

INHIBIDORES MACROCÍCLICOS DE KRAS PARA EL TRATAMIENTO DE CÁNCER

La presente invención se refiere a compuestos orgánicos útiles para el tratamiento y/o profilaxis en un mamífero, y en particular, a la inhibición de KRAS G12C útil para tratar tipos de cáncer.

CAMPO DE LA INVENCION

RAS es uno de los proto-oncogenes más conocidos. Aproximadamente 30 % de los tipos de cáncer humano contienen mutaciones en tres de los miembros más notables, KRAS, HRAS y NRAS, lo que los convierte en las causas oncogénicas más predominantes. Las mutaciones KRAS en general se asocian con un mal pronóstico, especialmente, en cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, tipos de cáncer de pulmón. Como la isoforma RAS mutada con mayor frecuencia, KRAS se ha estudiado intensamente en los últimos años. Entre los alelos KRAS que ocurren más comúnmente (que incluyen G12D, G12V, G12C, G13D, G12R, G12A, G12S, Q61H, etc.), G12C, G12D, G12V representan más de la mitad de todos los tipos de cáncer causados por K-RAS en cáncer colorrectal (CRC), adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC), adenocarcinoma de pulmón (LUAD). Cabe destacar que las amplificaciones de tipo silvestre de KRAS también se hallaron en 7 % de todos los tipos de cáncer alterados por KRAS (de ovario, esofagogástrico, uterino), por lo que se clasifican entre las mayores alteraciones.

Todas las proteínas RAS pertenecen a una familia de proteínas de pequeñas GTPasas que hidrolizan GTP a GDP. KRAS está estructuralmente dividido en un lóbulo de unión al efector seguido del lóbulo alostérico y una región del extremo carboxi que es responsable del anclaje de membrana. El lóbulo efector comprende las regiones de bucle P, *switch* I y *switch* II. Los bucles *switch* I/II cumplen una función fundamental en la señalización corriente abajo de KRAS a través de la mediación de interacciones proteína–proteína con proteínas efectoras que incluyen RAF en la vía de proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) o PI3K en la vía fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/proteína quinasa B (AKT).

La proteína KRAS cambia entre una forma inactiva a activa mediante la unión a GTP y GDP, respectivamente. En condiciones fisiológicas, la transición entre estos dos estados está regulada por factores de intercambio de nucleótido de guanina (GEF), tal como Homólogo 1 de Son Of Sevenless (SOS1) o proteínas que activan GTPasa (GAP) que implican catalizar el intercambio de GDP para GTP, lo que potencia la actividad de GTPasa intrínseca o acelera la hidrólisis de GTP mediada por RAS. En respuesta a los estímulos extracelulares, la RAS-GDP inactiva se convierte a RAS-GTP activa que se

une directamente a los dominios de unión RAF RAS (RAF^{RBD}), reclutando la familia quinasa RAF de citoplasma a membranas, en donde se dimerizan y se vuelven activas. La RAF activada posteriormente lleva a cabo una cadena de reacciones de fosforilación en su proteína quinasa corriente abajo activada por mitógenos (MEK) y quinasa regulada por señal extracelular (ERK), y propaga la señal de crecimiento. De la familia RAF de proteínas quinasas (tres isoformas conocidas ARAF, BRAF, CRAF/RAF1), BRAF se muta con mayor frecuencia y sigue siendo el activador más potente de MEK. A pesar de que los miembros individuales de la familia RAS y RAF revelaron distintas preferencias de unión, todas las RAF poseen RBD conservada para transmisión directa de señalización de MAPK, frecuentemente usada para caracterizar la inhibición de KRAS (por ejemplo, KRAS-BRAF^{RBD} en la presente). Para KRAS, las mutaciones en las posiciones 12, 13, 61 y 146 producen un desplazamiento hacia la forma KRAS activa al afectar la hidrólisis de nucleótidos o activar el intercambio de nucleótidos, lo que produce la hiperactivación de la vía de MAPK que tiene como resultado tumorigénesis.

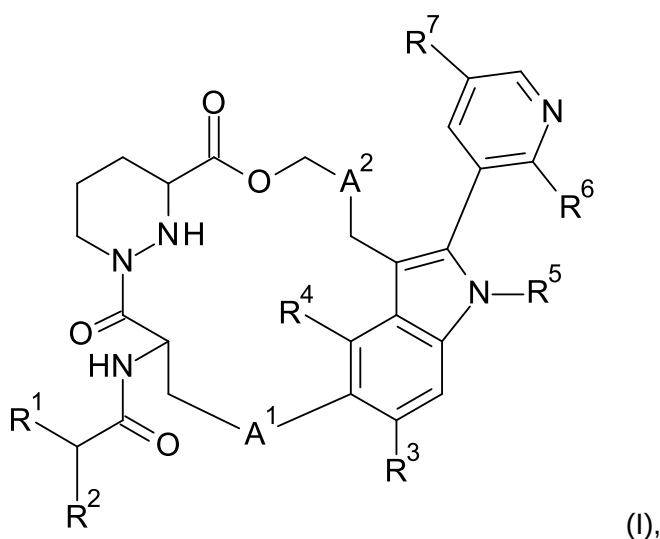
A pesar de su reconocida importancia en neoplasias cancerosas, los constantes esfuerzos en el pasado no lograron desarrollar tratamientos aprobados para cáncer de mutante KRAS hasta hace poco, el primer fármaco selectivo AMG510 tiene aprobación rápida como tratamiento de segunda línea en cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) causado por KRAS G12C. Sin embargo, la resistencia clínica adquirida a inhibidores de KRAS G12C surge de manera rigurosa con la progresión de la enfermedad después de alrededor de 6 meses de tratamiento. Todas las mutaciones convergen para reactivar la señalización de RAS–MAPK, con mutantes RAS secundarios en puntos calientes oncogénicos (por ejemplo, G12/G13/Q61) y dentro de la cavidad *switch* II (por ejemplo, H95, R68 e Y96) según se observó; además, más de 85 % de todos los tipos de cáncer causados por tipo silvestre amplificado o mutación de KRAS todavía carecen de agentes novedosos. En conjunto, tanto el sinfín de mecanismos de escape y distintos alelos oncogénicos, resaltan la necesidad médica urgente de tratamientos contra KRAS adicionales. En consecuencia, se inventaron compuestos orales que inhiben y se dirigen a los alelos KRAS para el tratamiento de tipos de cáncer causados por mutantes de KRAS.

