de DIPEA (4,33 ml, 24,81 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se diluyó con agua. La mezcla se extrajo con agua y salmuera. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron y se usaron directamente en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 2. Ácido 2-((2S,4S)-4-(((benciloxi)carbonil)amino)piperidin-2-il)acético



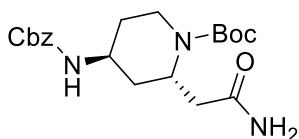
El residuo concentrado del **Paso 1** se recogió en CH₂Cl₂ (80,0 ml) y TFA (50,0 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego se concentró hasta sequedad y se usó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 3. Ácido 2-((2S,4S)-4-(((benciloxi)carbonil)amino)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-2-il)acético



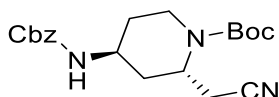
El residuo concentrado del **Paso 2** se recogió en CH₂Cl₂ (80,0 ml) y se agregó lentamente trietilamina (23,1 ml, 165 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante
 20 5 minutos, luego se agregó Boc-anhídrido (4,33 g, 19,85 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregó Boc-anhídrido adicional según fue necesario. Tras la conversión completa, la mezcla se acidificó a pH 4-5 y luego se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron y se usaron directamente en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 4. (2S,4S)-2-(2-amino-2-oxoetil)-4-(((benciloxi)carbonil)amino)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



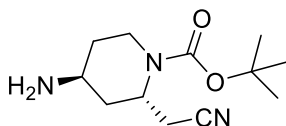
El residuo concentrado del **Paso 3** se recogió en THF (80,0 ml) y DIPEA (8,67 ml, 49,6 mmol). La mezcla se enfrió hasta 0 °C, después se agregó lentamente cloroformiato de isobutilo (5,43 ml, 41,3 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante otros 20 minutos antes de agregar a la mezcla hidróxido de amonio (28 % en agua, 23,0 ml, 165 mmol). Después de agitar otros 5 minutos, la mezcla se diluyó con salmuera y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron en MgSO₄, se filtraron, se concentraron y se purificaron mediante cromatografía en columna 0-8% MeOH en DCM.

Paso 5. (2S,4S)-4-(((benciloxi)carbonil)amino)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



El producto purificado del **Paso 4** se recogió en THF (80,0 ml) y trietilamina (6,0 ml, 43 mmol). La mezcla se enfrió a 0 °C, después se agregó lentamente TFAA (3,5 ml, 24,8 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante otros 30 minutos antes de diluir con EtOAc y extraer con salmuera. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron hasta sequedad y se purificaron sobre gel de sílice para producir el producto deseado (5,12 g, 83 % en 5 etapas). LCMS calculado para C₁₆H₂₀N₃O₄ (M+H-terc-butilo)⁺: m/z = 318,1; encontrado: 318,1.

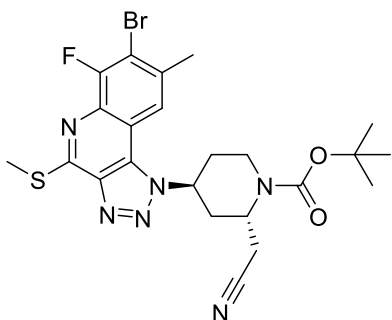
Paso 6. (2S,4S)-4-amino-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



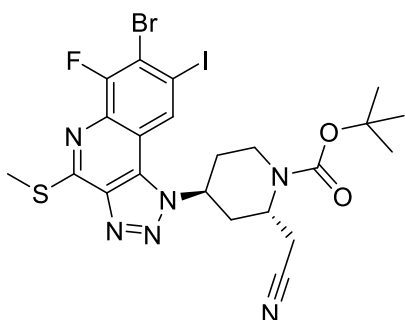
Se cargó un matraz de fondo redondo que contenía una barra agitadora con (2S,4S)-4-(((benciloxi)carbonil)amino)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (5,12 g, 13,71 mmol), paladio sobre carbono (10 % en peso, 2,92 g, 2,74 mmol) y MeOH (45 ml). El fondo redondo se evacuó y se rellenó con H₂ (este proceso se repitió un total de tres veces) y la mezcla se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 1,5 horas con un globo de H₂ adjunto. Luego la mezcla se filtró sobre celite y los sólidos se lavaron con EtOAc. El filtrado se concentró y se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional.

Intermedio 8. (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-

c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Paso 1. (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



5

Se agregó DIPEA (5,62 ml, 32 mmol) a una solución de 7-bromo-2,4-dicloro-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolina (**Intermedio 1**) (10 g, 21,5 mmol) y (2S,4S)-4-amino-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**Intermedio 7**) (5,15 g, 21,5 mmol) en MeCN (100 ml) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a 50 °C durante 3 h. Tras la conversión completa, la mezcla de reacción se concentró.

10

El residuo se disolvió en MeOH (80 ml), se agregó tiometóxido de sodio (3,0 g, 43 mmol) a temperatura ambiente en una parte, tras la conversión completa, la mezcla de reacción se diluyó con agua, se filtró y se lavó con agua para dar un sólido de color marrón.

El sólido se redisolvió en MeOH (80 ml), CH₂Cl₂ (20 ml) e hidróxido de amonio acuoso (28 ml, 440 mmol). Se agregó ditionita de sodio (11,2 g, 132 mmol) en una parte, luego la reacción se agitó vigorosamente a temperatura ambiente. Una vez completada, la reacción se inactivó con la adición de H₂O (100 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (100 ml). La fase orgánica se lavó con H₂O dos veces, se secó sobre Na₂SO₄ y después se concentró para dar el producto de diamina deseado como un aceite viscoso rojo.

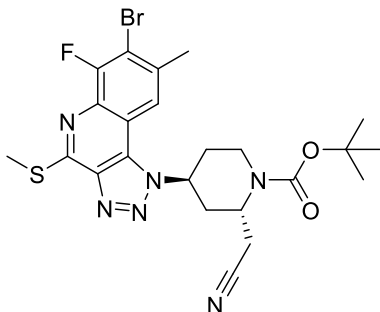
15

La diamina cruda se disolvió en ácido acético glacial (50 ml, 875 mmol). Se agregó en una parte nitrito de sodio (2,97 g, 43,0 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Al finalizar, el contenido de la reacción se vertió en agua con hielo agitada vigorosamente. Los sólidos precipitados se recogieron mediante filtración, se lavaron con

20

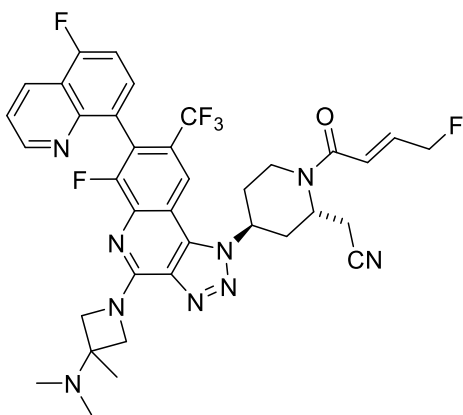
NaHCO₃, agua y éter dietílico. Después los sólidos se secaron al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido marrón (7,1 g, rendimiento del 50 %). LCMS calculado para C₂₂H₂₄BrFIN₆O₂S (M+H)⁺: m/z = 661,0; encontrado: 660,9.

- 5 **Paso 2. (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo**

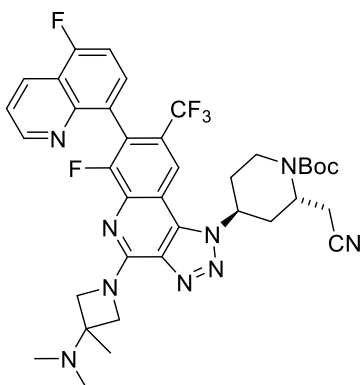


- Se cargó un vial con tapa de rosca equipado con una barra de agitación magnética *terc*-butilo (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato (1,19 g, 1,832 mmol), ácido metilborónico (1,096 g, 18,32 mmol), fosfato tripotásico (1,166 g, 5,49 mmol) y cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio(II) (257 mg, 0,366 mmol) seguido de dioxano (10,0 ml) y agua (2,0 ml). El vial se selló con un tabique revestido de Teflón, evacuado y se volvió a llenar con nitrógeno (este proceso se repitió un total de tres veces). Luego la reacción se agitó a 90 °C durante 3 horas. Luego de enfriarlo hasta temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con salmuera y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron hasta sequedad y se purificaron sobre gel de sílice para producir el producto deseado. LCMS calculado para C₂₃H₂₇BrFN₆O₂S (M+H)⁺: m/z = 549,1; encontrado: 549,1.

- 20 **Ejemplo 1a y Ejemplo 1b. 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo**



Paso 1. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



5

Se cargó un vial de reacción con el **Intermedio 3** (1,3 g, 1,9 mmol), XPhos Pd G2 (76 mg, 0,097 mmol), ácido (5-fluoroquinolin-8-il)borónico (408 mg, 2,1 mmol), K_3PO_4 (1,24 g, 5,83 mmol) y dioxano (5 ml) y H_2O (1 ml). La mezcla se purgó con N_2 durante 5 minutos antes de calentarse y agitarse a $90\text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 h. Una vez completada, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con NH_4Cl ac. (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró, luego se concentró. El producto bruto se purificó primero con sílice (20 g, EtOAc al 50-100 % en CH_2Cl_2) y luego se purificó adicionalmente usando LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía NH_4OH al 0,15 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para producir el producto deseado como un par de diastereómeros (polvo amorfo blanco, rendimiento combinado del 21 %).

10

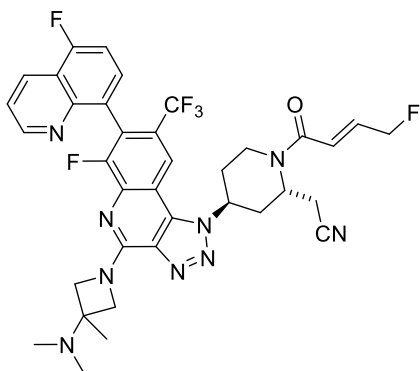
15

Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{37}H_{39}F_5N_9O_2$ ($M+H$)⁺ m/z = 736,3; encontrado 736,2.

Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{37}H_{39}F_5N_9O_2$ ($M+H$)⁺ m/z = 736,3; encontrado 736,2.

20

Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo



- 5 Un vial de reacción cargado con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (diastereómero 1, 150 mg, 0,24 mmol) del *paso 1* se agregó TFA (1 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 15 min, se eliminaron los volátiles. El residuo se redisolvió en acetonitrilo (2 ml) y se enfrió a 0 °C. Se
- 10 agregó DIPEA (0,36 ml) a la reacción, seguido de ácido (E)-4-fluorobut-2-enoico (42 mg, 0,41 mmol) y solución de anhídrido propilfosfónico (50 % en EtOAc, 0,25 ml, 0,41 mmol). Después de agitar a 0 °C durante 10 min, la reacción se inactivó con NaHCO₃ ac. (5 ml) se extrajo con EtOAc (5 ml), se lavó con salmuera y se concentró. El producto bruto se volvió a disolver en acetonitrilo y se purificó con prep-LCMS (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de
- 15 acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar

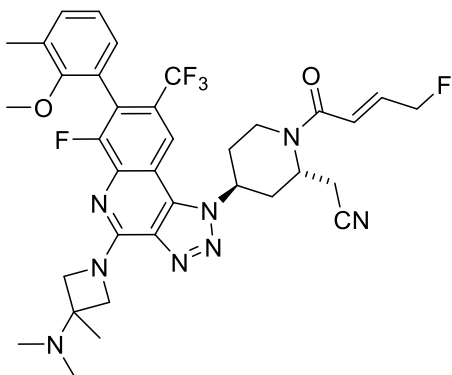
Ejemplo 1a (Diastereómero 1) como una sal de TFA en forma de un polvo amorfo blanco (50 mg de equivalente de base libre, rendimiento del 34 %). LCMS calculado para C₃₆H₃₄F₆N₉O (M+H)⁺ m/z = 722,3; encontrado 722,2. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,80 (s, 1H), 8,87 (dd, J = 4,2, 1,7 Hz, 1H), 8,62 (dd, J = 8,5, 1,7 Hz, 1H), 8,41 (s, 1H), 7,82 (dd, J = 8,0, 5,8 Hz, 1H), 7,70 (dd, J = 8,5, 4,2 Hz, 1H), 7,65 (dd, J = 9,8, 8,0 Hz, 1H), 6,90 – 6,77 (m, 2H), 5,93 (s, 1H), 5,32 (s, 1H), 5,24 – 5,20 (m, 1H), 5,12 (dd, J = 3,6, 1,2 Hz, 1H), 4,97 (s, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,57 (s, 1H), 4,37 – 4,21 (m, 2H), 3,61 (d, J = 12,7 Hz, 1H), 3,39 – 3,21 (m, 2H), 2,84 (s, 6H), 2,46 – 2,22 (m, 4H), 1,70 (s, 3H).

25 **El Ejemplo 1b (Diastereómero 2)** se preparó usando el procedimiento anterior, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato

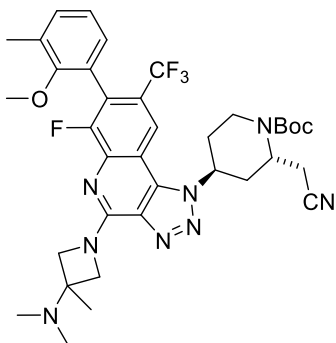
de *tert*-butilo (diastereómero 1) del *paso 1*, con (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (diastereómero 2) del *paso 1*. LCMS calculado para $C_{36}H_{34}F_6N_9O$ ($M+H$)⁺ m/z = 722,3; encontrado 722,2.

5

Ejemplo 2a y Ejemplo 2b. 2-((2*S*,4*S*)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(2-metoxi-3-metilfenil)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo



10 *Paso 1. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(2-metoxi-3-metilfenil)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo*



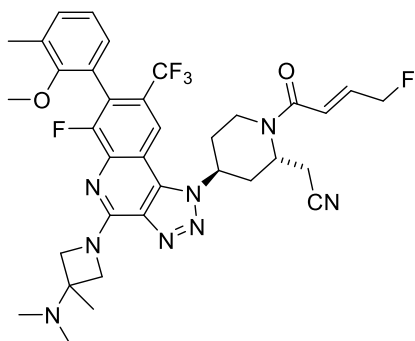
Se cargó un vial de reacción con el **Intermedio 3** (100 mg, 0,15 mmol), ácido (2-metoxi-3-metilfenil)borónico (30 mg, 0,18 mmol), $Pd(PPh_3)_4$ (17 mg, 0,015 mmol), K_3PO_4 (95 mg, 0,45 mmol) y dioxano (2,0 ml) y H_2O (0,4 ml). La mezcla se purgó con N_2 durante 5 minutos antes de calentarse a 90 °C durante 1 h. Una vez completada, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (5,0 ml) y se lavó con NH_4Cl ac. (5,0 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró. El producto bruto se purificó con sílice (10 g, EtOAc al 50-100 % en DCM) para proporcionar el producto deseado en forma de un aceite viscoso de color amarillo pálido (92 mg, rendimiento del 87 %). LCMS calculado para

15

20

$C_{36}H_{43}F_4N_8O_3$ (M+H)⁺ m/z = 711,3; encontrado 711,2.

Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(2-metoxi-3-metilfenil)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidín-2-il)acetonitrilo



5

Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a y el Ejemplo 1b, paso 2**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(2-metoxi-3-metilfenil)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo.

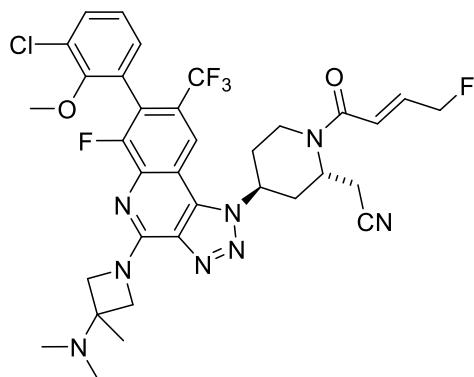
10

Ejemplo 2a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{35}H_{38}F_5N_8O_2$ (M+H)⁺: m/z = 697,3; encontrado: 697,3.

Ejemplo 2b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{35}H_{38}F_5N_8O_2$ (M+H)⁺: m/z = 697,3; encontrado: 697,3.

15

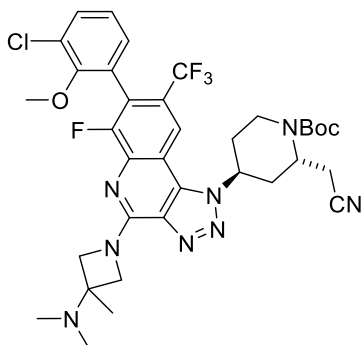
Ejemplo 3a y Ejemplo 3b. 2-((2S,4S)-4-(7-(3-cloro-2-metoxifenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidín-2-il)acetonitrilo



20

Paso 1. (2S,4S)-4-(7-(3-cloro-2-metoxifenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-

(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

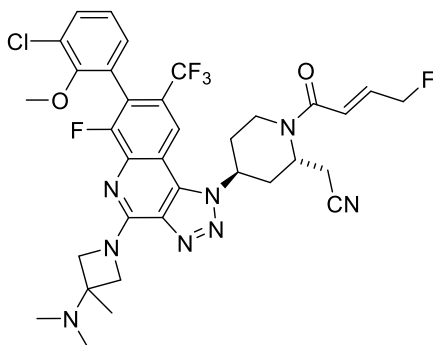


Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 2a**

- 5 **y el Ejemplo 2b, paso 1**, reemplazando el ácido (2-metoxi-3-metilfenil)borónico por ácido (3-cloro-2-metoxifenil)borónico. LCMS calculado para $C_{35}H_{40}ClF_4N_8O_2$ ($M+H$)⁺: m/z = 731,3; encontrado: 731,2.

Paso 2. 2-((2*S*,4*S*)-4-(7-(3-cloro-2-metoxifenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-

10 *il*)acetónitrilo

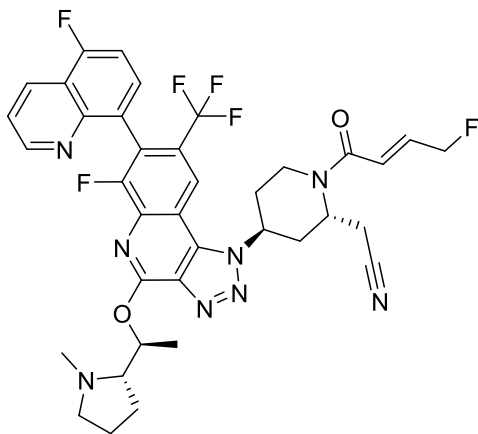


Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a**
y el Ejemplo 1b, paso 2, reemplazando (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-
 15 *c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2*S*,4*S*)-4-(7-(3-cloro-2-metoxifenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo.

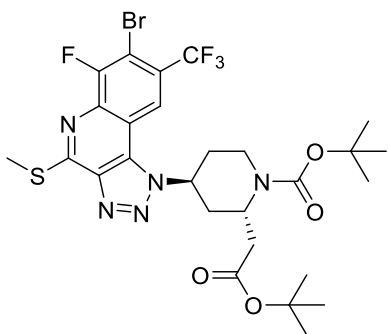
Ejemplo 3a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{34}H_{35}ClF_5N_8O_2$ ($M+H$)⁺: m/z = 717,3; encontrado: 717,2.

- 20 **Ejemplo 3b.** Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{34}H_{35}ClF_5N_8O_2$ ($M+H$)⁺: m/z = 717,3; encontrado: 717,2.

Ejemplo 4a y Ejemplo 4b. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpírrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo

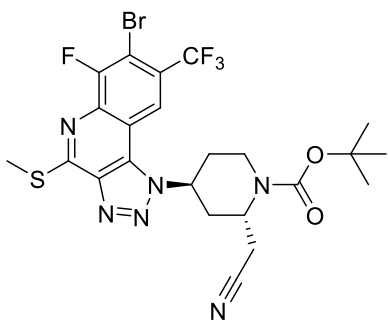


- 5 Paso 1. (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-4-(metiltio)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



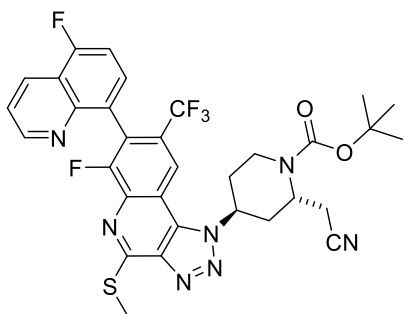
- Se cargó un tubo sellado con el **Intermedio 4** (3,50 g, 4,75 mmol) y 2,2-difluoro-2-(fluorosulfonil)-acetato de metilo (1,21 ml, 9,51 mmol) (MFDA), yoduro de cobre (I) (0,272 g, 1,426 mmol) y NMP (20 ml). El tubo se lavó con N₂, luego se selló y se calentó a 80 °C durante la noche. Luego se enfrió la reacción hasta temperatura ambiente, se vertió en NaHCO₃ y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con MgSO₄ y se concentraron. El producto bruto se purificó sobre sílice (40 g, EtOAc al 0-50 % en hexanos) para dar el producto deseado (2,5 g, rendimiento del 78 %). LCMS calculado para C₂₇H₃₃BrF₄N₅O₄S (M+H)⁺: m/z = 678,1; encontrado: 678,3.

Paso 2. (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-4-(metiltio)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



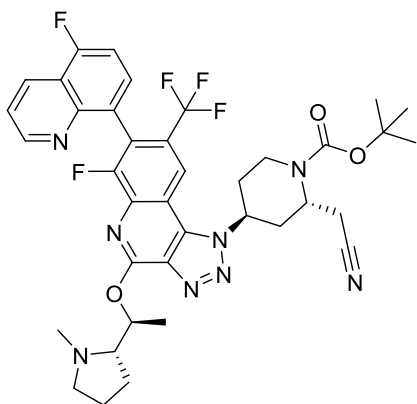
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Intermedio 3, paso 2**, reemplazando (2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-4-(metiltio)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para C₂₃H₂₄BrF₄N₆O₂S (M+H)⁺: m/z = 603,1; encontrado: 603,2.

Paso 3. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-(metiltio)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



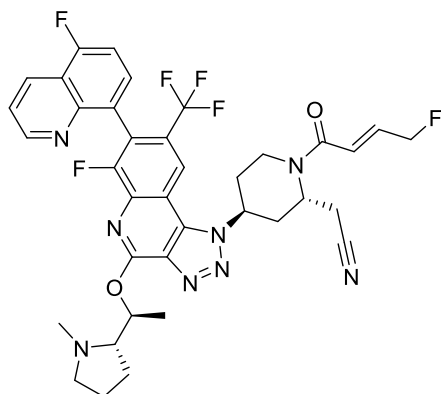
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a y el Ejemplo 1b, paso 1**, reemplazando el **Intermedio 3** con (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-4-(metiltio)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para C₃₂H₂₉F₅N₇O₂S (M+H)⁺: m/z = 670,2; encontrado: 670,2.

Paso 4. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



(2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-(metiltio)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (85 mg, 0,13 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (1 ml) y se enfrió hasta 0 °C. Se agregó mCPBA (33 mg, 0,19 mmol) en una
 5 parte y la reacción se agitó durante 30 minutos antes de inactivarse mediante la adición de NaHCO₃ saturado (2 ml). La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y luego se concentraron para proporcionar una mezcla del sulfóxido bruto y la sulfona. Un vial cargado con (*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etan-1-ol (16,4 mg, 0,13 mmol) y THF seco (1 ml) se enfrió a 0 °C. Se agregó LiHMDS (0,13
 10 ml, 1 M en THF). Después de agitar durante 10 minutos, la reacción se agregó gota a gota a una solución en THF del sulfóxido bruto. Tras otros 10 min de agitación, la reacción se inactivó al agregar NH₄Cl saturado (5 ml) y se extrajo con EtOAc (15 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se purificaron sobre sílice (EtOAc al 0-100 % en hexanos) para dar el producto deseado en forma de un sólido blanco (75 mg, rendimiento del
 15 79 %). LCMS calculado para C₃₈H₄₀F₅N₈O₃ (M+H)⁺ m/z = 751,3; encontrado: 751,5.

Paso 5. 2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo



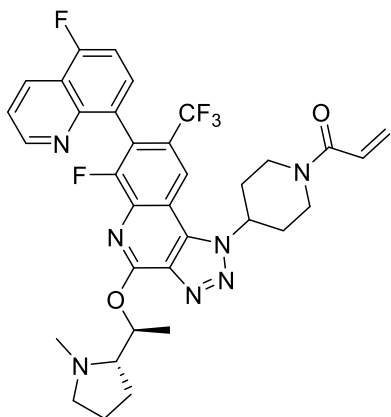
y el **Ejemplo 1b, paso 2**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidina-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo.

Ejemplo 4a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{37}H_{35}F_6N_8O_2$ (M+H)⁺: m/z = 737,3; encontrado: 737,2.

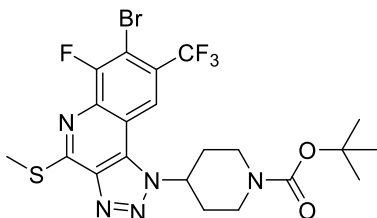
Ejemplo 4b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{37}H_{35}F_6N_8O_2$ (M+H)⁺: m/z = 737,3; encontrado: 737,2.

10

Ejemplo 5a y Ejemplo 5b. 1-(4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona



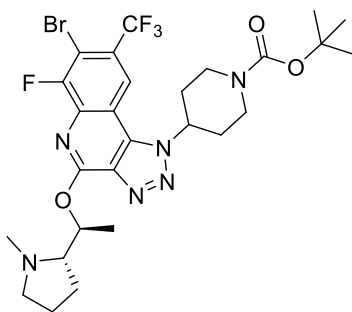
15 **Paso1.** 4-(7-bromo-6-fluoro-4-(metiltio)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4a y el Ejemplo 4b, paso 1**, reemplazando el **Intermedio 4** por el **Intermedio 5**. LCMS calculado para $C_{21}H_{23}BrF_4N_5O_2S$ (M+H)⁺: m/z = 564,1; encontrado: 564,0.

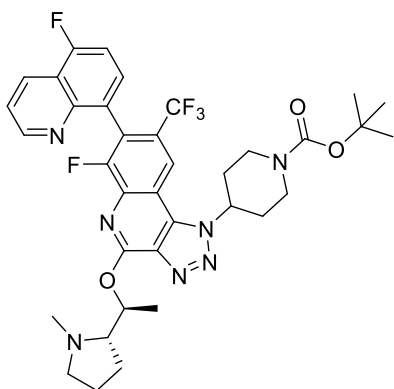
20

Paso 2. 4-(7-bromo-6-fluoro-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



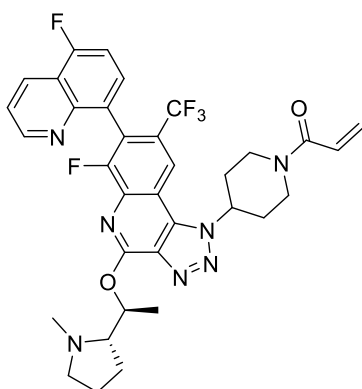
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4a y el Ejemplo 4b, paso 4**, reemplazando (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolina-8-il)-4-(metiltio)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con 4-(7-bromo-6-fluoro-4-(metiltio)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para $C_{27}H_{34}BrF_4N_6O_3$ ($M+H$)⁺: m/z = 645,2; encontrado: 645,4.

Paso 3. 4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a y el Ejemplo 1b, paso 1**, reemplazando el **Intermedio 3** con 4-(7-bromo-6-fluoro-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para $C_{36}H_{39}F_5N_7O_3$ ($M+H$)⁺ m/z = 712,3; encontrado: 712,5.

Paso 4. 1-(4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona

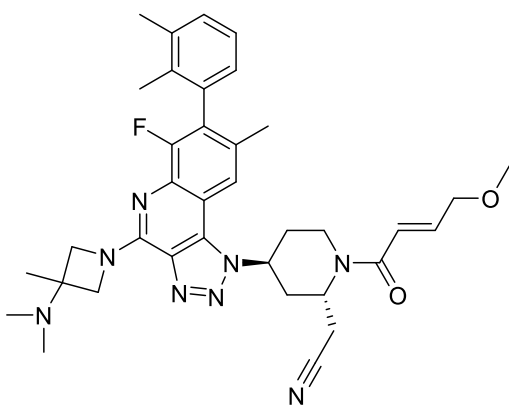


4-(6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (25 mg, 0,039 mmol) se agregó TFA (0,5 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. El solvente se eliminó al vacío. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (1,0 ml) y se enfrió hasta 0 °C, a esto se le agregó trietilamina (16 µl, 0,116 mmol), seguido de cloruro de acrilóilo (5,3 mg, 0,058 mmol) y la reacción se agitó a 0 °C durante 20 min. La reacción se diluyó con CH₂Cl₂, se lavó con NaHCO₃ saturado y el solvente orgánico se secó y se concentró. El producto bruto se redisolvió en acetonitrilo y se purificó usando LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min).

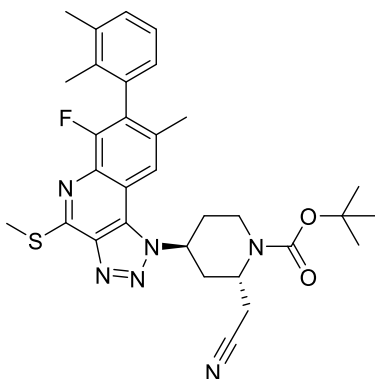
Ejemplo 5a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para C₃₄H₃₃F₅N₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 666,3; encontrado: 666,4.

Ejemplo 5b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para C₃₄H₃₃F₅N₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 666,3; encontrado: 666,4.

Ejemplo 6. 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidín-2-il)acetonitrilo

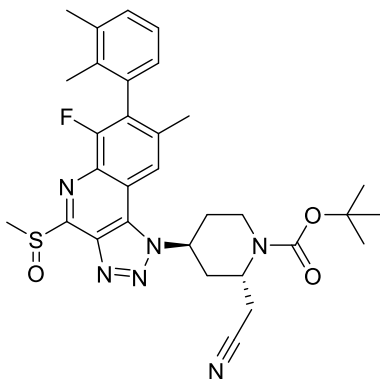


Paso 1. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



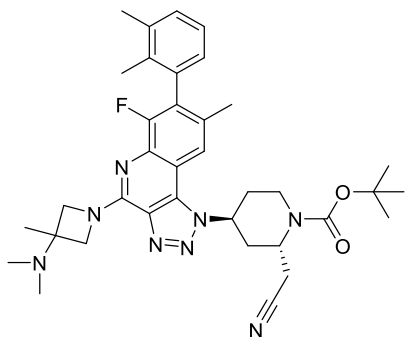
Una mezcla de **Intermedio 8** (400 mg, 0,728 mmol), ácido (2,3-dimetilfenil)borónico (164 mg, 1,092 mmol), fosfato de potasio (464 mg, 2,184 mmol) y $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (84 mg, 0,073 mmol) en dioxano (6 ml)/agua (1 ml) se evacuó y se rellenoó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de tres veces). La reacción se agitó a 105 °C durante 1 h. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo y se lavó con agua, salmuera. Se parte orgánica se filtró, se secó y se concentró. El producto se purificó mediante columna eluyendo con hexano/EtOAc (máx. EtOAc 80 %). LCMS calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{FN}_6\text{O}_2\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 575,3; encontrado 575,3.

Paso 2. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metilsulfinil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



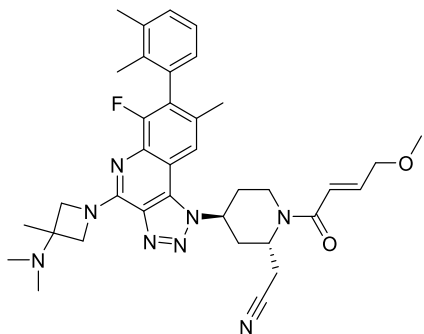
Se agregó m-CPBA (167 mg, 0,966 mmol) a una solución de (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (370,0 mg, 0,644 mmol) en CH_2Cl_2 (5,0 ml) a 0 °C y luego la reacción se agitó a esta temperatura durante 10 min. La reacción se inactivó al agregar $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ saturado, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con NaHCO_3 saturado, salmuera, se filtró, se secó y se concentró y el crudo se usó directamente en el siguiente paso. LCMS calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{FN}_6\text{O}_3\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 591,3; encontrado 591,3.

Paso 3. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Se agregó trietilamina (0,625 ml, 4,48 mmol) a una solución de (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metilsulfinil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,680 g, 1,121 mmol) y *N,N*,3-trimetilazetidín-3-amina (0,192 g, 1,681 mmol) y luego se agitó a 70 °C durante 2 h. El producto se purificó por columna eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH (máx. MeOH al 15 %). Los atropisómeros se separaron mediante SFC (columna, Phenomenex Lux 5um Cellulose-1, 21,2x250 mm, fase móvil 25 % MeOH en CO₂ a 70 ml/min isoc) para obtener dos picos, denominados PK1 y PK2. LCMS calculado para C₃₆H₄₆FN₈O₂ (M+H)⁺ m/z = 641,4; encontrado 641,5.

Paso 4. 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo

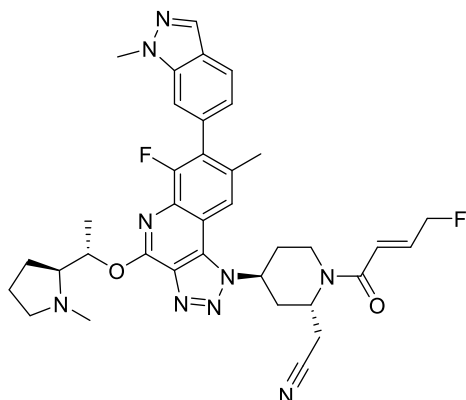


Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a** y el **Ejemplo 1b, paso 2**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (PK1 del Paso 3) y reemplazando ácido (E)-4-fluorobut-2-enoico con ácido (E)-4-metoxibut-2-enoico. LCMS calculado para C₃₆H₄₄FN₈O₂ (M+H)⁺ m/z = 639,4; encontrado 639,5. ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,04 (s, 1H), 7,30 – 7,21

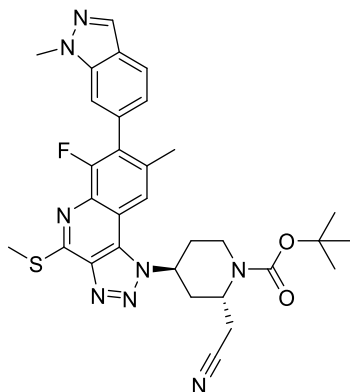
(m, 2H), 7,00 (dd, $J = 7,4, 1,5$ Hz, 1H), 6,81 – 6,70 (m, 2H), 5,30 (s, 1H), 4,96 (s, 1H), 4,74 (d, $J = 13,8$ Hz, 1H), 4,28 (d, $J = 14,3$ Hz, 1H), 4,11 (s, 2H), 3,64 (s, 1H), 3,39 (dd, $J = 17,0, 8,5$ Hz, 1H), 3,33 (s, 3H), 3,31 – 3,19 (m, 3H), 2,83 (s, 6H), 2,43 (s, 3H), 2,41 (m, 1H) 2,35 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,13 (d, $J = 13,2$ Hz, 1H), 1,94 (s, 3H), 1,70 (s, 3H).

5

Ejemplo 7. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-6-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpiperididin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperididin-2-il)acetonitrilo



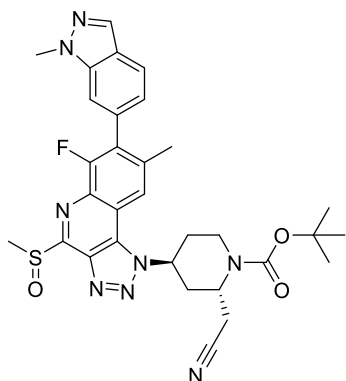
10 **Paso 1. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-6-il)-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo**



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6, Paso 1**, reemplazando el ácido (2,3-dimetilfenil)borónico con 1-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indazol. LCMS calculado para $C_{31}H_{34}FN_8O_2S$ ($M+H$)⁺ $m/z = 601,3$; encontrado 601,3.

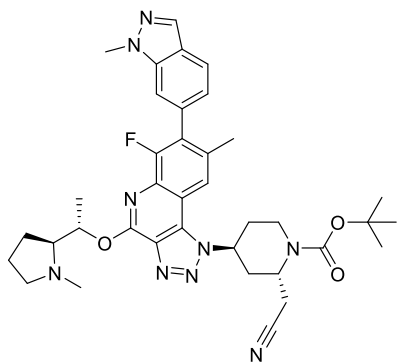
15

Paso 2. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-6-il)-4-(metilsulfinil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



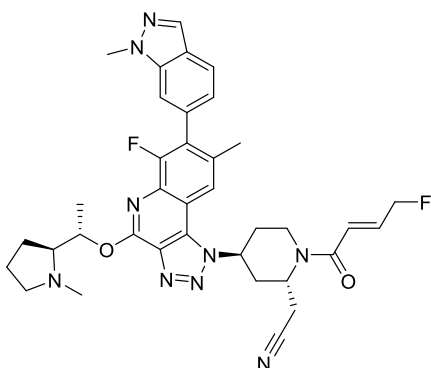
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6, Paso 2**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-6-il)-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo. LCMS calculado para $C_{31}H_{34}FN_8O_3S$ (M+H)⁺ m/z = 617,2; encontrado 617,4.

Paso 3. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-6-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



Se agregó LiHMDS (1,0 M en THF) (40,7 mg, 0,243 mmol) a una solución de (S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etan-1-ol (31,4 mg, 0,243 mmol) en THF (1,0 ml) a 0 °C y se agitó durante 5 min. La solución formada se agregó a una solución de (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-6-il)-4-(metilsulfinil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (75,0 mg, 0,122 mmol) en THF (1,0 ml) a 0 °C y luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con NaHCO₃ saturado, agua, se filtró y se concentró y se usó directamente en el siguiente paso. LCMS calculado para $C_{37}H_{45}FN_9O_3$ (M+H)⁺ m/z = 682,4; encontrado 682,5.

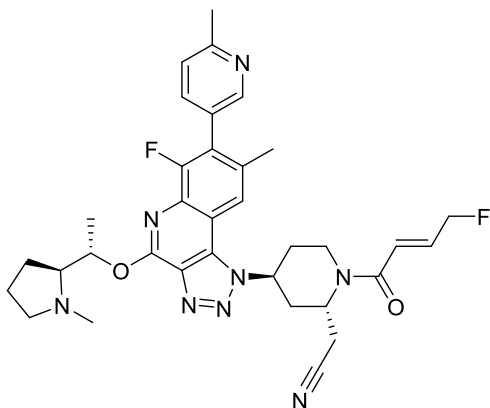
Paso 4. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-6-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo



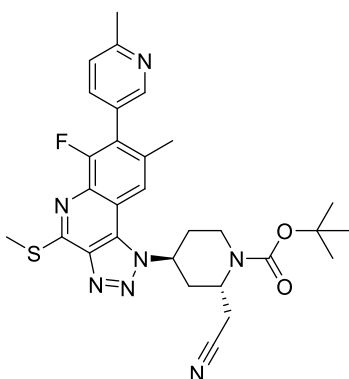
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a y el Ejemplo 1b, paso 2**, reemplazando (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-

5 *c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1*H*-indazol-6-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-
10 *c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para C₃₆H₄₀F₂N₉O₂ (M+H)⁺ *m/z* = 668,3; encontrado 668,5. ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,22 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 7,93 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,13 (dd, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,92 – 6,79 (m, 2H), 5,87 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H), 5,58 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 5,31 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 5,21 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 5,14 (d, *J* = 2,9 Hz, 2H), 5,00 (s, 1H), 4,76 (d, *J* = 13,8 Hz, 1H), 4,32 (d, *J* = 14,2 Hz, 1H), 4,11 (s, 3H), 3,96 (p, *J* = 7,7 Hz, 1H), 3,65– 3,59 (m, 3H), 3,45 – 3,23 (m, 2H), 3,19 (m, 1H), 3,14 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,32– 2,16 (m, 2H), 2,11– 1,89 (m, 2H), 1,59 (s, 3H).

15 **Ejemplo 8. 2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(6-metilpiridin-3-il)-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo**

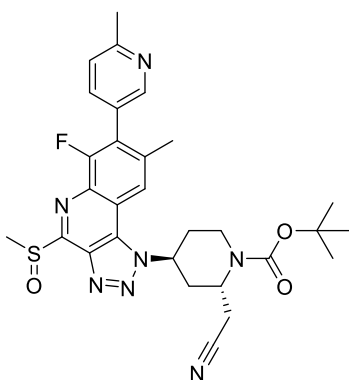


Paso 1. (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(6-metilpiridin-3-il)-4-(metiltio)-1*H*-
20 [1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



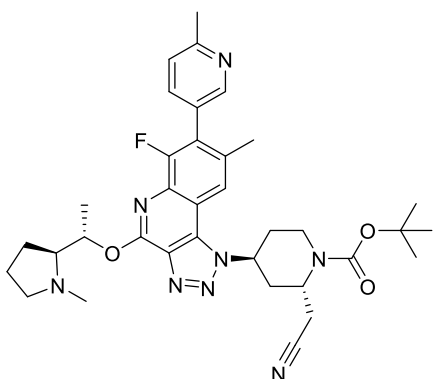
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6, paso 1**, reemplazando el ácido (2,3-dimetilfenil)borónico por ácido (6-metilpiridin-3-il)borónico. LCMS calculado para $C_{29}H_{33}FN_7O_2S$ ($M+H$)⁺ m/z = 562,2; encontrado 562,3.

- 5 **Paso 2.** (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(6-metilpiridin-3-il)-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



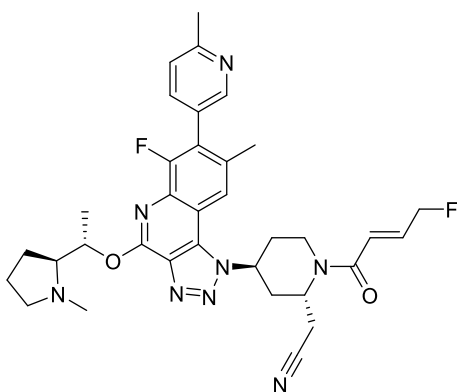
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6, Paso 2**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(6-metilpiridin-3-il)-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo. LCMS calculado para $C_{29}H_{33}FN_7O_3S$ ($M+H$)⁺ m/z = 578,2; encontrado 578,4.

- 10 **Paso 3.** (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(6-metilpiridin-3-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo
- 15



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 7, Paso 3**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1*H*-indazol-6-il)-4-(metilsulfinil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(6-metilpiridin-3-il)-4-(metilsulfinil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para C₃₅H₄₄FN₈O₃ (M+H)⁺ *m/z* = 643,4; encontrado 643,5.

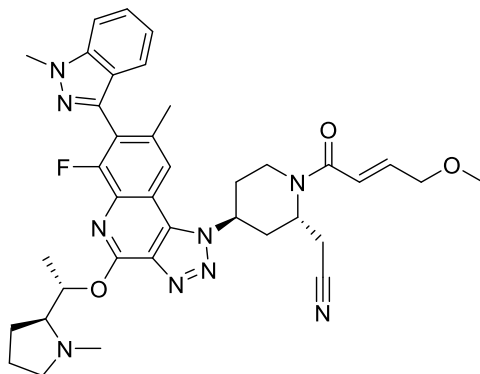
Paso 4. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(6-metilpiridin-3-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-fluorobut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo



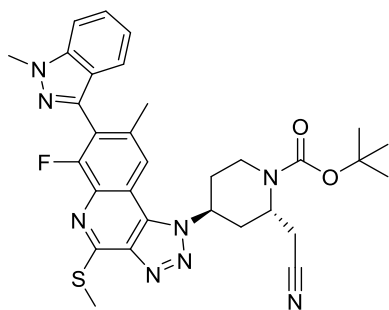
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1a y el Ejemplo 1b, **paso 2**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(6-metilpiridin-3-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para C₃₄H₃₉F₂N₈O₂ (M+H)⁺ *m/z* = 629,3; encontrado 629,5.

Ejemplo 9. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1*H*-indazol-3-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-metoxibut-2-

enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo



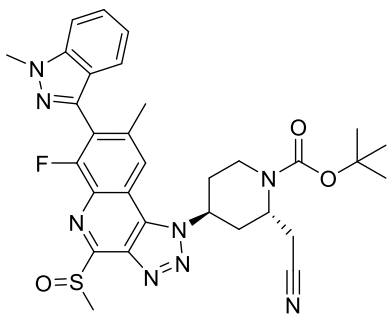
Paso 1. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-3-il)-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



5

Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6, Paso 1**, reemplazando el ácido (2,3-dimetilfenil)borónico con 1-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indazol. LCMS calculado para $C_{31}H_{34}FN_8O_2S$ (M+H)⁺ m/z = 601,3; encontrado 601,1.

Paso 2. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-3-il)-4-(metilsulfinil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

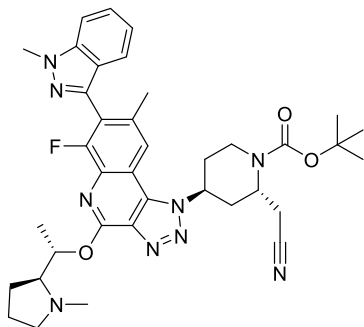


Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6, Paso 2**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-3-il)-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-

15

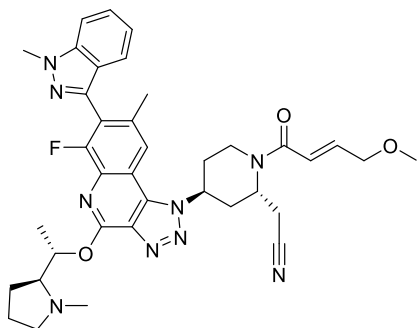
il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo. LCMS calculado para $C_{31}H_{34}FN_8O_3S$ (M+H)⁺ m/z = 617,3; encontrado 617,3.

Paso 3. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-3-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



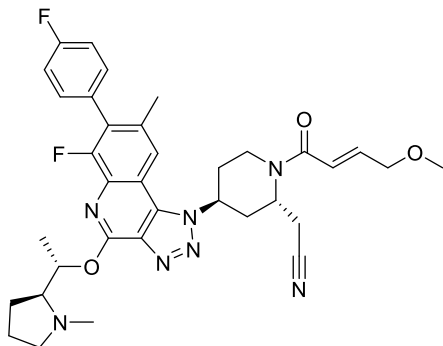
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 7, Paso 3**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-6-il)-4-(metilsulfinil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-3-yl)-4-(metilsulfinil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo. LCMS calculado para $C_{37}H_{45}FN_9O_3$ (M+H)⁺ m/z = 682,4; encontrado 682,4

Paso 4. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-3-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo



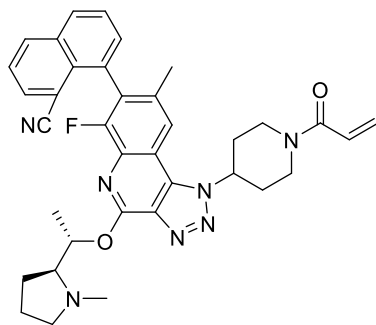
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6, paso 4**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-3-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo. LCMS calculado para $C_{37}H_{43}FN_9O_3$ (M+H)⁺ m/z = 680,4; encontrado 680,3.

Ejemplo 10. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(4-fluorofenil)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo

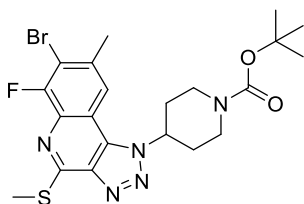


5 Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 9, pasos 1-4**, reemplazando el 1-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indazol con ácido (4-fluorofenil)borónico. LCMS calculado para $C_{35}H_{40}F_2N_7O_3$ (M+H)⁺ m/z = 644,3; encontrado 644,4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10,09 – 9,21 (s, 1H), 8,51 – 7,69 (s, 1H), 7,53 – 7,44 (dd, J = 8,5, 5,7 Hz, 2H), 7,44 – 7,36 (t, J = 8,9 Hz, 2H), 6,83 – 6,63 (m, 2H), 5,92 – 5,72 (m, 1H), 5,66 – 5,47 (m, 1H), 5,41-4,20 (m, 2H), 4,18 – 4,03 (d, J = 2,5 Hz, 2H), 4,00 – 3,85 (m, 1H), 3,69 – 3,53 (m, 2H), 3,39 – 3,32 (s, 3H), 3,27 – 3,10 (m, 5H), 2,55 – 2,36 (d, J = 13,8 Hz, 6H), 2,38 – 2,23 (m, 2H), 2,19 – 2,04 (m, 2H), 2,00 – 1,88 (m, 2H), 1,64 – 1,50 (d, J = 6,1 Hz, 3H).

15 **Ejemplo 11a y Ejemplo 11b. 8-(1-(1-acriloilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo**

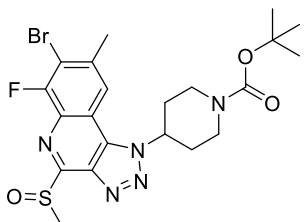


Paso1. 4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



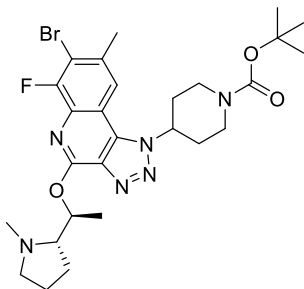
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Intermedio 8, Paso 2**, reemplazando (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con **Intermedio 5**. LCMS calculado para $C_{21}H_{26}BrFN_5O_2S$ ($M+H$)⁺: m/z = 510,1; encontrado 510,1.

Paso 2. 4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-(metilsulfinil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6, Paso 2**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato con 4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para $C_{21}H_{26}BrFN_5O_3S$ ($M+H-tBu$)⁺ m/z = 470,0; encontrado 470,0.

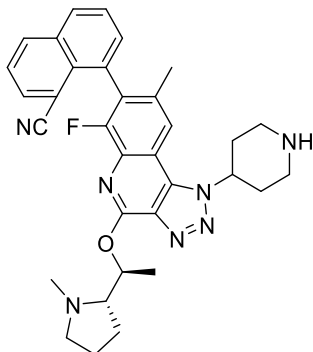
Paso 3. 4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



A una solución de 4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-(metilsulfinil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,51 g, 4,7 mmol) en THF (16 ml) se agregó (S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etan-1-ol (1,23 g, 9,54 mmol) y DBU (1,44 ml, 9,54 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, después se diluyó con EtOAc y se extrajo con NH_4Cl saturado. Las capas orgánicas combinadas se secaron en $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y se luego se purificaron mediante cromatografía en columna 0-8%

MeOH/DCM. LCMS calculado para $C_{27}H_{37}BrFN_6O_3$ (M+H)⁺ m/z = 591,2; encontrado 591,2.

Paso 4. 8-(6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1-(piperidin-4-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo

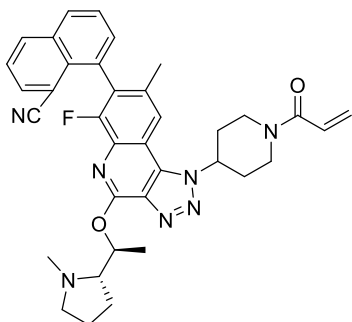


5 Se cargó un vial de reacción con 4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,56 g, 2,64 mmol), 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-naftonitrilo (1,472 g, 5,27 mmol), SPhos Pd G4 (315 mg, 0,396 mmol), K_3PO_4 (1,679 g, 7,91 mmol) y dioxano (11 ml) y H_2O (2,34 ml). La mezcla se purgó con N_2 durante 5 minutos antes de calentarse a 100 °C durante 3 h. Una vez completada, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con NH_4Cl ac. (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró, luego se concentró. El residuo concentrado se redisolvió en CH_2Cl_2 (10 ml) y TFA (5 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Luego se eliminó el solvente y el producto bruto se purificó usando LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un

10 durante 3 h. Una vez completada, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con NH_4Cl ac. (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró, luego se concentró. El residuo concentrado se redisolvió en CH_2Cl_2 (10 ml) y TFA (5 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Luego se eliminó el solvente y el producto bruto se purificó usando LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un

15 gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1 %, a un caudal de 60 ml/min) para proporcionar el producto deseado como un sal de TFA. LCMS calculado para $C_{33}H_{35}FN_7O$ (M+H)⁺ m/z = 564,3; encontrado 564,2.

Paso 5. 8-(1-(1-acriloilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo



20

A una solución de 8-(6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1-(piperidin-4-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo en CH_2Cl_2 (0,4 M) se le agregó

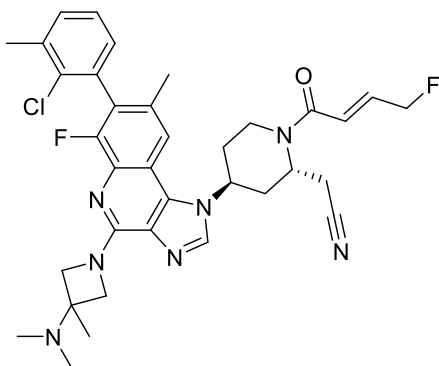
triethylamina (5 eq), seguido de una solución de cloruro de acrililo (1,5 eq) en CH_2Cl_2 (0,5 M). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego se inactivó mediante la adición de MeOH. La mezcla se concentró a presión reducida, luego se diluyó con AcN y se purificó mediante LCMS prep.

5 **Ejemplo 11a.** Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{37}\text{FN}_7\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 618,3; encontrado 618,2.

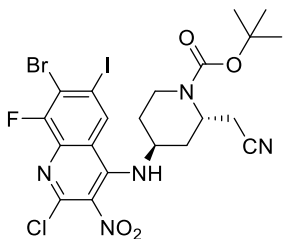
Ejemplo 11b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{37}\text{FN}_7\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 618,3; encontrado 618,2, ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9,98 – 9,50 (d, J = 10,7 Hz, 1H), 8,56 – 8,46 (dd, J = 8,5, 1,3 Hz, 1H), 8,38 – 8,24 (m, 2H), 8,16 – 8,10 (dd, J = 7,2, 1,4 Hz, 1H), 7,91 – 7,83 (dd, J = 8,3, 7,0 Hz, 1H), 7,81 – 7,72 (dd, J = 8,3, 7,2 Hz, 1H), 7,71 – 7,64 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 6,98 – 6,84 (dd, J = 16,7, 10,5 Hz, 1H), 6,25 – 6,16 (dd, J = 16,8, 2,4 Hz, 1H), 5,85 – 5,77 (m, 1H), 5,77 – 5,73 (dd, J = 10,5, 2,4 Hz, 1H), 5,57 – 5,44 (m, 1H), 4,72 – 4,24 (m, 1H), 4,01 – 3,88 (m, 1H), 3,71 – 3,48 (m, 2H), 3,31 – 3,19 (m, 2H), 3,19 – 3,11 (d, J = 4,8 Hz, 3H), 2,48 – 2,34 (m, 2H), 2,34 – 2,03 (m, 9H), 2,00 – 1,86 (m, 2H), 1,64 – 1,52 (d, J = 6,1 Hz, 3H).

15

Ejemplo 12. 2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo



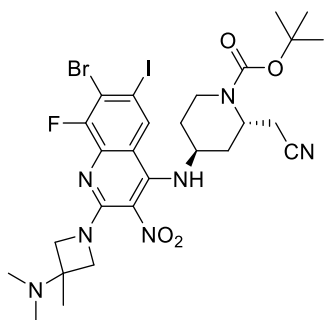
20 **Paso 1.** (2S,4S)-4-((7-bromo-2-cloro-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolin-4-il)amino)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



Se agregó DIPEA (4,5 ml, 25,4 mmol) a una solución de 7-bromo-2,4-dicloro-8-fluoro-6-

yodo-3-nitroquinolina (**Intermedio 1**) (7,9 g, 16,96 mmol) y (2S,4S)-4-amino-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**Intermedio 7**) (4,87 g, 20,35 mmol) en dioxano (50 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego la mayoría de dioxano se retiró a presión reducida. Al residuo restante se le
 5 agregó hielo y agua y la suspensión se agitó vigorosamente. El precipitado sólido se recogió por filtración y se secó para obtener el producto deseado como un sólido amarillo (rendimiento cuantitativo). LCMS calculado para $C_{21}H_{22}BrClFIN_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 668,0; encontrado: 667,8.

Paso 2. (2S,4S)-4-((7-bromo-2-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolin-4-il)amino)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

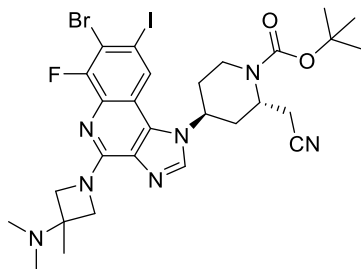


10

A una solución de (2S,4S)-4-((7-bromo-2-cloro-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolin-4-il)amino)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,5 g, 3,74 mmol) en dioxano (20 ml) se agregó DIPEA (2,61 ml, 14,95 mmol) y diclorhidrato de *N,N*,3-trimetilazetidin-3-amina (1,05 g, 5,61 mmol). La mezcla se agitó a 50 °C durante la noche, luego la mayoría de dioxano
 15 se retiró a presión reducida. Al residuo restante se le agregó hielo y agua y la suspensión se agitó vigorosamente hasta que se formó un polvo fino. El precipitado sólido se recogió mediante filtración y se secó al aire para producir el producto deseado (2,7 g, rendimiento del 97 %). LCMS calculada para $C_{27}H_{35}BrFIN_7O_4$ (M+H)⁺: m/z = 746,1; encontrado: 746,1.

Paso 3. (2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-8-yodo-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

20

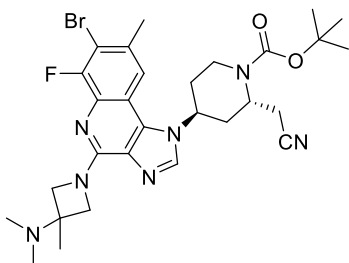


Una mezcla de (2S,4S)-4-((7-bromo-2-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidin-1-il)-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolin-4-il)amino)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,0 g, 1,34 mmol) y hierro (450 mg, 8,04 mmol) se disolvió en AcOH (5,0 ml) y se calentaron a 60°C hasta

que el grupo nitro se redujo por completo. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, luego se diluyó con EtOAc y se filtró sobre un lecho de celite. El filtrado se concentró para producir (2S,4S)-4-((3-amino-7-bromo-2-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-8-fluoro-6-yodoquinolin-4-il)amino)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para $C_{27}H_{37}BrFIN_7O_2$ (M+H)⁺: m/z = 716,1; encontrado: 716,1.

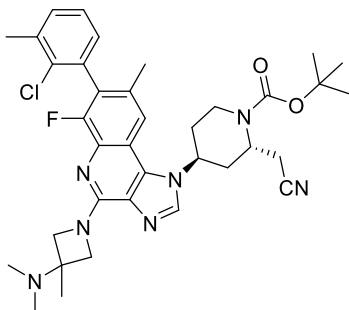
Al residuo concentrado se le agregó ortoformiato de trietilo (0,45 ml, 2,68 mmol) y tolueno (10 ml). La mezcla se calentó a 100 °C durante la noche, luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (MeOH al 0-10 %/CH₂Cl₂) para proporcionar el producto deseado (534 mg, 55 % de rendimiento). LCMS calculado para $C_{28}H_{35}BrFIN_7O_2$ (M+H)⁺: m/z = 726,1; encontrado: 726,1.

Paso 4. (2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Intermedio 8, Paso 2**, reemplazando (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con (2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-yodo-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para $C_{29}H_{38}BrFN_7O_2$ (M+H)⁺ m/z = 614,2; encontrado 614,3.

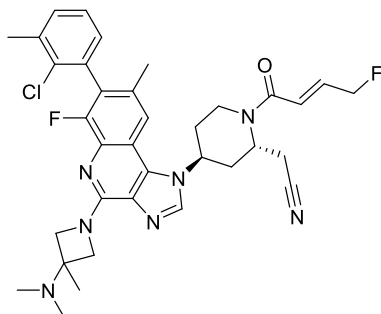
Paso 5. (2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Una mezcla de (2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (785

mg, 1,277 mmol), ácido (2-cloro-3-metilfenil)borónico (283 mg, 1,661 mmol), carbonato de sodio (542 mg, 5,11 mmol) y $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (221 mg, 0,192 mmol) en dioxano (5,5 ml)/agua (1,1 ml) se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió una total de tres veces). La reacción se agitó a 90 °C durante 3 h. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo y se lavó con agua, salmuera. La fase orgánica se filtró, se secó en MgSO_4 , se concentró y se purificó mediante LCMS prep. LCMS calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{ClFN}_7\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 660,3; encontrado 660,3.

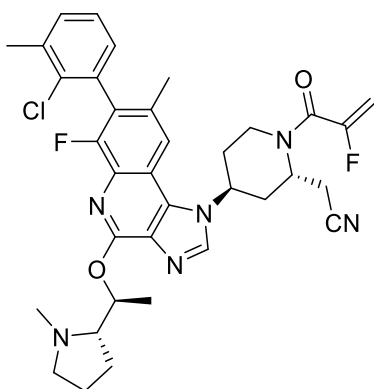
Paso 6. 2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enil)piperidín-2-il)acetonitrilo



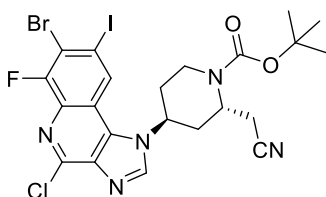
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a y el Ejemplo 1b, paso 2**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-

(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo. Se aisló el producto como una mezcla de diastereómeros. LCMS calculado para $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{ClF}_2\text{N}_7\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 646,3; encontrado 646,3. ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 10,66 – 10,31 (s, 1H), 8,54 – 8,50 (m, 1H), 7,96 – 7,82 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,51 – 7,46 (m, 1H), 7,44 – 7,37 (td, J = 7,6, 2,4 Hz, 1H), 7,29 – 7,17 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,89 – 6,80 (m, 2H), 5,60 – 5,39 (m, 1H), 5,36 – 4,85 (m, 1H), 5,24 – 5,11 (dd, J = 46,5, 2,5 Hz, 2H), 4,79 – 4,19 (m, 5H), 3,72 – 3,56 (m, 1H), 3,49 – 3,14 (m, 2H), 2,85 – 2,75 (s, 6H), 2,49 – 2,03 (m, 10H), 1,71 – 1,61 (s, 3H).

Ejemplo 13. 2-((2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidín-2-il)etoxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilil)piperidín-2-il)acetonitrilo

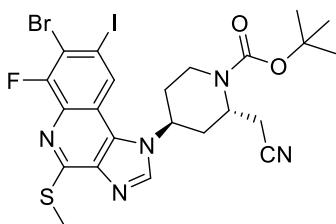


Paso 1. (2S,4S)-4-(7-bromo-4-cloro-6-fluoro-8-yodo-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



5 Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 12, paso 1 seguido del paso 3**. LCMS calculado para $C_{22}H_{22}BrClFIN_5O_2$ (M+H)⁺ m/z = 648,0; encontrado 648,0.

Paso 2. (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

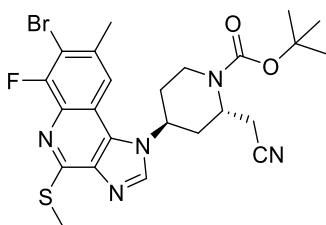


10

Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Intermedio 4, paso 2**, reemplazando (2S,4S)-4-(7-bromo-4-cloro-6-fluoro-8-yodo-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2S,4S)-4-(7-bromo-4-cloro-6-fluoro-8-yodo-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo. LCMS calculado para $C_{23}H_{25}BrFIN_5O_2S$ (M+H)⁺: m/z = 660,0; encontrado: 660,0.

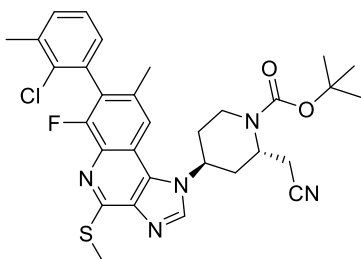
15

Paso 3. (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



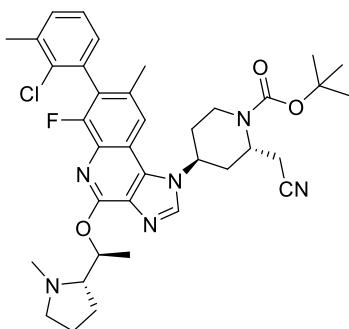
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Intermedio 8, Paso 2**, reemplazando (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo. LCMS calculado para $C_{24}H_{28}BrFN_5O_2S$ ($M+H$)⁺ m/z = 548,1; encontrado 548,1.

Paso 4. (2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 12, Paso 5**, reemplazando (2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo. LCMS calculado para $C_{31}H_{34}ClFN_5O_2S$ ($M+H$)⁺ m/z = 594,2; encontrado 594,3.

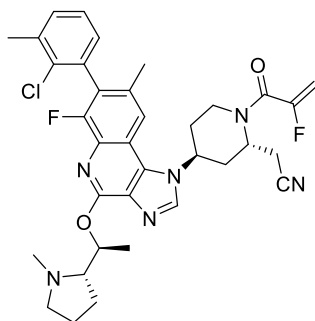
Paso 5. (2S,4S)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 7, Pasos 2-3**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1H-indazol-6-il)-

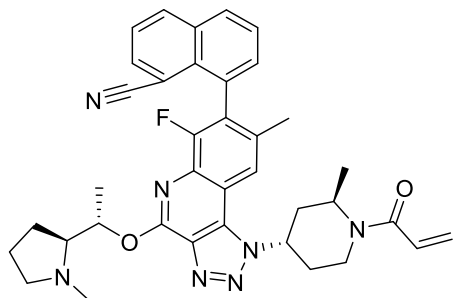
4-(metiltio)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato con (2*S*,4*S*)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo. LCMS calculado para C₃₇H₄₅ClFN₆O₃ (M+H)⁺ m/z = 675,3; encontrado 675,3.

- 5 **Paso 6.** 2-((2*S*,4*S*)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-2-il)acetonitrilo

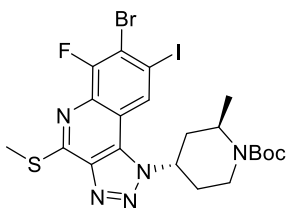


- Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a y el Ejemplo 1b, paso 2**, reemplazando (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2*S*,4*S*)-4-(7-(2-cloro-3-metilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo y reemplazando ácido (*E*)-4-fluorobut-2-enoico con ácido 2-fluoroacrílico. Se aisló el producto como una mezcla de diastereómeros. LCMS calculado para C₃₅H₃₈ClF₂N₆O₂ (M+H)⁺ m/z = 647,3; encontrado 647,3.

Ejemplo 14a y 14b. 8-(1-((2*R*,4*S*)-1-acriloil-2-metilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo

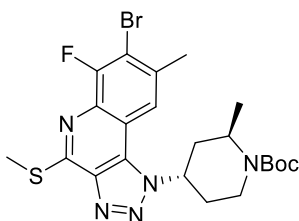


- 20 **Paso 1.** (2*R*,4*S*)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de terc-butilo



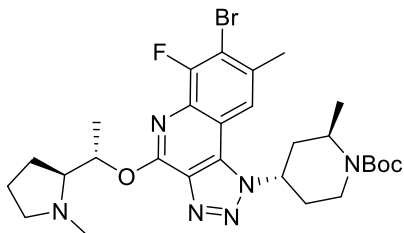
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Intermedio 4**, reemplazando (2*S*,4*S*)-4-amino-2-(2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con (2*R*,4*S*)-4-amino-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. LCMS calculado para $C_{21}H_{25}BrFIN_5O_2S$ ($M+H$)⁺: m/z = 636,0; encontrado: 636,0.

Paso 2. (2*R*,4*S*)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Una mezcla de (2*R*,4*S*)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-yodo-4-(metiltio)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (5 g, 7,86 mmol), ácido metilborónico (0,941 g, 15,72 mmol), fosfato potásico (5,00 g, 23,57 mmol) y diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (0,827 g, 1,179 mmol) en dioxano (60 ml) y agua (20 ml) se calentó y se agitó a 90 °C durante 3 h. Luego se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se diluyó con AcOEt y agua y se separó. La capa acuosa se extrajo con AcOEt y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc al 0-20 % en CH₂Cl₂) para dar el producto deseado en forma de un sólido marrón. LCMS calculado para $C_{22}H_{28}BrFN_5O_2S$ ($M+H$)⁺ m/z = 524,1; encontrado 524,1.

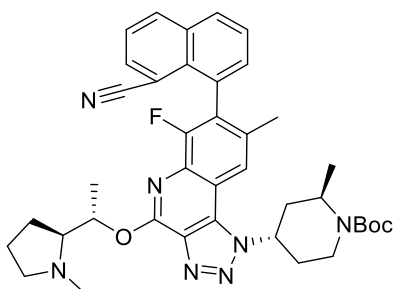
Paso 3. (2*R*,4*S*)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 7**, **Pasos 2-3**, reemplazando (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metil-1*H*-indazol-6-il)-

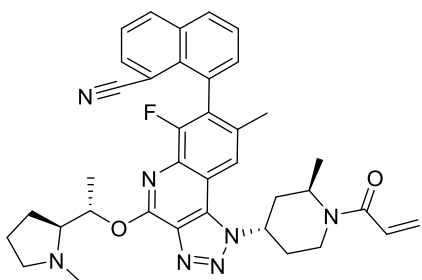
4-(metiltio)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con (2*R*,4*S*)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-yl)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (AcOEt al 20-80 % en DCM) para dar el producto deseado en forma de un sólido marrón. LCMS calculado para C₂₈H₃₉BrFN₆O₃ (M+H)⁺ m/z = 605,2; encontrado 605,2.

Paso 4. (2*R*,4*S*)-4-(7-(8-cianonaftalen-1-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo



Una mezcla de (2*R*,4*S*)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 0,330 mmol), 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-naftonitrilo (184 mg, 0,661 mmol), fosfato tripotásico (351 mg, 1,651 mmol) y SPhos Pd G4 (79 mg, 0,099 mmol) en dioxano (8 ml) y agua (2 ml) se calentaron a 90 °C. Después de agitar a la misma temperatura durante 3 h, la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc y agua y se separó. La capa acuosa se extrajo con AcOEt y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc al 20-80% en CH₂Cl₂) para dar el producto deseado en forma de un sólido marrón. LCMS calculado para C₃₉H₄₅FN₇O₃ (M+H)⁺ m/z = 678,4; encontrado 678,4.

Paso 5. 8-(1-((2*R*,4*S*)-1-acriloil-2-metilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo



(2*R*,4*S*)-4-(7-(8-cianonaftalen-1-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato (400 mg, 0,578 mmol) se disolvió en 5 ml de TFA. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min y

luego se eliminó el solvente.

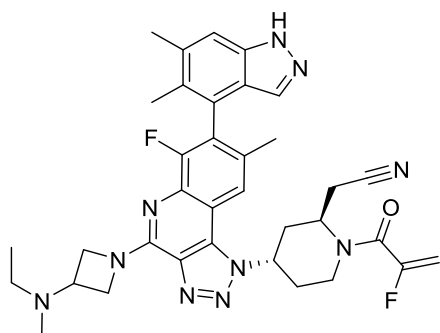
El residuo se disolvió en acetonitrilo (10 ml) y se agregó Et₃N (484 µl, 3,47 mmol). Después de agitar a 0°C durante varios minutos, la mezcla turbia se convirtió en una solución transparente. Se agregó cloruro de acrilóilo (94 µl, 1,157 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min, luego se disolvió con TFA y se purificó con prep-LCMS (columna XBridge C18, que eluye con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar el producto deseado.

Ejemplo 14a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para C₃₇H₃₉FN₇O₂ (M+H)⁺ m/z = 632,3; encontrado 632,3.

Ejemplo 14b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para C₃₇H₃₉FN₇O₂ (M+H)⁺ m/z = 632,3; encontrado 632,3.

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 9,87 (s, 1H), 8,51 (dd, J = 8,5, 1,4 Hz, 1H), 8,31 (dd, J = 8,3, 1,3 Hz, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,14 (dd, J = 7,2, 1,3 Hz, 1H), 7,87 (dd, J = 8,3, 7,1 Hz, 1H), 7,77 (dd, J = 8,3, 7,2 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 6,93 – 6,87 (m, 1H), 6,16 (dd, J = 16,7, 2,4 Hz, 1H), 5,95 (s, 1H), 5,73 (dd, J = 10,5, 2,4 Hz, 1H), 5,51 (dd, J = 10,1, 5,9 Hz, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,68 (s, 1H), 4,27 (d, J = 13,9 Hz, 1H), 3,95 (dd, J = 7,8, 7,7 Hz, 1H), 3,68 (s, 1H), 3,57 (dq, J = 12,2, 6,2 Hz, 1H), 3,17 (m, J = 4,9 Hz, 3H), 2,46 (d, J = 9,7 Hz, 2H), 2,35 – 2,26 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,10 (td, J = 11,8, 5,2 Hz, 1H), 1,93 (tq, J = 14,3, 6,8 Hz, 2H), 1,58 (d, J = 6,1 Hz, 4H), 1,51 (d, J = 7,0 Hz, 2H).

Ejemplo 15a y 15b. 2-((2S,4S)-4-(7-(5,6-dimetil-1H-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)azetidin-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilóilo)piperidin-2-il)acetonitrilo



Paso 1. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(5,6-dimetil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

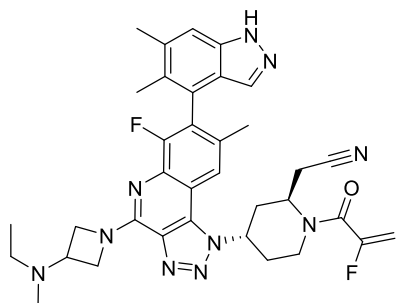
5
10

CCN(CC)C1CCN1c2nc3c(ncn3C1=CN2C4=CC(=C(C)C(F)=C4C5=CC(=C(C)C(N5)N6CCOCC6)C#N)C#N)C#N

15
20

20-80% en CH₂Cl₂) para dar el producto deseado como un sólido marrón. LCMS calculado para C₄₂H₅₄FN₁₀O₃ (M+H)⁺ m/z = 765,4; encontrado 765,3.

Paso 3. 2-((2*S*,4*S*)-4-(7-(5,6-dimetil-1*H*-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)azetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrililo)piperidín-2-il)acetonitrilo



5

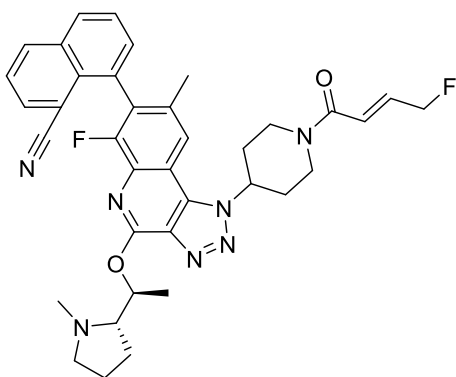
(2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(7-(5,6-dimetil-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)azetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-yl)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (378 mg, 0,494 mmol) se disolvió en TFA (5 ml). La mezcla se agitó a 60 °C durante 10 min y luego se eliminó el solvente. El residuo se combinó con ácido 2-fluoroacrílico (131 mg, 1,455 mmol), luego se agregó acetonitrilo (10 ml) seguido de DIPEA (506 µl, 2,89 mmol) y T3P (853 µl, 50 % en EtOAc, 1,447 mmol). Después de agitarse a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla se diluyó con TFA, se filtró y se purificó usando prep-LCMS (columna XBridge C18, que eluye con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar los compuestos deseados como una sal de TFA.

Ejemplo 15a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para C₃₅H₃₉F₂N₁₀O (M+H)⁺ m/z = 653,3; encontrado 653,3. ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 13,02 (s, br, 1H), 10,21 (s, br, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 5,86 (td, *J* = 11,4, 5,5 Hz, 1H), 5,45 – 5,38 (m, 1H), 5,33 (m, 1H), 4,69 (s, 8H), 4,40 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,15 (s, 1H), 3,73 (s, 1H), 3,36 (dd, *J* = 17,2, 6,6 Hz, 2H), 3,11 (m, 1H), 2,86 (s, 3H), 2,49 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 2,47 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,25 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H).

Ejemplo 15b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para C₃₅H₃₉F₂N₁₀O (M+H)⁺ m/z = 653,3; encontrado 653,3.

Ejemplo 16a y Ejemplo 16b. 8-(6-fluoro-1-(1-((*E*)-4-fluorobut-2-enilo)piperidín-4-il)-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidín-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo

25

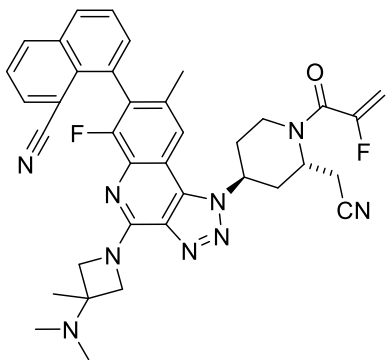


Se cargó un matraz de fondo redondo con 8-(6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1-(piperidin-4-il)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo del **Ejemplo 11, paso 1-4** (600 mg, 0,854 mmol), solución de anhídrido propilfosfónico (50 % en EtOAc, 1,6 ml, 2,56 mmol), ácido (*E*)-4-fluorobut-2-enoico (267 mg, 2,56 mmol) y acetonitrilo (15 ml). El matraz de reacción se enfrió a 0 °C y se agregó TEA (1,7 ml, 12,8 mmol) a la reacción. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 h, la reacción se detuvo con NaHCO₃ ac. (10 ml), se extrajo con EtOAc (25 ml x 3), y se concentró. La mezcla bruta se volvió a disolver en acetonitrilo y se purificó con prep-LCMS (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar el producto deseado.

Ejemplo 16a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para C₃₇H₃₈F₂N₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 650,3; encontrado: 650,3.

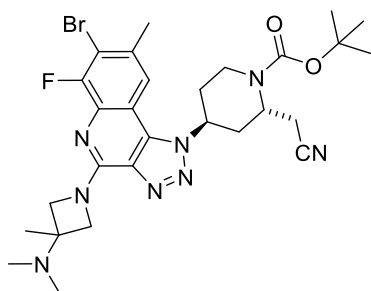
Ejemplo 16b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para C₃₇H₃₈F₂N₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 650,3; encontrado: 650,3.

Ejemplo 17a y Ejemplo 17b. 8-(1-((2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-1-(2-fluoroacrilil)piperidin-4-il)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo



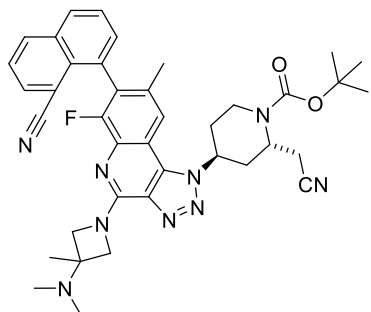
Paso 1. (2*S*,4*S*)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-

[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



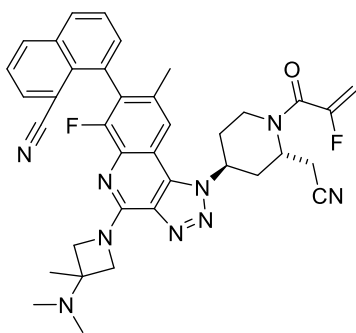
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6**, **Pasos 2-3**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con **Intermedio 8**. El residuo bruto se purificó sobre sílice (MeOH al 0-10% en DCM) para dar el producto deseado como un sólido marrón (700 mg, rendimiento del 63 %). LCMS calculado para $C_{28}H_{37}BrFN_8O_2$ (M+H)⁺: m/z = 615,2; encontrado: 615,2.

Paso 2. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(8-cianonaftalen-1-il)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Se cargó un vial de reacción con (2S,4S)-4-(7-bromo-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (500 mg, 0,79 mmol), SPhos Pd G4 (97 mg, 0,12 mmol), 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-naftonitrilo (453 mg, 1,63 mmol), K_3PO_4 (571 mg, 2,44 mmol) y dioxano (9 ml) y H_2O (3 ml). La mezcla se purgó con N_2 durante 5 minutos antes de calentarse a 90 °C durante 2 h. Una vez completada, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (30 ml) y se lavó con agua ac. (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre $MgSO_4$ y se purificó sobre sílice (MeOH al 0-10 % en DCM) para dar el producto deseado en forma de un sólido marrón (358 mg, rendimiento del 64 %). LCMS calculado para $C_{39}H_{43}FN_9O_2$ (M+H)⁺: m/z = 688,4; encontrado: 688,3.

Paso 3. 8-(1-((2S,4S)-2-(cianometil)-1-(2-fluoroacrililoil)piperidin-4-il)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-naftonitrilo

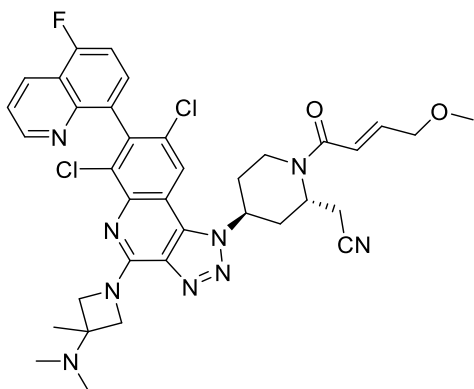


Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a** y el **Ejemplo 1b**, **paso 2**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(8-cianonaftalen-1-il)-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo, y reemplazando ácido (E)-4-fluorobut-2-enoico con ácido 2-fluoroacrílico.

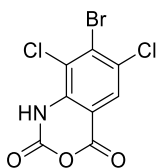
Ejemplo 17a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{37}H_{36}F_2N_9O$ ($M+H$)⁺: m/z = 660,3; encontrado: 660,3. ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,48 (dd, J = 8,4, 1,3 Hz, 1H), 8,28 (dd, J = 8,4, 1,3 Hz, 1H), 8,12 (dd, J = 7,1, 1,3 Hz, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,85 (dd, J = 8,3, 7,1 Hz, 1H), 7,75 (dd, J = 8,3, 7,1 Hz, 1H), 7,62 (dd, J = 7,1, 1,3 Hz, 1H), 5,90-5,75 (m, 1H), 5,45-5,30 (m, 2H), 4,00-4,50 (m, 11H), 2,85 (s, 6H), 2,50 (s, 1H), 2,20-2,15 (m, 4H), 1,70 (s, 3H).

Ejemplo 17b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{37}H_{36}F_2N_9O$ ($M+H$)⁺: m/z = 660,3; encontrado: 660,3.

Ejemplo 18a y 18b. 2-((2S,4S)-4-(6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo

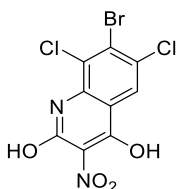


Paso 1. 7-bromo-6,8-dicloro-2H-benzo[d][1,3]oxazina-2,4(1H)-diona



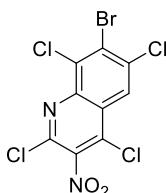
Se agregó NCS (5,6 g, 41,9 mmol) a una solución de ácido 2-amino-4-bromo-3-clorobenzoico (10,0 g, 39,9 mmol) en 1,4-dioxano (100 ml) y luego la reacción se agitó a 70 °C durante la noche. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente antes de agregar trifosgeno (4,7 g, 15,96 mmol) y luego se agitó a 80 °C durante 2 h. Al finalizar, se agregó hielo y la mezcla se agitó durante 30 min. El precipitado sólido se recogió mediante filtración y se lavó con agua helada para proporcionar el producto deseado.

Paso 2. 7-bromo-6,8-dicloro-3-nitroquinolina-2,4-diol



Se agregó DIPEA (3,49 ml, 19,97 mmol) a una solución de 2-nitroacetato de etilo (2,66 g, 19,97 mmol) en tolueno (40,0 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 10 min, se agregó 7-bromo-6,8-dicloro-2H-benzo[d][1,3]oxazina-2,4(1H)-diona (3,1 g, 10,0 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 95 °C durante 3 h. La reacción se enfrió con agua helada, después los sólidos se recogieron mediante filtración y se lavaron con una pequeña cantidad de acetato de etilo para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido amarillo (1,05 g, 30%). LCMS calculado para $C_9H_4BrCl_2N_2O_4$ (M+H)⁺: m/z = 352,9; encontrado 353,0.

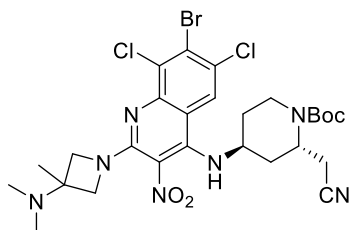
Paso 3. 7-bromo-2,4,6,8-tetracloro-3-nitroquinolina



Se agregó DIPEA (0,98 ml, 5,6 mmol) a una mezcla de 7-bromo-6,8-dicloro-3-nitroquinolina-2,4-diol (1,0 g, 2,82 mmol) en POCl₃ (6,0 ml, 64,4 mmol) a temperatura ambiente. Luego la reacción se agitó a 100 °C durante 3 h. El solvente se eliminó al vacío. El residuo concentrado se volvió a disolver en acetato de etilo y luego se lavó con NaHCO₃ (ac.). Las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío para proporcionar el producto en bruto que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional.

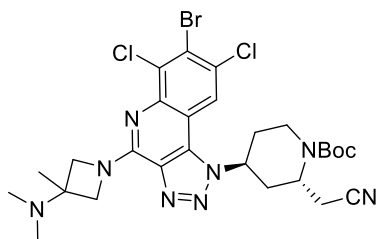
Paso 4. (2S,4S)-4-((7-bromo-6,8-dicloro-2-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-3-nitroquinolin-

4-il)amino)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



A una solución de 7-bromo-2,4,6,8-tetracloro-3-nitroquinolina (1 g, 2,56 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) se le agregó DIPEA (1,8 ml, 10,24 mmol) y **el Intermedio 7** (730 mg, 3,0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego se agregó N,N,3-trimetilazetidín-3-amina (350 mg, 3,0 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta su finalización. La reacción se diluyó con CH₂Cl₂ y luego se lavó con una solución saturada de NH₄Cl. El solvente se retiró al vacío y el producto bruto se usó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS calculado para C₂₇H₃₅BrCl₂N₇O₄ (M+H)⁺: m/z = 670,1; encontrado 670,1.

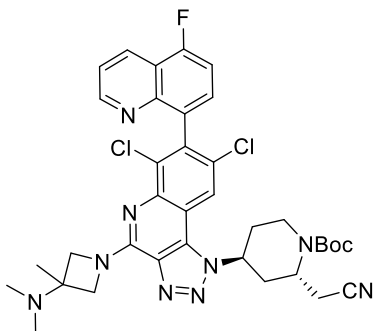
Paso 5. *(2S,4S)-4-(7-bromo-6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo*



Una suspensión de *terc*-butilo (2S,4S)-4-((7-bromo-6,8-dicloro-2-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-3-nitroquinolin-4-il)amino)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato (1,7 g, 2,56 mmol) en THF/MeOH/H₂O (1:1:1) (30 ml), hierro (1,43 g, 25,6 mmol) y NH₄Cl (1,37 g, 25,6 mmol) se calentó a 65 °C durante 30 min. Una vez completada, la reacción se diluyó con MeOH y se filtró. El solvente se eliminó al vacío, el residuo se basificó con NaHCO₃ y se extrajo con CH₂Cl₂. El solvente se retiró al vacío.

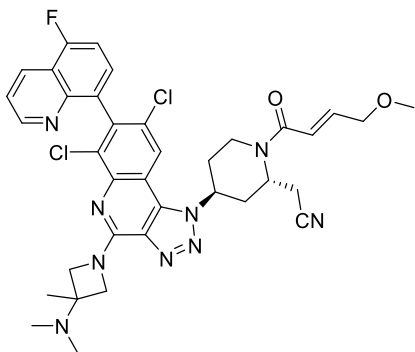
El residuo concentrado se redisolvió en ácido acético (5 ml) y se agregó nitrito de sodio (176 mg, 5,12 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Al completarse, el solvente se retiró al vacío y el residuo se basificó con NaHCO₃ y se extrajo con CH₂Cl₂. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron hasta sequedad y se purificaron sobre gel de sílice para producir el producto deseado (1,0 g, 60 %). LCMS calculado para C₂₇H₃₄BrCl₂N₈O₂ (M+H)⁺: m/z = 651,1; encontrado 651,0.

Paso 6. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



A una solución de (2S,4S)-4-(7-bromo-6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (650 mg, 1,0 mmol) en dioxano/H₂O = 4:1 (10 ml), K₃PO₄ (850 mg, 4 mmol), se agregó ácido (5-fluoroquinolin-8-il)borónico (286 mg, 1,5 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (80 mg, 0,07 mmol), la mezcla de reacción se calentó hasta 90 °C durante 1,5 horas. Una vez completada, la reacción se diluyó con agua y se extrajo con CH₂Cl₂, las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron hasta sequedad y se purificaron sobre gel de sílice para producir el producto deseado como una mezcla de diastereómeros (550 mg, 76 %). LCMS calculado para C₃₆H₃₉Cl₂FN₉O₂ (M+H)⁺: m/z = 718,3; encontrado 718,2.

Paso 7. 2-((2S,4S)-4-(6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo



15

Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6, paso 4**, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. El producto se purificó mediante LCMS preparativa (columna C18 XBridge, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía NH₄OH al 0,15 %, a una velocidad de flujo de 60

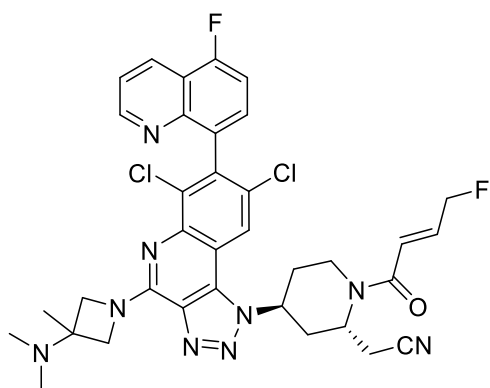
20

ml/min) para obtener los productos deseados.

Ejemplo 18a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{36}H_{37}Cl_2FN_9O_2$ (M+H)⁺ m/z = 716,2; encontrado 716,2.

Ejemplo 18b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{36}H_{37}Cl_2FN_9O_2$ (M+H)⁺ m/z = 716,2; encontrado 716,2.

Ejemplo 19a y 19b. 2-((2S,4S)-4-(6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-fluorobut-2-enoil)piperidín-2-il)acetonitrilo

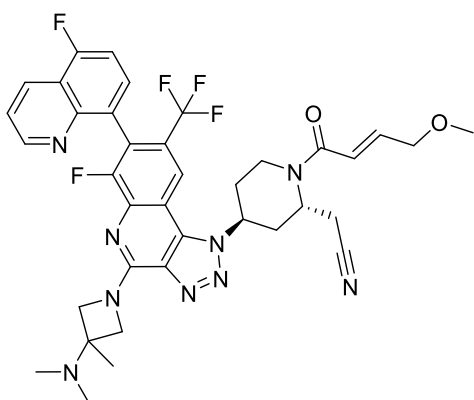


Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a** y el **Ejemplo 1b**, paso 2, reemplazando (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6,8-dicloro-4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo.

Ejemplo 19a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{35}H_{34}Cl_2F_2N_9O$ (M+H)⁺ m/z = 704,2; encontrado 704,2.

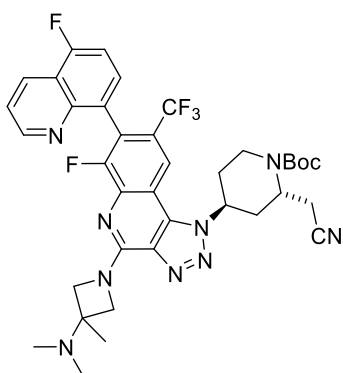
Ejemplo 19b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{35}H_{34}Cl_2F_2N_9O$ (M+H)⁺ m/z = 704,2; encontrado 704,2.

Ejemplo 20. 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidín-2-il)acetonitrilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1a** y el **Ejemplo 1b, paso 2** del **Ejemplo 1a**, reemplazando el ácido (*E*)-4-fluorobut-2-enoico por ácido (*E*)-4-metoxibut-2-enoico.

- 5 **Paso 1.** (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



- Se cargó un vial de reacción con el **Intermedio 3** (1,3 g, 1,9 mmol), XPhos Pd G2 (76 mg, 0,097 mmol), ácido (5-fluoroquinolin-8-il)borónico (408 mg, 2,1 mmol), K₃PO₄ (1,24 g, 5,83 mmol) y dioxano (5 ml) y H₂O (1 ml). La mezcla se purgó con N₂ durante 5 minutos antes de calentarse a 90 °C durante 1 h. Una vez completada, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con NH₄Cl ac. (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró, luego se concentró. El producto bruto se purificó primero con sílice (20 g, EtOAc al 50-100 % en CH₂Cl₂) y luego se purificó adicionalmente usando LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía NH₄OH al 0,15 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para separar los diastereómeros (polvo amorfo blanco, rendimiento combinado del 21 %).

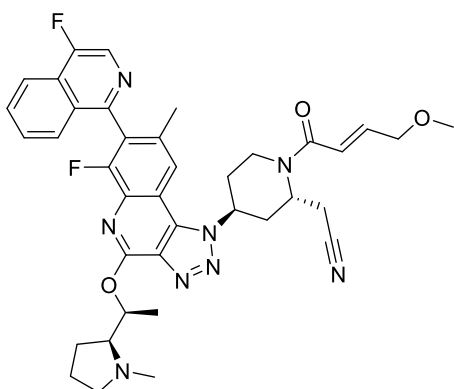
- Diastereómero 1.** Pico 1. LCMS calculado para C₃₇H₃₉F₅N₉O₂ (M+H)⁺ m/z = 736,3; encontrado 736,2.

Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{37}H_{39}F_5N_9O_2$ (M+H)⁺ m/z = 736,3; encontrado 736,2.

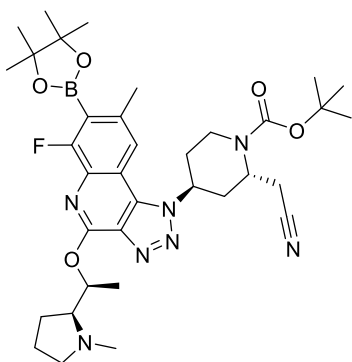
Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo

Un vial de reacción cargado con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(dimetilamino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(5-fluoroquinolin-8-il)-8-(trifluorometil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**Diastereómero 1**, 300 mg, 0,41 mmol) del *paso 1* se agregó TFA (1 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 15 min, se eliminaron los volátiles. El residuo se volvió a disolver en acetonitrilo (4 ml) y se enfrió a 0 °C. Se agregó DIPEA (0,21 ml) a la reacción, seguido de ácido (E)-4-metoxibut-2-enoico (71 mg, 0,61 mmol) y solución de anhídrido propilfosfónico (50 % en EtOAc, 0,50 ml, 0,82 mmol). Después de agitar a 0 °C durante 10 min, la reacción se inactivó con NaHCO₃ ac. (5 ml) se extrajo con EtOAc (5 ml), se lavó con salmuera y se concentró. El producto bruto se volvió a disolver en acetonitrilo y se purificó con prep-LCMS (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar el **Ejemplo 20 (diastereómero único)** como sal TFA en forma de polvo amorfo blanco. LCMS calculado para $C_{37}H_{37}F_5N_9O_2$ (M+H)⁺ m/z = 734,3; encontrado 734,4. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ 10,80 (s, 1H), 8,87 (dd, J = 4,2, 1,7 Hz, 1H), 8,62 (dd, J = 8,5, 1,8 Hz, 1H), 8,41 (s, 1H), 7,82 (dd, J = 8,0, 5,9 Hz, 1H), 7,70 (dd, J = 8,5, 4,1 Hz, 1H), 7,65 (dd, J = 9,7, 8,0 Hz, 1H), 6,81 – 6,72 (m, 2H), 5,93 (s, 1H), 5,31 (s, 1H), 4,96 (m, 2H), 4,76 – 4,32 (m, 2H), 4,11 (d, J = 3,1 Hz, 2H), 3,67 – 3,34 (m, 2H), 3,33 (s, 3H), 3,19 (td, J = 16,6, 10,1 Hz, 2H), 2,84 (s, 6H), 2,49 – 2,43 (m, 2H), 2,33 (s, 1H), 2,21 (d, J = 15,7 Hz, 1H), 1,71 (s, 3H).

Ejemplo 21. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(4-fluoroisoquinolin-1-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo



Paso 1. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

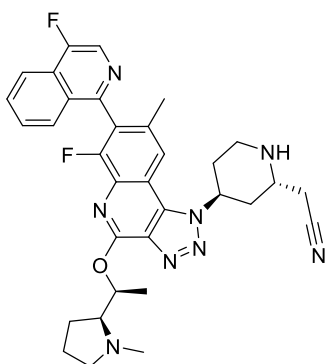


5

Se cargó un vial de reacción con (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (315 mg, 0,5 mmol), Bis(pinacolato)diboro (165 mg, 0,65 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (36 mg, 0,05 mmol), acetato de potasio (147 mg, 1,5 mmol) y dioxano (5 ml). La mezcla se purgó con N₂ durante 5 minutos antes de calentarse a 80 °C durante 16 h. Una vez completada, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con DCM (100 ml) y se lavó con NH₄Cl ac. (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró, luego se concentró. El producto bruto se utilizó para el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(4-fluoroisoquinolin-1-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

15



Se cargó un vial de reacción con (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo del último paso 1, 1-cloro-4-fluoroisoquinolina (118 mg, 0,65 mmol), Pd(PPh₃)₄ (58 mg, 0,05 mmol), K₃PO₄ (318 mg, 1,5 mmol), dioxano (4 ml) y agua (1 ml). La mezcla se calentó a 90 °C durante 1 h. Una vez completada, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con NH₄Cl ac. (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró, luego se concentró.

El producto bruto se disolvió en 5 ml de solución de DCM/TFA (1:1). Una vez completada, la reacción se concentró. El producto bruto se redisolvió en acetonitrilo y se purificó usando LCMS prep (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar el producto deseado como una mezcla de diastereómeros. LCMS calculado C₃₃H₃₅F₂N₈O (M+H)⁺ m/z = 597,3; encontrado 597,3.

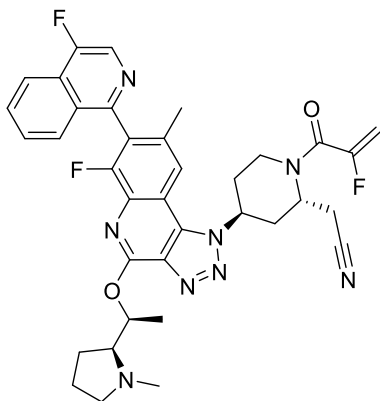
Paso 3. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(4-fluoroisoquinolin-1-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo

Un vial de reacción cargado con 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(4-fluoroisoquinolin-1-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetonitrilo (30 mg, 0,05 mmol), DIPEA (0,087 ml, 0,5 mmol), ácido (E)-4-metoxibut-2-enoico (12 mg, 0,1 mmol), 1 ml de MeCN y solución de anhídrido propilfosfónico (50 % en EtOAc, 0,06 ml, 0,1 mmol). Después de agitar a 0 °C durante 10 min, la reacción se diluyó en acetonitrilo y se purificó usando LCMS prep (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar el producto deseado como una mezcla de diastereómeros.

Ejemplo 21. LCMS calculado para C₃₈H₄₁F₂N₈O₃ (M+H)⁺ m/z = 695,3; encontrado 695,3.

Ejemplo 22. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(4-fluoroisoquinolin-1-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-

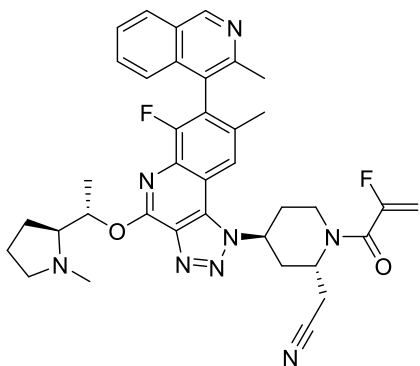
metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrililoil)piperidin-2-il)acetonitrilo



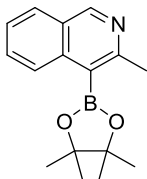
Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 21**, reemplazando el ácido (*E*)-4-metoxibut-2-enoico por ácido 2-fluoroacrílico.

Ejemplo 22. LCMS calculado para $C_{36}H_{36}F_3N_8O_2$ ($M+H$)⁺ m/z = 669,3; encontrado 669,3.

Ejemplo 23a y Ejemplo 23b. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(3-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrililoil)piperidin-2-il)acetonitrilo



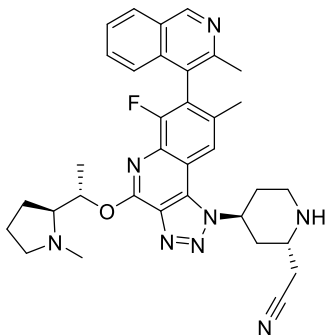
Paso 1. 3-metilo-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoquinolina



Una mezcla de 4-bromo-3-metilisoquinolina (1,110 g, 5,0 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (2,285 g, 9,00 mmol), acetato de potasio (1,472 g, 15,00 mmol) y $PdCl_2(dppf)$ (0,366 g, 0,500 mmol) en dioxano (20,0 ml) se agitó a 105 °C durante 5 h. Se eliminó el solvente y el producto se purificó mediante columna eluyendo con hexano/EtOAc

(máx. EtOAc 80%). LCMS calculado para $C_{16}H_{21}BNO_2$ ($M+H$)⁺ m/z = 270,1; encontrado 270,1.

Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(3-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetonitrilo



5 Una mezcla de terc-butilo (2S,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato (45,0 mg, 0,071 mmol), 3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoquinolina (28,8 mg, 0,107 mmol), fosfato de potasio (45,4 mg, 0,214 mmol) y metanosulfonato(2-diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxi-1,1'-bifenil)(2'-metilamino-1,1'-bifenil-2-il)paladio(II) aducto de diclorometano (SPhos Pd G4) (5,68 mg, 7,14 μ mol) en dioxano (2 ml)/agua (0,4 ml) se aspiró y luego se rellenó con N₂ dos veces y luego la reacción se agitó a 95 °C durante 4 h. La mezcla se diluyó con MeCN y luego se purificó mediante HPLC preparativa a PH = 10. Se eliminó el solvente y el residuo se disolvió en MeCN (1,0 ml) y luego se agregó TFA (1,0 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 40 min. Se eliminó el solvente y el producto bruto se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS calculado para $C_{34}H_{38}FN_8O$ ($M+H$)⁺ m/z = 593,3; encontrado 593,4.

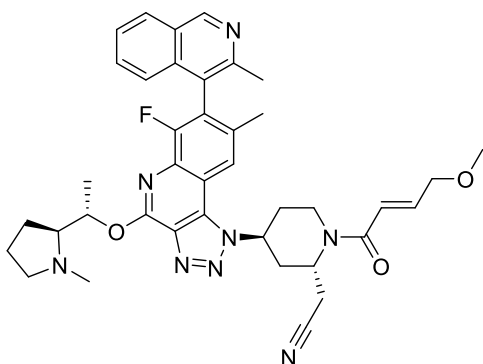
Paso 3. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(3-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilil)piperidin-2-il)acetonitrilo

Se agregó trietilamina (5,64 μ l, 0,040 mmol) a una solución de 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(3-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetonitrilo (4,0 mg, 6,75 μ mol), ácido 2-fluoroacrílico (1,215 mg, 0,013 mmol) y anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (T3P 50 % en EtOAc) (4,02 μ l, 0,013 mmol) en acetato de etilo (0,8 ml) a 0 °C y luego la reacción se agitó durante 30 min. Se eliminó el solvente y el producto bruto se redisolvió en acetonitrilo y se purificó usando LCMS prep (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar el producto como sal TFA.

Ejemplo 23a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{37}H_{39}F_2N_8O_2$ ($M+H$)⁺ m/z = 665,3; encontrado 665,4.

Ejemplo 23b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{37}H_{39}F_2N_8O_2$ (M+H)⁺ m/z = 665.3; fencontrado 665,4. ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9,46 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,27 (m, 1H), 7,72 (m, 2H), 7,22 (m, 1H), 5,94 (m 1H), 5,64 (m, 1H), 5,28-5,37 (m, 2H), 3,96 (q, 1H), 3,63 (m, 3H), 3,54 (m, 1H), 3,38 (m, 2H), 3,21 (m, 1H), 3,16 (s, 3H), 2,51(m, 4H), 2,40 (s, 3H), 2,34 (m, 1H), 2,19 (s, 3H), 2,13 (m, 1H), 1,97 (m, 2H), 1,59 (d, 3H).

Ejemplo 24a y Ejemplo 24b. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(3-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo

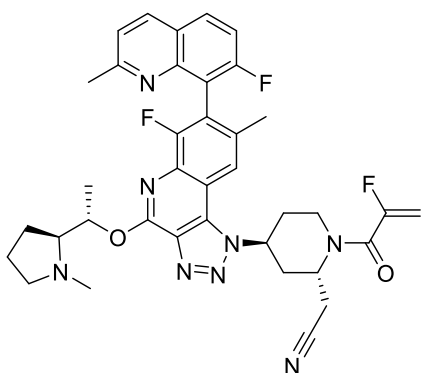


Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 23a y el Ejemplo 23b, paso 3** reemplazando el ácido 2-fluoroacrílico por ácido (E)-4-metoxibut-2-enico.

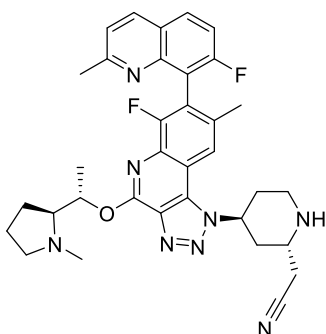
Ejemplo 24a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculada para $C_{39}H_{44}FN_8O_3$ (M+H)⁺ m/z = 691,3; encontrado 691,5.

Ejemplo 24b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{39}H_{44}FN_8O_3$ (M+H)⁺ m/z = 691,3; encontrado 691,5.

Ejemplo 25a y Ejemplo 25b. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(7-fluoro-2-metilquinolin-8-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-2-il)acetonitrilo



Paso 1. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(7-fluoro-2-metilquinolin-8-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetronitrilo



5 Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 23a y el Ejemplo 23b, paso 2** reemplazando 3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoquinolina con ácido (7-fluoro-2-metilquinolin-8-il)borónico. LCMS calculado para $C_{34}H_{37}F_2N_8O$ (M+H)⁺ m/z = 611,3; encontrado 611,4.

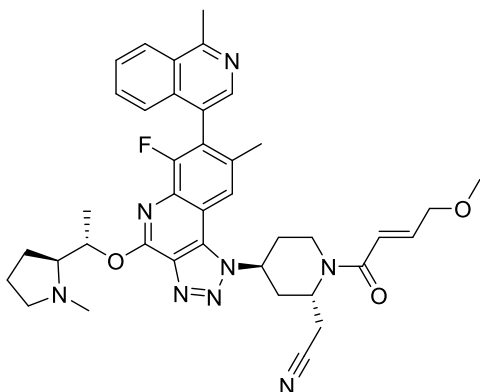
Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(7-fluoro-2-metilquinolin-8-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilil)piperidin-2-il)acetronitrilo

15 Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 23a y el Ejemplo 23b, paso 3** reemplazando 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(3-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-2-il)acetronitrilo con 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(7-fluoro-2-metilquinolin-8-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetronitrilo.

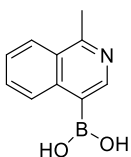
Ejemplo 25a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{37}H_{38}F_3N_8O_2$ (M+H)⁺ m/z = 683,3; encontrado 683,4.

Ejemplo 25b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{37}H_{38}F_3N_8O_2$ (M+H)⁺ m/z = 683,3; encontrado 683,4.

Ejemplo 26a y Ejemplo 26b. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enil)piperidin-2-il)acetonitrilo



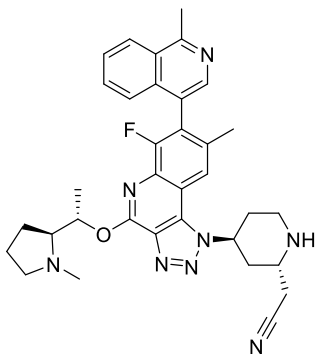
5 **Paso 1. Ácido (1-metilisoquinolin-4-il)borónico**



Una mezcla de 4-bromo-1-metilisoquinolina (0,222 g, 1,0 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (0,457 g, 1,800 mmol), acetato de potasio (0,294 g, 3,00 mmol) y PdCl₂(dppf) (0,073 g, 0,100 mmol) en dioxano (5,0 ml) se agitó a 105 °C durante 4 h.

10 El producto se purificó mediante HPLC prep. bajo PH = 2 (TFA). LCMS calculado para C₁₀H₁₁BNO₂ (M+H)⁺ m/z = 188,1; encontrado 188,1.

Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetonitrilo



15 Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 23a y el Ejemplo 23b, paso 2** reemplazando 3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoquinolina con ácido (1-metilisoquinolin-4-il)borónico. LCMS calculado para C₃₄H₃₈FN₈O (M+H)⁺ m/z = 593,3; encontrado 593,4.

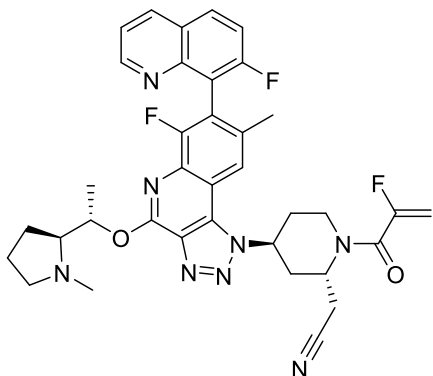
Paso 3. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo

Se agregó trietilamina (5,64 µl, 0,040 mmol) a una solución de 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetonitrilo (4,0 mg, 6,75 µmol), ácido (E)-4-metoxibut-2-enoico (1,567 mg, 0,013 mmol) y anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (T3P 50 % en EtOAc) (4,02 µl, 0,013 mmol) en acetato de etilo (0,8 ml) a 0 °C y luego la reacción se agitó durante 30 min. Se eliminó el solvente y el producto bruto se redisolvió en acetonitrilo y se purificó usando LCMS prep (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar el producto como sal TFA.

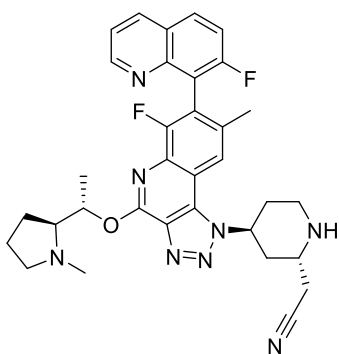
Ejemplo 26a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para C₃₉H₄₄FN₈O₃ (M+H)⁺ m/z = 691,4; encontrado 691,5.

Ejemplo 26b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para C₃₉H₄₄FN₈O₃ (M+H)⁺ m/z = 691,4; encontrado 691,5.

Ejemplo 27a y Ejemplo 27b. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(7-fluoroquinolin-8-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilolil)piperidin-2-il)acetonitrilo



Paso 1. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(7-fluoroquinolin-8-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetonitrilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 23a y el Ejemplo 23b, paso 2** reemplazando 3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoquinolina con ácido (7-fluoroquinolin-8-il)borónico. LCMS calculado para $C_{33}H_{35}F_2N_8O$ (M+H)⁺ m/z = 597,3; encontrado 597,4.

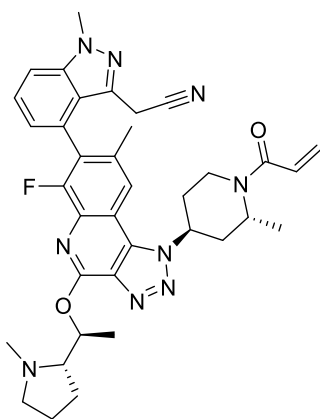
Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(7-fluoroquinolin-8-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilil)piperidin-2-il)acetonitrilo

Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 23a y el Ejemplo 23b, paso 3** reemplazando 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(3-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-2-il)acetonitrilo con 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(7-fluoroquinolin-8-il)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetonitrilo.

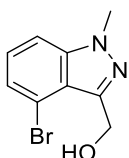
Ejemplo 27a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{36}H_{36}F_3N_8O_2$ (M+H)⁺ m/z = 669,3; encontrado 669,4.

Ejemplo 27b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{36}H_{36}F_3N_8O_2$ (M+H)⁺ m/z = 669,3; encontrado 669,4.

Ejemplo 28a y Ejemplo 28b. 2-(4-(1-((2R,4S)-1-acrilil-2-metilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-metil-1H-indazol-3-il)acetonitrilo



Paso 1. (4-bromo-1-metil-1H-indazol-3-il)metanol



A una mezcla de 4-bromo-1H-indazol-3-carboxilato de metilo (1,2 g, 4,70 mmol) y yodometano (1,07 g, 7,5 mmol) en THF (20 ml) se le agregó hidruro de sodio (0,34 g, 8,47 mmol, 60 % de dispersión en aceite mineral) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos y se calentó hasta temperatura ambiente, momento en el que se dejó agitar durante la noche. Una vez completada, la mezcla de reacción se inactivó con NH₄Cl acuoso (5 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (10 ml x 3), se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró. La mezcla bruta posterior se disolvió en THF (20 ml) y se enfrió a -78°C, momento en el cual se agregó lentamente con una jeringa LiAlH₄ (11,7 ml, 11,7 mmol, 1 M en THF). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta 0 °C y se agitó durante 15 minutos adicionales momento en el cual se agregó lentamente NH₄Cl ac. (10 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (10 ml x 3), se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró. La mezcla bruta se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS calculado para C₉H₁₀BrN₂O (M+H)⁺ m/z = 241,0; encontrado 241,0.

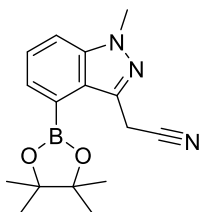
Paso 2. 2-(4-bromo-1-metil-1H-indazol-3-il)acetonitrilo



A (4-bromo-1-metil-1H-indazol-3-il)metanol (0,67 g, 2,77 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) enfriado a -78°C se le agregó lentamente PBr₃ (0,39 ml, 4,16 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar a la misma temperatura durante 1 hora, momento en el cual la mezcla de reacción se inactivó cuidadosamente con NaHCO₃ ac. (5 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (20

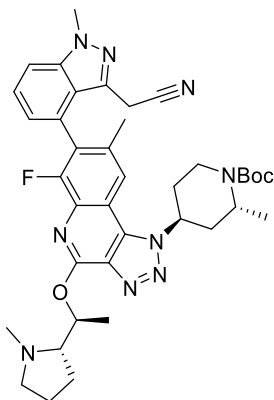
ml x 3), se secó con MgSO_4 , se filtró y se concentró. A la mezcla bruta se le agregó DMSO (8 ml) seguido de NaCN (0,41 g, 8,32 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 60°C durante 3 horas y se enfrió nuevamente a temperatura ambiente al finalizar. Se agregó agua (20 ml) al matraz de reacción y se estrelló el producto deseado. Luego se recogió el producto deseado mediante filtración, se lavó con agua y se secó al aire durante 4 horas. LCMS calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{BrN}_3$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 250,0; encontrado 250,0.

Paso 3. 2-(1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indazol-3-il)acetonitrilo



A 2-(4-bromo-1-metil-1H-indazol-3-il)acetonitrilo (0,12 g, 0,48 mmol), 4,4,4',4',5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (0,18 g, 0,72 mmol), acetato de potasio (0,15 g, 1,54 mmol) y $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (0,024 g, 0,033 mmol) en dioxano (3 ml) se agitó a 95 °C durante 3 horas. Se eliminó el solvente y el producto se purificó mediante columna de gel de sílice eluyendo con hexano/EtOAc (máx. EtOAc 50 %). LCMS calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{BN}_3\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 298,2; encontrado 298,2.

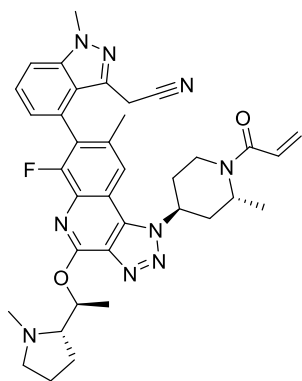
Paso 4. (2R,4S)-4-(7-(3-(cianometil)-1-metil-1H-indazol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



A una solución de (2R,4S)-4-(7-bromo-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (40 mg, 0,066 mmol) del **Ejemplo 14a y el Ejemplo 14b, paso 3** en dioxano/ H_2O = 4:1 (2 ml), K_3PO_4 (49 mg, 0,23 mmol), se agregaron 2-(1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indazol-3-il)acetonitrilo (29 mg, 0,099 mmol) y SPhosPdG_4 (7,9 mg, 0,01 mmol), y la mezcla

de reacción se calentó a 90°C durante 1,5 horas. Una vez completada, la reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 ml x 3), se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró. La mezcla cruda se purificó sobre gel de sílice eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH (máx. MeOH 10 %) para producir el producto deseado como una mezcla de diastereómeros (20 mg, 44 %). LCMS calculado para C₃₈H₄₇FN₉O₃ (M+H)⁺: m/z = 696,4; encontrado 696,4.

Paso 5. 2-(4-(1-((2*R*,4*S*)-1-acriloil-2-metilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-metil-1*H*-indazol-3-il)acetonitrilo

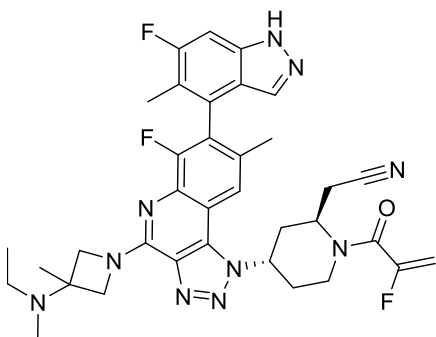


Este compuesto se preparó de acuerdo con el **Ejemplo 14a y el Ejemplo 14b, paso 5**, reemplazando (2*R*,4*S*)-4-(7-(8-cianonaftalen-1-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con (2*R*,4*S*)-4-(7-(3-(cianometil)-1-metil-1*H*-indazol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo. La mezcla se purificó mediante LCMS preparativa (columna C18 XBridge, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para obtener el producto deseado.

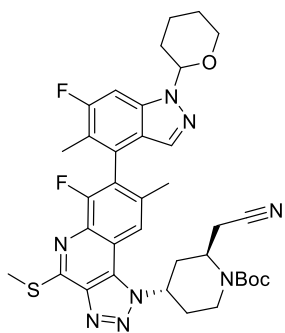
Ejemplo 28a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para C₃₆H₄₁FN₉O₂ (M+H)⁺ m/z = 650,3; encontrado 650,3.

Ejemplo 28b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para C₃₆H₄₁FN₉O₂ (M+H)⁺ m/z = 650,3; encontrado 650,3.

Ejemplo 29. 2-((2*S*,4*S*)-4-(4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1*H*-indazol-4-il)-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-2-il)acetonitrilo



Paso 1. (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



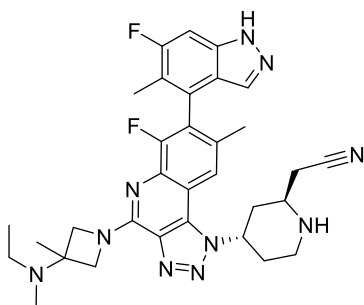
5

Una mezcla del **Intermedio 8** (2 g, 3,64 mmol), 6-fluoro-5-metil-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indazol (1,967 g, 5,46 mmol), fosfato tripotásico (3,86 g, 18,20 mmol) y Pd(Ph₃P)₄ (0,421 g, 0,364 mmol) en dioxano (25 ml)/agua (12 ml) se aspiró y se rellenó con N₂ dos veces y, a continuación, la reacción se agitó a 102 °C durante 2 h. Luego se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se diluyó con AcOEt y agua y se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc al 10-40% en CH₂Cl₂) para dar el producto deseado en forma de un sólido marrón. LCMS calculado para C₃₆H₄₁F₂N₈O₃S (M+H)⁺ m/z = 703,3; encontrado 703,3.

10

15

Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidina-1-il)-6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1H-indazol-4-il)-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-2-il)acetonitrilo



Se agregó *m*CPBA (77 % húmedo) (0,842 g, 3,76 mmol) a una solución (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-7-(6-fluoro-5 -metil-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-indazol-4-il)-8-metil-4-(metiltio)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,4 g, 3,41 mmol) en CH₂Cl₂ (30 ml) a 0 °C y luego la reacción se agitó a esta temperatura durante 20 min. La reacción se inactivó al agregar Na₂S₂O₃ acuoso saturado y Na₂CO₃, se diluyó con CH₂Cl₂ y se separó. Se extrajo la capa acuosa con CH₂Cl₂. La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para dar una mezcla bruta de (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-indazol-4-il)-8-metil-4-(metilsulfinil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo y el correspondiente compuesto de sulfonilo, que se usó y el producto bruto se usó directamente en el siguiente paso.

(2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-indazol-4-il)-8-metil-4-(metilsulfinil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (y el correspondiente compuesto de sulfonilo, 2,4 g, 3,34 mmol) y *N*-etil-*N*,3-dimetilazetidín-3-amina (0,428 g, 3,34 mmol) se combinaron y se agregó acetonitrilo (33,4 ml). A la suspensión se agregó DIPEA (1,166 ml, 6,68 mmol) y luego la mezcla se calentó a 70 °C y se agitó a la misma temperatura durante 2 h. El solvente se evaporó para dar el producto bruto en forma de un sólido marrón.

(2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-indazol-4-il)-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo se disolvió en 10 ml de TFA y se calentó a 60 °C y se agitó a la misma temperatura durante 10 min. Luego se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetonitrilo, se filtró y se purificó usando LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para separar los diastereómeros (polvo amorfo blanco, rendimiento combinado del 53 %).

Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para C₃₂H₃₇F₂N₁₀ (M+H)⁺ *m/z* = 599,3; encontrado 599,3.

Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{32}H_{37}F_2N_{10}$ $(M+H)^+$ $m/z = 599,3$; encontrado 599,3.

Paso 3. 2-((2*S*,4*S*)-4-(4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1*H*-indazol-4-il)-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrililo)piperidin-2-

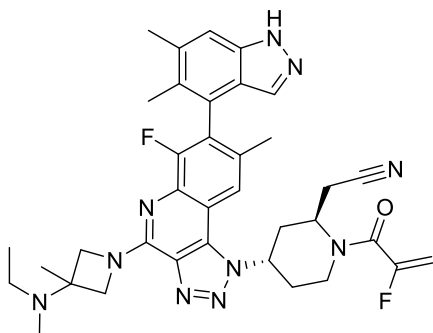
5 il)acetonitrilo

2-((2*S*,4*S*)-4-(4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1*H*-indazol-4-il)-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetonitrilo bis(2,2,2-trifluoroacetato) (**Diastereómero 2**, 395 mg, 0,477 mmol) se combinó con ácido 2-fluoroacrílico (134 mg, 1,488 mmol), luego se agregó acetonitrilo (10 ml) seguido de DIPEA (780 μ l, 4,46 mmol) y T3P (877 μ l, 50 % en AcOEt, 1,488 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla se diluyó con TFA, se filtró y se purificó usando LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar el **Ejemplo 29 (diastereómero único)** como una sal de TFA en forma de un polvo amorfo blanco.

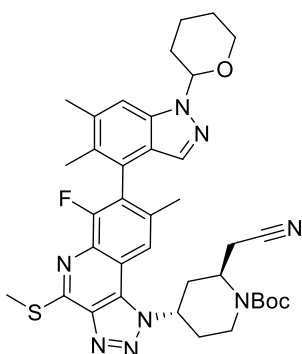
15 **Ejemplo 29.** LCMS calculado para $C_{35}H_{38}F_3N_{10}O$ $(M+H)^+$ $m/z = 671,3$; encontrado 671,3. ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 13,28 (s, br, 1H), 10,16 (s, br, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,47-7,44 (m, 2H), 5,86 (td, $J = 11,4, 5,5$ Hz, 1H), 5,45 – 5,38 (m, 2H), 5,16 (m, 1H), 4,77-4,73 (m, 2H), 4,50-4,36 (m, 4H), 3,66-3,44 (m, 2H), 3,36 (m, 2H), 3,11 (m, 1H), 2,81 (s, 3H), 2,49-2,45 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,71 (s, 3H), 1,27 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H).

20

Ejemplo 30. 2-((2*S*,4*S*)-4-(7-(5,6-dimetil-1*H*-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrililo)piperidin-2-il)acetonitrilo

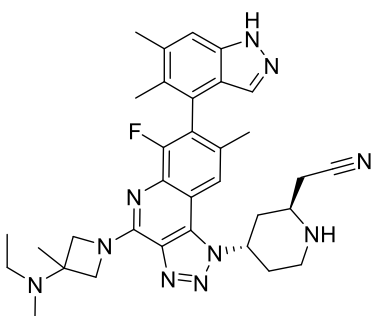


25 **Paso 1.** (2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(7-(5,6-dimetil-1-(tetrahydro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-indazol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Una mezcla del **Intermedio 8** (2 g, 3,64 mmol), 5,6-dimetil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indazol (1,945 g, 5,46 mmol), fosfato tripotásico (3,86 g, 18,20 mmol) y $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (0,421 g, 0,364 mmol) en dioxano (25 ml)/agua (12 ml) se aspiró y se rellenó con N_2 dos veces y, a continuación, la reacción se agitó a 102 °C durante 2 h. Luego se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se diluyó con AcOEt y agua y se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc al 10-40% en CH_2Cl_2) para dar el producto deseado en forma de un sólido marrón. LCMS calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{44}\text{FN}_8\text{O}_3\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 699,3; encontrado 699,3.

Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(7-(5,6-dimetil-1H-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetónitrilo



Se agregó *m*CPBA (0,962 g, 77 % húmedo, 4,29 mmol) a una solución de (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(5,6-dimetil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 2,86 mmol) en CH_2Cl_2 (30 ml) a 0 °C y luego la reacción se agitó a esta temperatura durante 20 min. La reacción se inactivó al agregar $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ acuoso saturado y Na_2CO_3 , se diluyó con CH_2Cl_2 y se separó. Se extrajo la capa acuosa con CH_2Cl_2 . La capa orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para dar una mezcla bruta de (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(5,6-dimetil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-(metilsulfinil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-

c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo y el correspondiente compuesto de sulfonilo, que se usó y el producto bruto se usó directamente en el siguiente paso.

(2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(7-(5,6-dimetil-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-indazol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-(metilsulfinil)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (y el correspondiente compuesto de sulfonilo, 1,5 g, 2,098 mmol) y *N*-etil-*N*,3-dimetilazetidín-3-amina (0,323 g, 2,52 mmol) se combinaron y se agregó acetonitrilo (20 ml). A la suspensión se agregó DIPEA (1,832 ml, 10,49 mmol) y luego la mezcla se calentó a 70 °C y se agitó a la misma temperatura durante 2 h. El solvente se evaporó para dar el producto bruto en forma de un sólido marrón.

(2*S*,4*S*)-2-(cianometil)-4-(7-(5,6-dimetil-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo obtenido anteriormente se disolvió en 10 ml de TFA y se calentó hasta 60 °C y se agitó a la misma temperatura durante 10 min. Luego se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetonitrilo, se filtró y se purificó usando LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para separar los diastereómeros (polvo amorfo blanco, rendimiento combinado del 51 %).

Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para C₃₃H₄₀FN₁₀ (M+H)⁺ m/z = 595,3; encontrado 595,3.

Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para C₃₃H₄₀FN₁₀ (M+H)⁺ m/z = 595,3; encontrado 595,3.

Paso 3. 2-((2*S*,4*S*)-4-(7-(5,6-dimetil-1*H*-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrililo)piperidín-2-il)acetonitrilo

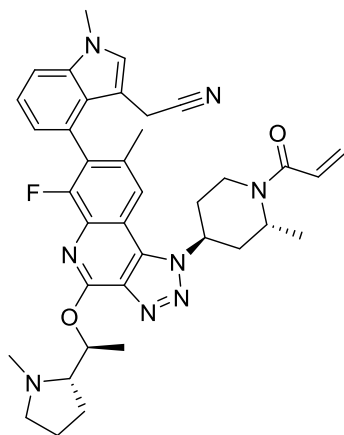
2-((2*S*,4*S*)-4-(7-(5,6-dimetil-1*H*-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-8-metil-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)piperidín-2-il)acetonitrilo bis(2,2,2-trifluoroacetato) (**Diastereómero 2**, 400 mg, 0,486 mmol) y ácido 2-fluoroacrílico (88 mg, 0,972 mmol) se combinaron, luego se agregó acetonitrilo (10 ml) seguido de DIPEA (849 µl, 4,86 mmol) y T3P (573 µl, 50 % en AcOEt, 0,972 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla se diluyó con TFA, se filtró y se purificó usando LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar el **Ejemplo 30 (diastereómero único)** como una sal de TFA en forma de un polvo amorfo blanco.

Ejemplo 30. LCMS calculado para C₃₆H₄₁F₂N₁₀O (M+H)⁺ m/z = 667,3; encontrado 667,3. ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 13,02 (s, br, 1H), 10,18 (s, br, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,31

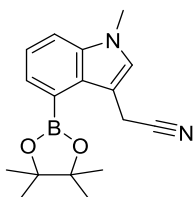
(d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 5,86 (td, $J = 11,4, 5,5$ Hz, 1H), 5,41 (dd, $J = 18,2, 4,4$ Hz, 1H), 5,38-4,62 (m, 9H), 3,73-3,56 (m, 2H), 3,36 (dd, $J = 16,9, 6,8$ Hz, 1H), 3,07 (td, $J = 14,0, 5,2$ Hz, 1H), 2,81 (s, 3H), 2,49 (s, 3H), 2,48-2,45 (m, 2H), 2,14 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,71 (s, 3H), 1,27 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H).

5

Ejemplo 31a y Ejemplo 31b. 2-(4-(1-((2*R*,4*S*)-1-acriloil-2-metilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-metil-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo



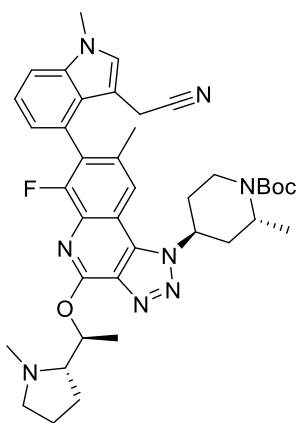
10 **Paso 1. 2-(1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo**



Este compuesto se preparó de acuerdo con **el Ejemplo 28a y el Ejemplo 28b, Paso 3**, reemplazando 2-(4-bromo-1-metil-1*H*-indazol-3-il)acetonitrilo por 2-(4-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo. La mezcla se purificó usando cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con hexano/EtOAc (máx. EtOAc 50 %). LCMS calculado para $C_{17}H_{22}BN_2O_2$ ($M+H$)⁺ $m/z = 297,2$; encontrado 297,2.

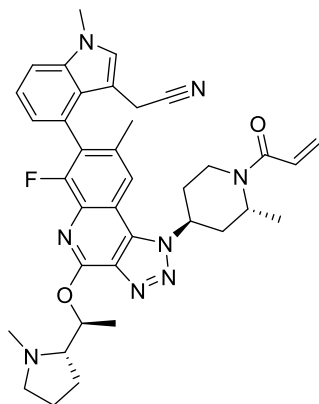
15

Paso 2. (2*R*,4*S*)-4-(7-(3-(cianometil)-1-metil-1*H*-indol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el **Ejemplo 28a y el Ejemplo 28b, Paso 4**, reemplazando 2-(1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1*H*-indazol-3-il)acetonitrilo con 2-(1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo. La mezcla
5 bruta se purificó sobre gel de sílice eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH (máx. MeOH 10 %) para producir el producto deseado como una mezcla de diastereómeros. LCMS calculado para C₃₉H₄₈FN₈O₃ (M+H)⁺: m/z = 695,4; encontrado 695,4.

Paso 3. 2-(4-(1-((2*R*,4*S*)-1-acriloil-2-metilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-7-il)-1-metil-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo



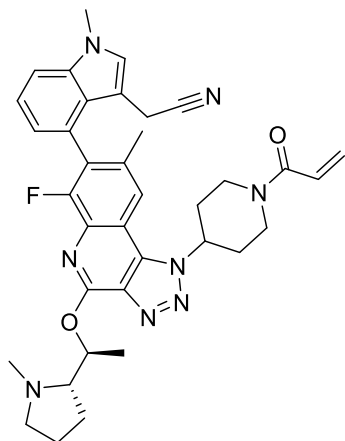
Este compuesto se preparó de acuerdo con el **Ejemplo 14a y el Ejemplo 14b, paso 5**, reemplazando (2*R*,4*S*)-4-(7-(8-cianonaftalen-1-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo con (2*R*,4*S*)-4-(7-(3-(cianometil)-1-metil-1*H*-indol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-metilpiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo. La
15 mezcla se purificó mediante LCMS preparativa (columna C18 XBridge, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para obtener el producto deseado.

Ejemplo 31a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para C₃₇H₄₂FN₈O₂ (M+H)⁺ m/z =

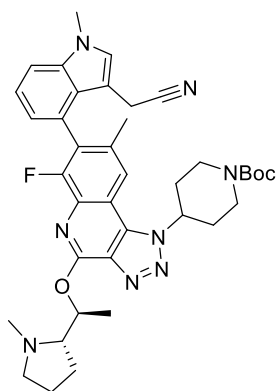
649,3; encontrado 649,3.

Ejemplo 31b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{37}H_{42}FN_8O_2$ ($M+H$)⁺ m/z = 649,3; encontrado 649,3. ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,17 (s, 1H), 7,62 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,37 (dd, J = 8,3, 7,1 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 6,96-6,84 (m, 1H), 6,16 (dd, J = 16,6, 2,4 Hz, 1H), 5,95-5,85 (m, 1H), 5,73 (dd, J = 10,5, 2,4 Hz, 1H), 5,57 (dq, J = 12,4, 6,2 Hz, 1H), 4,73-4,62 (m, 1H), 4,31-4,20 (m, 1H), 3,97-3,91 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,65-3,54 (m, 2H), 3,20-3,07 (m, 6H), 2,51-2,45 (m, 2H), 2,38-2,25 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 2,15-1,90 (m, 4H), 1,57-1,43 (m, 6H).

10 **Ejemplo 32a y Ejemplo 32b. 2-(4-(1-(1-acriloilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-metil-1H-indol-3-il)acetonitrilo**



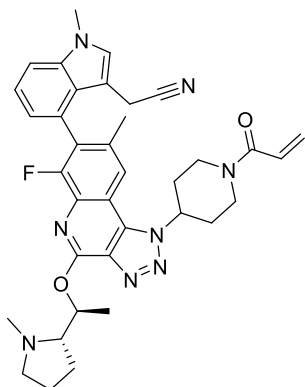
15 **Paso 1. 4-(7-(3-(cianometil)-1-metil-1H-indol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo**



Este compuesto se preparó de acuerdo con el **Ejemplo 11a y el Ejemplo 11b, Paso 4**, reemplazando 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-naftonitrilo por 2-(1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)acetonitrilo del **Ejemplo 31a y el**

Ejemplo 31b, Paso 1. La mezcla cruda se purificó sobre gel de sílice eluyendo con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (máx. MeOH 10 %) para producir el producto deseado como una mezcla de diastereómeros. LCMS calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{46}\text{FN}_8\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 681,4; encontrado 681,4.

Paso 2. 2-(4-(1-(1-acriloilpiperidin-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-1-metil-1H-indol-3-il)acetonitrilo

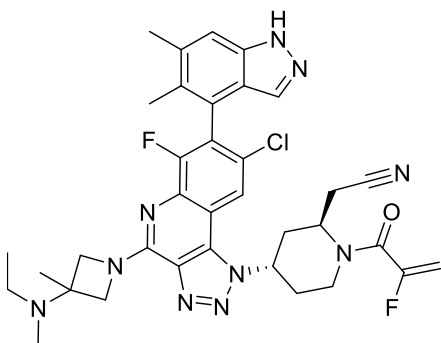


Este compuesto se preparó de acuerdo con el **Ejemplo 14a y el Ejemplo 14b, paso 5**, reemplazando (2R,4S)-4-(7-(8-cianonaftalen-1-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-metilpiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo con 4-(7-(3-(cianometil)-1-metil-1H-indol-4-il)-6-fluoro-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. La mezcla se purificó mediante LCMS preparativa (columna C18 XBridge, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para obtener el producto deseado.

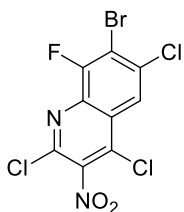
Ejemplo 32a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{FN}_8\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 635,3; encontrado 635,3.

Ejemplo 32b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{FN}_8\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 635,3; encontrado 635,3. ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,26(s, 1H), 7,61 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,45-7,35 (m, 1H), 7,00 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 6,93 (dd, J = 16,7, 104 Hz, 1H), 6,18 (dd, J = 16,7, 2,5 Hz, 1H), 5,79-5,70 (m, 2H), 5,59-5,50 (m, 1H), 4,62-4,53 (m, 1H), 4,31-4,24 (m, 1H), 3,99-3,90 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,70-3,11 (m, 10H), 2,51-2,18 (m, 8H), 1,58 (d, J = 6,1 Hz, 3H).

Ejemplo 33a y 33b. 2-((2S,4S)-4-(8-cloro-7-(5,6-dimetil-1H-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacriloil)piperidin-2-il)acetonitrilo



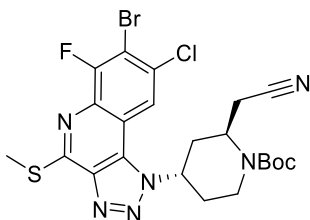
Paso 1. 7-bromo-2,4,6-tricloro-8-fluoro-3-nitroquinolina



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Intermedio**

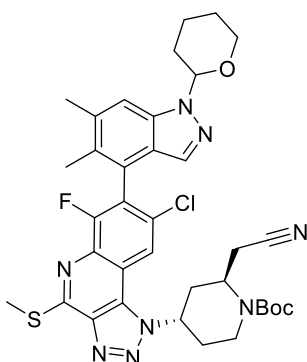
- 5 **1**, reemplazando NIS con NCS en el Paso 1. LCMS calculado para $C_9H_2BrCl_3FN_2O_2$ (M+H)⁺ m/z = 372,8; encontrado 372,8.

Paso 2. (2S,4S)-4-(7-bromo-8-cloro-6-fluoro-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



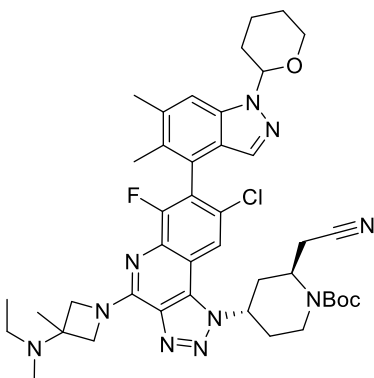
- 10 Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Intermedio 8, Paso 1**, reemplazando 7-bromo-2,4-dicloro-8-fluoro-6-yodo-3-nitroquinolina con 7-bromo-2,4,6-tricloro-8-fluoro-3-nitroquinolina. LCMS calculado para $C_{22}H_{24}BrClFN_6O_2S$ (M+H)⁺ m/z = 569,1; encontrado 569,1.

- 15 **Paso 3. (2S,4S)-4-(8-cloro-7-(5,6-dimetil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)-6-fluoro-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo**



Una mezcla de (2S,4S)-4-(7-bromo-8-chloro-6-fluoro-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1 g, 1,755 mmol), 5,6-dimetil-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indazol (0,938 g, 2,63 mmol), fosfato tripotásico (1,862 g, 8,77 mmol) y $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (0,203 g, 0,175 mmol) en dioxano (11,70 ml)/agua (5,85 ml) se aspiró y se rellenó con N_2 dos veces y luego la reacción se agitó a 102 °C durante 2 h. Luego se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se diluyó con AcOEt y agua y se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc al 10-40% en CH_2Cl_2) para dar el producto deseado en forma de un sólido marrón. LCMS calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{41}\text{ClFN}_8\text{O}_3\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ m/z = 719,3; encontrado 719,3.

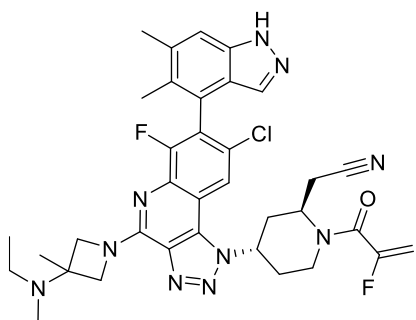
Paso 4. (2S,4S)-4-(8-cloro-7-(5,6-dimetil-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidin-1-il)-6-fluoro-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 6, Pasos 2-3**, sustituyendo el (2S,4S)-2-(cianometil)-4-(7-(2,3-dimetilfenil)-6-fluoro-8-metil-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo por (2S,4S)-4-(8-cloro-7-(5,6-dimetil-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)-6-fluoro-4-(metiltio)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo en el paso

2 y sustituyendo la *N,N*,3-trimetilazetidín-3-amina por la *N*-etil-*N*,3-dimetilazetidín-3-amina en el paso 3. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc al 20-80 % en CH₂Cl₂) para dar el producto deseado en forma de un sólido marrón. LCMS calculado para C₄₂H₅₃ClFN₁₀O₃ (M+H)⁺ *m/z* = 799,4; encontrado 799,4.

- 5 **Paso 5.** 2-((2*S*,4*S*)-4-(8-cloro-7-(5,6-dimetil-1*H*-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-(2-fluoroacrilil)piperidín-2-il)acetonitrilo



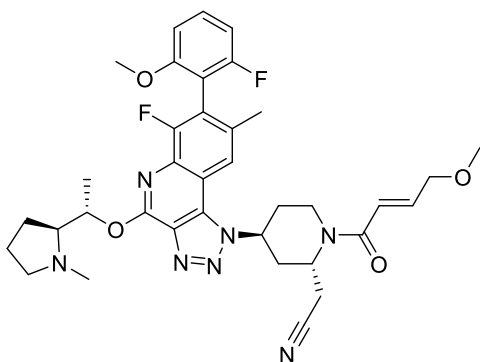
- 10 (2*S*,4*S*)-4-(8-cloro-7-(5,6-dimetil-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-indazol-4-il)-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-2-(cianometil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (427 mg, 0,534 mmol) se disolvió en TFA (5 ml). La mezcla se agitó a 60 °C durante 10 min y luego se eliminó el solvente.

- 15 El residuo se combinó con ácido 2-fluoroacrílico (144 mg, 1,601 mmol), luego se agregó acetonitrilo (10 ml) seguido de DIPEA (0,93 ml, 5,34 mmol) y T3P (0,94 ml, 50 % en AcOEt, 1,601 mmol). Después de agitarse a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla se diluyó con TFA, se filtró y se purificó usando prep-LCMS (columna XBridge C18, que eluye con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene TFA al 0,1 %, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para proporcionar los compuestos deseados como una sal de TFA.

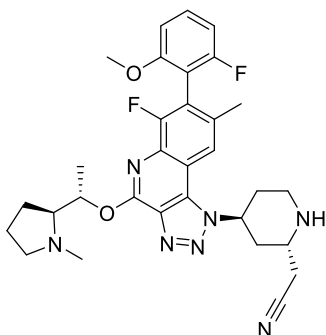
- 20 **Ejemplo 33a.** Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para C₃₅H₃₈ClF₂N₁₀O (M+H)⁺ *m/z* = 687,3; encontrado 687,3.

Ejemplo 33b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para C₃₅H₃₈ClF₂N₁₀O (M+H)⁺ *m/z* = 687,3; encontrado 687,3.

- 25 **Ejemplo 34a y Ejemplo 34b.** 2-((2*S*,4*S*)-4-(6-fluoro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-8-metil-4-((*S*)-1-((*S*)-1-metilpirrolidín-2-il)etoxi)-1*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*c*]quinolin-1-il)-1-((*E*)-4-metoxibut-2-enil)piperidín-2-il)acetonitrilo



Paso 1. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetonitrilo



5 Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 23a y el Ejemplo 23b**, **paso 2** reemplazando 3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoquinolina con ácido (2-fluoro-6-metoxifenil)borónico. LCMS calculado para $C_{31}H_{36}F_2N_7O_2$ $(M+H)^+$ $m/z = 576,3$; encontrado 576,4.

Paso 2. 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-((E)-4-metoxibut-2-enoil)piperidin-2-il)acetonitrilo

10 Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 26a y el Ejemplo 26b**, **paso 3** reemplazando 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-8-metil-7-(1-metilisoquinolin-4-il)-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidina-2-il)acetone nitrilo con 2-((2S,4S)-4-(6-fluoro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-8-metil-4-((S)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)piperidin-2-il)acetone nitrilo.

Ejemplo 34a. Diastereómero 1. Pico 1. LCMS calculado para $C_{36}H_{42}F_2N_7O_4$ $(M+H)^+$ $m/z = 674,3$; encontrado 674,3.

Ejemplo 34b. Diastereómero 2. Pico 2. LCMS calculado para $C_{36}H_{42}F_2N_7O_4$ $(M+H)^+$ $m/z = 674,3$; encontrado 674,3.

20

Ejemplo 35a y 35b. 2-((2S,4S)-4-(8-cloro-4-(3-(etil(metil)amino)-3-metilazetidín-1-il)-6-fluoro-7-(6-fluoro-5-metil-1H-indazol-4-il)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-c]quinolin-1-il)-1-(2-

intercambio de nucleótidos de guanina similares con 2,5 nM como concentración final para las proteínas KRAS cargadas con el cuerpo y con 4 horas y 3 horas de incubación después de agregar la mezcla GppNHp-SOS1 para G12D y G12V, respectivamente. Se usó como controles positivos en las placas de ensayo un péptido cíclico descrito para unirse selectivamente al mutante G12D (Sakamoto et ál., BBRC 484.3 (2017), 605-611) o compuestos internos con unión confirmada. Las intensidades de fluorescencia se midieron en un instrumento lector de placas PheraStar (BMG Labtech) con excitación a 485 nm y emisión a 520 nm.

Para analizar los datos se utilizó GraphPad prism o Genedata Screener SmartFit. Los valores de IC_{50} se obtuvieron mediante aproximación de datos a una ecuación logística de cuatro parámetros, lo que produjo una curva de respuesta a la dosis sigmoidea con un coeficiente de Hill variable.

Los datos de IC_{50} del ensayo de intercambio KRAS_G12C, los datos de IC_{50} del ensayo de pERK de KRAS_G12C y los datos de IC_{50} del ensayo de pERK de KRAS_G12C WB se proporcionan en la Tabla 1 a continuación. El símbolo “†” indica $IC_{50} \leq 50$ nM, “††” indica $IC_{50} > 50$ nM pero ≤ 100 nm; y “†††” indica IC_{50} es >100 nM pero ≤ 1000 nM, “††††” indica que IC_{50} es >1 μ M pero ≤ 5 μ M; “†††††” indica que IC_{50} es >5 μ M “NA” indica que no se dispone de datos.

Tabla 1

Ej. N.º	G12C_exchange	G12C_pERK	G12C_WB_pERK
1a	†	†	†
1b	†	††	NA
2a	†	†	†
2b	†	††	NA
3a	†	†	†††
3b	†	†	NA
4a	†	†	†
4b	†	†	NA
5a	†	†	††
5b	†	††	NA
6	†	†	†††
7	†	†	†
8	†	†	†
9	†	†	†

10	†	†	†
11a	†	†††	NA
11b	†	†	†
12	†	†	†
13	†	†	†††
14a	††	NA	NA
14b	†	†	†
15a	†	†	††
15b	†††	NA	NA
16a	†	†††	NA
16b	†	†	††
17a	†	†	††
17b	†††	NA	NA
18a	†	†	†††
18b	†	†††	NA
19a	†	†	†
19b	†	†	NA
20	†	†	†††
21	†	†	†
22	†	†	†
23a	††	NA	NA
23b	†	†	†
24a	†	††	NA
24b	†	†	†
25a	†	†	††
25b	†	†	NA
26a	†	†	††
26b	†	†	††
27a	†	†	††
27b	†	†	††
28a	†††	NA	NA
28b	†	†	††
29	†	†	†††

30	†	†	††
31a	†††	NA	NA
31b	†	†	††
32a	††	NA	NA
32b	†	†	†
33a	†	†	††
33b	†††	NA	NA
34a	†	†	NA
34b	†	†	†
35a	†	†	††
35b	†††	NA	NA

Ejemplo B: Ensayo de viabilidad luminiscente

Las células MIA PaCa-2 (KRAS G12C; ATCC® CRL-1420), NCI-H358 (KRAS G12C; ATCC® CRL-5807), A427 (KRAS G12D; ATCC® HTB53), HPAFII (KRAS G12D; ATCC® CRL-1997), YAPC (KRAS G12V; DSMZ ACC382), SW480 (KRAS G12V; ATCC® CRL-228) y NCI-H838 (KRAS WT; ATCC® CRL-5844) se cultivan en medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 10 % (Gibco/Life Technologies). Se siembran ochocientas células por pocillo en medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 2 % en placas de cultivo de tejido Costar de 384 pocillos, de fondo blanco y transparente, que contienen puntos de 50 nl de compuestos de prueba (la concentración final es una dilución de 1:500, con una concentración final de DMSO al 0,2 %). Las placas se incuban durante 3 días a 37 °C, CO₂ al 5 %. Al final del ensayo, se agregan 25 ul/pocillo de reactivo CellTiter-Glo (Promega). La luminiscencia se lee después de 15 minutos con un PHERAstar (BMG). Los datos se analizan en Genedata Screener utilizando SmartFit para valores de IC₅₀.

Ejemplo C: Ensayo celular pERK HTRF

MIA PaCa-2 (KRAS G12C; ATCC® CRL-1420), NCI-H358 (KRAS G12C; ATCC® CRL-5807), A427 (KRAS G12D; ATCC® HTB53), HPAFII (KRAS G12D; ATCC® CRL-1997) , Las células YAPC (KRAS G12V; DSMZ ACC382), SW480 (KRAS G12V; ATCC® CRL-228) y NCI-H838 (KRAS WT; ATCC® CRL-5844) se compran de ATCC y se mantienen en medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 10 % (Gibco/Life Technologies). Las células se siembran en placas a razón de 5000 células por pocillo (8 ul) en placas Greiner de 384 pocillos de bajo volumen, de fondo plano y tratadas con cultivo de tejidos y se incuban durante la noche a 37 °C,

CO₂ al 5 %. A la mañana siguiente, las soluciones madre del compuesto de prueba se diluyen en medios a 3 veces la concentración final y se agregan 4 uL a las células, con una concentración final de 0,1 % de DMSO. Las células se incuban con los compuestos de prueba durante 4 horas (G12C y G12V) o 2 horas (G12D) a 37°C, CO₂ al 5 %. Se agregan a cada pocillo cuatro µL de amortiguador de lisis 4x con reactivo de bloqueo (Cisbio) y las placas se giran suavemente (300 rpm) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se mezclan cuatro uL por pocillo de Cisbio anti Phospho-ERK 1/2 d2 con anti Phospho-ERK 1/2 Cryptate (1:1), se agregan a cada pocillo y se incuban durante la noche en la oscuridad a temperatura ambiente. Las placas se leen en el lector de placas ferastar a longitudes de onda de 665 nm y 620 nm.

Los datos se analizan en Genedata Screener utilizando SmartFit para valores de IC₅₀.

Ejemplo D: Ensayo pERK1/2 HTRF de sangre entera

Las células MIA PaCa-2 (KRAS G12C; ATCC® CRL-1420), HPAF-II (KRAS G12D; ATCC® CRL-1997) y YAPC (KRAS G12V; DSMZ ACC382) se mantienen en RPMI 1640 con FBS al 10 % (Gibco/Life Technologies). Para el ensayo MIA PaCa-2, las células se siembran en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos (Corning #3596) a 25 000 células por pocillo en 100 ul de medio y se cultivan durante 2 días a 37 °C, CO₂ al 5 % antes del ensayo. Para el ensayo HPAF-II y YAPC, las células se siembran en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos a 50 000 células por pocillo en 100 ul de medio y se cultivan durante 1 día antes del ensayo. Se agrega sangre entera a los puntos de 1 uL de compuestos (preparados en DMSO) en placas de 96 pocillos y se mezcla suavemente pipeteando hacia arriba y hacia abajo para que la concentración del compuesto en sangre sea 1x de la concentración deseada, en DMSO al 0,5%. Se aspira el medio de las células y se agregan 50 ul por pocillo de sangre entera con el compuesto de prueba y se incuba durante 4 horas para el ensayo MIA PaCa y YAPC; o 2 horas para el ensayo HPAF-II, respectivamente a 37 °C, CO₂ al 5 %. Después de vaciar la sangre, las placas se lavan suavemente dos veces agregando PBS al costado de los pocillos y vertiendo el PBS de la placa sobre una toalla de papel, golpeando la placa para que drene bien. Luego se agregan cincuenta ul/pocillo de amortiguador de lisis 1x n.º 1 (Cisbio) con reactivo de bloqueo (Cisbio) y benzonasa nucleasa (Sigma n.º de cat. E1014-5KU, concentración final 1:10000) y se incuban a temperatura ambiente durante 30 minutos con agitación (250 rpm). Después de la lisis, se transfieren 16 ul de lisado a una placa blanca de pequeño volumen Greiner de 384 pocillos utilizando un Assist Plus (Integra Biosciences, NH). Se agregan a los pocillos cuatro ul de una mezcla 1:1 de anti Phospho-ERK 1/2 d2 y anti Phospho-ERK 1/2 Cryptate (Cisbio)

usando Assist Plus y se incuban a temperatura ambiente durante la noche en la oscuridad. Las placas se leen en el lector de placas ferastar a longitudes de onda de 665 nm y 620 nm. Los datos se analizan en Genedata Screener utilizando SmartFit para valores de IC₅₀.

5 Ejemplo E: Activación Ras Elisa

El kit ELISA de activación de Ras de 96 pocillos (Cell Biolabs Inc; #STA441) utiliza Raf1 RBD (dominio de unión Rho) unido a una placa de 96 pocillos para eliminar selectivamente la forma activa de Ras de los lisados celulares. Luego, el GTP-Ras capturado se detecta mediante un anticuerpo pan-Ras y un anticuerpo secundario conjugado con HRP.

- 10 MIA PaCa-2 (KRAS G12C; ATCC® CRL-1420), NCI-H358 (KRAS G12C; ATCC® CRL-5807), A427 (KRAS G12D; ATCC® HTB53), HPAFII (KRAS G12D; ATCC® CRL-1997) , Las células YAPC (KRAS G12V; DSMZ ACC382), SW480 (KRAS G12V; ATCC® CRL-228) y NCI-H838 (KRAS WT; ATCC® CRL-5844) se mantienen en RPMI 1640 con FBS al 10 % (Gibco/Life Technologies). Las células se siembran en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos (Corning
- 15 nº 3596) a razón de 25 000 células por pocillo en 100 µl de medio y se cultivan durante 2 días a 37 °C, CO₂ al 5 % de modo que tengan aproximadamente un 80 % de confluencia al inicio del ensayo. Las células se tratan con compuestos durante 4 horas o durante la noche a 37 °C, CO₂ al 5 %. En el momento de la recolección, las células se lavan con PBS, se drenaron bien y luego se lisaron con 50 µl de amortiguador de lisis 1x (proporcionado por el kit) más inhibidores
- 20 Halt proteasa y fosfatasa agregados (1:100) durante 1 hora en hielo.

- El RBD Raf-1 se diluye 1:500 en diluyente de ensayo (proporcionado en el kit) y se agregan 100 µl del RBD Raf-1 diluido a cada pocillo de la placa de captura de RBD Raf-1. La placa se cubre con una película selladora de placas y se incuba a temperatura ambiente durante 1 hora en un agitador orbital. La placa se lava 3 veces con 250 µl de amortiguador de
- 25 lavado 1X por pocillo con aspiración minuciosa entre cada lavado. Se agregan 50 µl de muestra de lisado de Ras (10-100 µg) por pocillo por duplicado. Se agregae un control "sin lisado celular" en un par de pocillos para la determinación del fondo. Se agregan 50 µl de diluyente de ensayo a todos los pocillos inmediatamente en cada pocillo y la placa se incuba a temperatura ambiente durante 1 hora en un agitador orbital. La placa se lava 5 veces con 250 µl de
- 30 amortiguador de lavado 1X por pocillo con aspiración minuciosa entre cada lavado. Se agregan 100 µl del anticuerpo anti-pan-Ras diluido a cada pocillo y la placa se incuba a temperatura ambiente durante 1 hora en un agitador orbital. La placa se lava 5 veces como anteriormente. Se agregan 100 µl del anticuerpo secundario diluido y conjugado HRP a cada pocillo y la placa se incuba a temperatura ambiente durante 1 hora en un agitador orbital. Se lava la placa 5

veces como anteriormente y se escurre bien. Se agregan 100 μ l de reactivo quimioluminiscente (incluido en el kit) a cada pocillo, incluidos los pocillos en blanco. La placa se incuba a temperatura ambiente durante 5 minutos en un agitador orbital antes de leer la luminiscencia de cada micropocillo en un luminómetro de placa. El % de inhibición se calcula en relación con los pocillos de control de DMSO después de restar de todos los valores un nivel de fondo del "control sin lisado". La determinación de la IC₅₀ se realiza ajustando la curva del porcentaje de inhibición del inhibidor frente al logaritmo de la concentración de inhibidor usando el software GrafPad Prism 7.

10 Ejemplo F: Inhibición de las vías RAS-RAF y PI3K-AKT

La potencia celular de los compuestos se determinó midiendo la fosforilación de los efectores posteriores de KRAS, la quinasa regulada por señales extracelulares (ERK), la quinasa S6 ribosómica (RSK), la AKT (también conocida como proteína quinasa B, PKB) y la proteína ribosómica S6 del sustrato posterior.

Para medir la fosforilación de la cinasa regulada por señales extracelulares (ERK), la cinasa ribosómica S6 (RSK), AKT y la proteína ribosómica S6, se sembraron células (los detalles relativos a las líneas celulares y los tipos de datos obtenidos se detallan en la Tabla 2) durante la noche en placas Corning de 96 pocillos tratadas con cultivo tisular en medio RPMI con un 10 % de FBS a 4x10⁴ células/pocillo. A la mañana siguiente, se incuban células en presencia o ausencia de un intervalo de concentración de compuestos de prueba durante 4 horas a 37°C, CO₂ al 5 %. Las células se lavaron con PBS y se lisaron con amortiguador de lisis 1x (Cisbio) con inhibidores de proteasa y fosfatasa (Thermo Fisher, 78446). Se sometieron diez o veinte μ g de lisados de proteínas totales a SDS-PAGE y análisis de inmunotransferencia utilizando los siguientes anticuerpos: fosfo-ERK1/2-Thr202/Tyr204 (#9101L), total-ERK1/2 (#9102L), fósforo-AKT-Ser473. (#4060L), fosfo-p90RSK-Ser380 (#11989S) y proteína ribosomal fosfo-S6-Ser235/Ser236 (#2211S) son de Cell Signaling Technologies (Danvers, MA).

Tabla 2

Línea celular	Histología	alteración de KRAS	Lectura
H358	pulmón	G12C	pERK, pAKT, p-S6, p-p90RSK
MIA PaCa-2	Páncreas	G12C	pERK, pAKT, p-S6, p-p90RSK
HPAF II	Páncreas	G12D	pERK, pAKT, p-S6, p-p90RSK
A427	pulmón	G12D	pERK, pAKT, p-S6, p-p90RSK

AGS	Estómago	G12D	pERK, pAKT, p-S6, p-p90RSK
PaTu 8988s	Páncreas	G12V	pERK, pAKT, p-S6, p-p90RSK
H441	pulmón	G12V	pERK, pAKT, p-S6, p-p90RSK
YAPC	Páncreas	G12V	pERK, pAKT, p-S6, p-p90RSK
SW480	Colorrectal	G12V	pERK, pAKT, p-S6, p-p90RSK

Ejemplo G: Estudios de eficacia in vivo

Las células cancerosas humanas Mia-Paca-2 (KRAS G12C), H358 (KRAS G12C), HPAF-II (KRAS G12D), AGS (KRAS G12D), SW480 (KRAS G12V) o YAPC (KRAS G12V) se obtienen de la Colección de cultivos de tipo Americano y mantenidos en medios RPMI suplementados con FBS al 10 %. Para los experimentos de estudios de eficacia, se inocularon subcutáneamente 5×10^6 células en el flanco posterior derecho de ratones sin pelaje BALB/c de 6 a 8 semanas de edad (Charles River Laboratories, Wilmington, MA. EUA). Cuando los volúmenes tumorales eran de aproximadamente 150-250 mm³, los ratones se aleatorizaron por volumen tumoral y se les administró compuestos por vía oral. El volumen del tumor se calcula utilizando la fórmula $(L \times W^2)/2$, donde L y W se refieren a las dimensiones de largo y ancho, respectivamente. La inhibición del crecimiento tumoral se calcula utilizando la fórmula $(1 - (VT/VC)) \times 100$, donde VT es el volumen tumoral del grupo de tratamiento el último día de tratamiento y VC es el volumen tumoral del grupo de control en el último día de tratamiento. Se usa un análisis de varianza de dos vías con la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett para determinar las diferencias estadísticas entre los grupos de tratamiento (GraphPad Prism). Los ratones se alojan a razón de 10 a 12 animales por jaula, se les proporciona enriquecimiento y se exponen a ciclos de luz/oscuridad de 12 horas. Los ratones cuyos volúmenes tumorales excedieron los límites (10 % del peso corporal) son sacrificados humanamente mediante inhalación de CO₂. Los animales se mantienen en una instalación de barrera totalmente acreditada por la Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, International. Todos los procedimientos se llevan a cabo de acuerdo con la Política de servicio público de EE. UU. sobre cuidado humano y uso de animales de laboratorio y con las pautas del Comité de cuidado y uso de animales de Incyte.

Ejemplo H: ensayo Caco2

Se cultivaron células Caco-2 a 37°C en una atmósfera de 5 % de CO₂ en medio de crecimiento DMEM suplementado con 10 % (v/v) de suero fetal bovino, 1 % (v/v) de aminoácidos no esenciales, penicilina (100 U /ml) y estreptomicina (100 µg/ml). Se

subcultivaron monocapas de células confluentes cada 7 días o 4 días para Caco-2 mediante tratamiento con tripsina al 0,05 % que contenía EDTA 1 μ M. Se sembraron células Caco-2 en placas Transwell de 96 pocillos. La densidad de siembra de células Caco-2 fue de 14 000 células/pocillo. El medio de crecimiento DMEM se reemplazó cada dos días después de la siembra. Se utilizaron monocapas celulares para ensayos de transporte entre 22 y 25 días para células Caco-2.

El medio de cultivo celular se eliminó y se reemplazó con HBSS. Para medir el TEER, se agregó el HBSS en el compartimento donante (lado apical) y en el compartimento receptor (lado basolateral). El TEER se midió utilizando un muestreador automático REMS para garantizar la integridad de las monocapas celulares. Se utilizaron monocapas de células Caco-2 con valores de TEER $\geq 300 \Omega \cdot \text{cm}^2$ para los experimentos de transporte. Para determinar la P_{app} en la dirección de absorción (A-B), se agregó una solución del compuesto de prueba (50 μ M) en HBSS al compartimento donante (lado apical), mientras que una solución de HBSS con BSA al 4 % se agregó al compartimento receptor (lado basolateral). El volumen apical fue de 0,075 ml y el volumen basolateral fue de 0,25 ml. El período de incubación fue de 120 minutos a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 %. Al final del período de incubación, se retiraron muestras de los lados donante y receptor y se agregó un volumen igual de acetonitrilo para la precipitación de proteínas. Los sobrenadantes se recogieron después de la centrifugación (3000 rpm, centrífuga Allegra X-14R de Beckman Coulter, Indianápolis, IN) para el análisis por LCMS. El valor de permeabilidad se determinó de acuerdo con la ecuación:

$$P_{\text{app}} (\text{cm/s}) = (F * VD)/(SA * MD),$$

donde la velocidad de flujo (F, masa/tiempo) se calcula desde la pendiente de cantidades acumuladas del compuesto de interés en el lado del receptor, SA es el área de superficie de la membrana celular, VD es el volumen donante, y MD es el monto inicial de la solución en la cámara donante.

Los datos del ensayo de permeabilidad de Caco-2 se proporcionan en la Tabla 3 a continuación. El símbolo “†” indica Caco2 $\leq 0,5$; y “††” indica Caco-2 es $> 0,5$ pero ≤ 1 ; y “†††” indica Caco-2 es > 1 . “NA” indica que no se dispone de datos del Caco-2.

Tabla 3

Ej. N.º	Caco-2
1a	†††
2a	†††
3a	††

4a	††
5a	†††
6	†††
7	†††
8	††
9	†††
10	†††
11b	†††
12	††
13	†††
14b	†††
15a	†
16b	†††
17a	†††
18a	†††
19a	†††
20	†††
21	†††
22	†††
23b	†††
24b	†††
25a	†††
26b	†††
27a	†††
28b	†††
29	†††
30	†††
31b	†††
32b	†††
33a	††
34b	†††
35a	†

Los datos del ensayo de permeabilidad de Caco-2 para ciertos compuestos de WO 2021/142252 se proporcionan en la Tabla 4.

5 **Tabla 4**

Ej. N.º de WO 2021/142252	Caco-2
203a	†
198a	†
202a	†
80a	†
150a	††
185a	†
189	†
193a	†
194a	†
197a	†
200a	†
266a	†

Ejemplo I: Estabilidad de la sangre entera humana

La estabilidad en sangre entera de los compuestos ejemplificados se determinó mediante LC-MS/MS. El bloque Flexi-Tier™ de 96 pocillos (Analytical Sales & Services, Inc, Flanders, Nueva Jersey) se utiliza para la placa de incubación que contiene viales de vidrio de 1,0 ml con 0,5 ml de sangre por vial (género combinado, sangre entera humana procedente de BIOIVT, Hicksville, Nueva York o similar). La sangre se precalienta en un baño de agua a 37 °C durante 30 minutos. Se prepara una placa de análisis de 96 pocillos de profundidad con la adición de 100 µl de agua ultrapura/ pocillo. Se agregan 50 µl de agua ultrapura fría/pocillo a una placa de recolección de muestras de 96 pocillos de profundidad y se cubren con una estera selladora. Se agrega 1 µl de solución de trabajo del compuesto 0,5 mM (DMSO:agua) a la sangre en la placa de incubación para alcanzar concentraciones finales de 1 µM, se mezcla pipeteando minuciosamente y se transfieren 50 µl 50 a los pocillos T=0 de la placa de recolección de muestras. Se deja reposar la sangre en el agua durante 2 minutos y luego se agregan 400 µl de solución de parada/pocillo (acetonitrilo que contiene un estándar interno). La

placa de incubación se coloca en la incubadora Incu-Shaker CO₂ Mini (Benchmark Scientific, Sayreville, Nueva Jersey) a 37 °C con agitación a 150 rpm. A las 1, 2 y 4 horas, las muestras de sangre se mezclan completamente mediante pipeteo y se transfieren 50 µl a los pocillos correspondientes de la placa de recolección de muestras. Se deja reposar la sangre en el agua

5 durante 2 minutos y luego se agregan 400 µl de solución de parada/pocillo. La placa de recolección se sella y se agita en vórtex a 1700 rpm durante 3 minutos (VX-2500 Multi-Tube Vortexer, VWR International, Radnor, PA) y luego las muestras se centrifugan en la placa de recolección a 3500 rpm durante 10 minutos (Allegra X-14R Centrífuga Beckman Coulter, Indianápolis, IN). Se transfieren 100 µl de sobrenadante/pocillo desde la placa de recolección

10 de muestras a los pocillos correspondientes de la placa de análisis. La placa final se agita en vórtex a 1700 rpm durante 1 minuto y se analizan las muestras mediante LC-MS/MS. La relación del área del pico de las muestras de 1, 2 y 4 horas en relación con T=0 se utiliza para determinar el porcentaje restante. Se utiliza el logaritmo natural del porcentaje restante frente al tiempo para determinar una pendiente para calcular la semivida de los compuestos en sangre

15 ($t_{1/2} = 0,693/\text{pendiente}$).

Los datos de estabilidad de la sangre entera humana se proporcionan en la Tabla 5 a continuación. El símbolo “†” indica WBS ≤ 70 %; “††” indica WBS > 70 % pero ≤ 90 %; y “†††” indica WBS > 90 %. "NA" indica que los datos de la WBS no están disponibles.

Tabla 5

Ej. N.º	Estabilidad de la sangre entera humana a las 4 horas.
1a	†††
2a	††
3a	††
4a	†††
5a	††
6	NA
7	†††
8	††
9	NA
10	†††
11b	††
12	†††
13	††

14b	+++
15a	+++
16b	+++
17a	NA
18a	+++
19a	++
20	+++
21	+++
22	NA
23b	NA
24b	NA
25a	NA
26b	++
27a	NA
28b	++
29	+++
30	+++
31b	++
32b	++
33a	++
34b	+++
35a	+++

Ejemplo J: Protocolo de autorización intrínseca *in vitro*

Para los experimentos de estabilidad metabólica *in vitro*, los compuestos de prueba se incuban con microsomas de hígado humano a 37 °C. La mezcla de incubación contiene compuestos de prueba (1 µM), NADPH (2 mM) y microsomas de hígado humano (0,5 mg de proteína/ml) en amortiguador fosfato 100 mM (pH 7,4). La mezcla se incubó previamente durante 2 min a 37 °C antes de agregar NADPH. Las reacciones comienzan con la adición de NADPH y se inactivaron con metanol helado a los 0, 10, 20 y 30 min. Las mezclas de incubación terminadas se analizan mediante el uso del sistema LC-MS/MS. El sistema analítico consistió en un sistema de bomba binaria Shimadzu LC-30AD y un recolector de muestras automático SIL-30AC (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD) junto con un

espectrómetro de masas Sciex Triple Quad 6500+ de Applied Biosystems (Foster City, CA). La separación cromatográfica de los compuestos de prueba y el estándar interno se logra mediante el uso de una columna Hypersil Gold C18 (50 x 2,1 mm, 5 µM, 175 Å) de ThermoFisher Scientific (Waltham, MA). La fase móvil A consiste en ácido fórmico al 0,1 % en agua, y la fase móvil B consiste en ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo. El tiempo de ejecución total de LC-MS/MS puede ser de 2,75 minutos con una velocidad de flujo de 0,75 ml/min. Las integraciones de área de pico y los cálculos de relación de área de pico se realizan mediante el uso del software Analyst (versión 1.6.3) de Applied Biosystems.

La eliminación intrínseca *in vitro*, $CL_{int, in vitro}$, se calcula a partir de $t_{1/2}$ de la desaparición del compuesto de prueba como $CL_{int, in vitro} = (0.693 / t_{1/2}) \times (1 / C_{proteína})$, donde $C_{proteína}$ es la concentración de proteína durante la incubación, y $t_{1/2}$ se determina mediante la pendiente (k) del análisis de regresión lineal logarítmica de los perfiles de concentración frente al tiempo; por lo tanto, $t_{1/2} = \ln 2 / k$. Los valores de $CL_{int, in vitro}$ se escalan a los valores *in vivo* para los seres humanos mediante el uso de factores de aumento de escala basados en la fisiología, concentraciones de proteínas microsómicas hepáticas (45 mg de proteína/g de hígado), y pesos de los hígados (21 g/kg de peso corporal). Se usa la ecuación $CL_{int} = CL_{int, in vitro} \times (\text{mg de proteína/g de peso del hígado}) \times (\text{g de peso del hígado/kg de peso corporal})$. Luego, se calcula la eliminación hepática *in vivo* (CL_H) mediante el uso de CL_{int} y el flujo hepático, Q (20 ml·min⁻¹·kg⁻¹ en humanos) en el modelo de hígado bien agitado, descartando toda unión de $CL_H = (Q \times CL_{int}) / (Q + CL_{int})$. La relación de extracción hepática se calculó como CL_H dividido entre Q.

Ejemplo K: Protocolo de farmacocinética *in vivo*

Para experimentos farmacocinéticos *in vivo*, los compuestos de prueba se administran a ratas Sprague Dawley macho o monos Cynomolgus macho y hembra por vía intravenosa o mediante sonda oral. Para la dosificación intravenosa (IV), los compuestos de prueba se dosifican a 0,5 a 1 mg/kg mediante el uso de una formulación de dimetilacetamida al 10 % (DMAC) en solución salina acidificada a través de bolo IV para ratas o infusión IV de 5 min o 10 min para monos. Para la dosificación oral (PO), los compuestos de prueba se dosifican de 1,0 a 3,0 mg/kg usando DMAC al 5 % en metilcelulosa al 0,5 % en amortiguador citrato (pH 2,5). Se toman muestras de sangre antes de la dosis y en diversos momentos hasta 24 horas después de la dosis. Todas las muestras de sangre se toman mediante el uso de EDTA como anticoagulante y se centrifugaron para obtener muestras de plasma. Las concentraciones plasmáticas de los compuestos de prueba se determinan mediante métodos de LC-MS. Las

concentraciones plasmáticas medidas se usan para calcular los parámetros de PK mediante métodos no compartimentales estándar mediante el uso del programa de software Phoenix® WinNonlin (versión 8.0, Pharsight Corporation).

En ratas y monos, se realiza la dosificación en casete de los compuestos de prueba para
5 obtener parámetros de PK preliminares.

Se pueden realizar experimentos farmacocinéticos *in vivo* con perros beagle machos en las condiciones descritas anteriormente.

10 **Ejemplo L: Inhibición dependiente del tiempo (TDI, por su sigla en inglés) del protocolo CYP**

Este ensayo está diseñado para caracterizar un aumento en la inhibición de CYP a medida que los compuestos de prueba se metabolizan con el tiempo. Los mecanismos potenciales para esto incluyen la formación de un complejo de metabolito inhibidor casi irreversible y de unión estrecha o la inactivación de las enzimas P450 mediante la formación de
15 aductos covalentes de metabolitos. Si bien este experimento emplea una dilución 10 veces para disminuir las concentraciones de metabolitos y, por lo tanto, los efectos de la inhibición reversible, es posible (pero no común) que un metabolito que es un inhibidor de CYP extremadamente potente pueda dar un resultado positivo.

Los resultados provienen de un cóctel de sustratos de sonda específicos de CYP a 4
20 veces sus concentraciones en Km para CYP2C9, 2C19, 2D6 y 3A4 (midazolam) utilizando microsomas de hígado humano (HLM). Las HLM se pueden preincubar con compuestos de prueba a una concentración de 10 µM durante 30 min en presencia (+N) o ausencia (-N) de un sistema regenerador de NADPH, diluir 10 veces e incubar durante 8 min en presencia del cóctel de sustrato con la adición de una alícuota nueva del sistema regenerador NADPH. Se puede
25 utilizar una curva de calibración de estándares de metabolitos para medir cuantitativamente la actividad enzimática mediante LC-MS/MS. Además, las incubaciones con inhibidores conocidos dependientes del tiempo, ácido tienílico (CYP2C9), ticlopidina (CYP2C19), paroxetina (CYP2D6) y troleandomicina (CYP3A4), utilizados como controles positivos, se preincuban durante 30 minutos con o sin un sistema de regeneración de NADPH.

30 El sistema analítico consiste en un sistema de bomba binaria Shimadzu LC-30AD y un recolector de muestras automático SIL-30AC (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD) junto con un espectrómetro de masas Sciex Triple Quad 6500+ de Applied Biosystems (Foster City, CA). La separación cromatográfica de los compuestos de prueba y el estándar interno se puede lograr utilizando una columna de HPLC ACQUITY UPLC BEH 130A, 2,1 × 50 mm, 1,7

µm (Waters Corp, Milford, MA). La fase móvil A consiste en ácido fórmico al 0,1 % en agua, y la fase móvil B consiste en ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo. El tiempo de ejecución de LC-MS/MS total será de 2,50 minutos con una tasa de flujo de 0,9 ml/min. Las integraciones de áreas de pico y cálculos de relación de área de pico se llevan a cabo con el software Analyst (versión 1.6.3) de Applied Biosystems.

El porcentaje de actividad de control CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4 restante después de la preincubación de los compuestos con NADPH se corrige para la actividad del vehículo de control correspondiente y luego se calcula basándose en 0 minutos como 100 %. Para calcular la pendiente se utiliza un gráfico de regresión lineal del logaritmo natural del % de actividad restante frente al tiempo para cada isoenzima. La pendiente es igual a la tasa de pérdida de enzima, o K_{obs} .

Diversas modificaciones de la invención además de las que se describen en la presente serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción que antecede. Tales modificaciones también están destinadas a caer dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Cada una de las referencias, incluidas, de modo no taxativo, todas las patentes, solicitudes de patentes y publicaciones que se citan en la presente solicitud se incorpora en su totalidad a la presente mediante esta referencia.