Los inhibidores de KRAS G12C de primera generación como Sotorosib, Adagrasib que actúan sobre la forma ‘no unida a GDP’ (RASOFF) de mutación de KRAS G12C demostraron una eficacia prometedora. Si bien este tratamiento benefició a muchos pacientes con mutaciones activadoras de KRAS, casi todos aquellos que inicialmente se vieron beneficiados adquirirán, con el tiempo, resistencia mediante diversos mecanismos. Se identificaron casos en aumento de segundas mutaciones de *KRAS G12C* de muestras

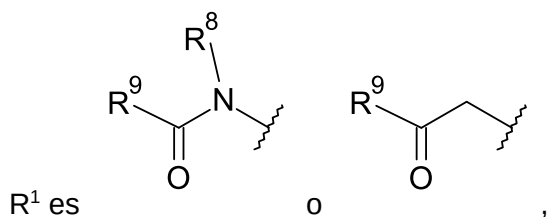
de pacientes, tales como Y96D, R68S, H95D, H95Q, H95R, V8L (Tanaka *et al.*, Cancer Discovery (2021), Awad *et al.*, NEJM (2021), Ho *et al.*, EJC (2021), Zhao *et al.*, Nature (2021), Tsai *et al.*, JCI (2022)), o se descubrieron de mutagénesis por saturación (Siyu *et al.*, PNAS (2022)) y mutagénesis por ENU (Takamasa *et al.*, J Thorac Oncol (2021)) que demostraron resistencia a inhibidores de KRAS(OFF) G12C. Por lo tanto, existen necesidades insatisfechas para evitar la adquisición de una o más mutaciones en RAS que confieren resistencia al inhibidor de RAS(OFF).

SÍNTESIS DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a compuestos novedosos de fórmula (I),



en donde



en donde R⁸ es alquil C₁₋₆;

R⁹ es cicloalquil C₃₋₇, azetidinilo o fenilo, en donde dichos cicloalquil C₃₋₇, azetidinilo y fenilo se sustituyen con haloalquil C₃₋₆, (haloalquilpirimidinil C₃₋₆)alquil C₂₋₆ o pirimidinilalquil C₂₋₆;

R² es alquil C₁₋₆;

R³ es H o halógeno;

R⁴ es H o halógeno;

R⁵ es alquil C₁₋₆ o haloalquil C₁₋₆;

R⁶ es alcoxi C₁₋₆ alquil C₁₋₆;

R⁷ es morfolinilo, (haloalquil C₁₋₆)piperazinilo o alquilpiperazinil C₁₋₆;

A¹ es tiazolileno;

A² es alquilen C₁₋₆;

siempre que R³ y R⁴ no sean H en simultáneo;

o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

La invención también se refiere a su fabricación, medicamentos a base de un compuesto de acuerdo con la invención y su producción así como el uso de compuestos de fórmula (I) o (Ia) de estos como inhibidor de KRAS.

El compuesto de la presente invención aborda el problema de la toxicidad de GSH en comparación con los compuestos de referencia. Los compuestos de fórmula (I) o (Ia) muestran buena inhibición de KRAS para G12C, G12D y G12V. En otra forma de realización, los compuestos de esta invención mostraron inhibición superior de células cancerosas y estabilidad de hepatocitos humanos. Además, los compuestos de fórmula (I) o (Ia) también muestran perfiles de citotoxicidad, solubilidad y farmacocinética de dosis única (SDPK) buena o mejorada. Asimismo, el compuesto de la presente invención demostró buena eficacia hacia una segunda mutación mencionada en la presente solicitud.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA FIGURA

Figura 1. Análisis cristalográfico de rayos X del compuesto **G5**.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

DEFINICIONES

La expresión "alquil C₁₋₆" indica un grupo alquilo saturado de cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 6, en particular, de 1 a 4 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *ter*-butilo y similares. Los grupos "alquil C₁₋₆" particulares son metilo, etilo y *n*-propilo.

La expresión "alcoxi C₁₋₆" indica alquil C₁₋₆-O-.

La expresión "alquilen C₁₋₆" indica un grupo hidrocarburo divalente saturado lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono o un grupo hidrocarburo divalente saturado ramificado de 3 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilen C₁₋₆ incluyen metileno, etileno, propileno, 2-metilpropileno, butileno, 2-etilbutileno, pentileno, hexileno.

Los términos "halógeno" y "halo" se usan indistintamente en la presente e indican fluoro, cloro, bromo o yodo.

La expresión "alquinil C₂₋₆" indica un grupo hidrocarburo lineal o ramificado monovalente de 2 a 6 átomos de carbono con al menos un enlace triple. En formas de realización

particulares, alquinilo tiene 2 a 4 átomos de carbono con al menos un enlace triple. Los ejemplos de alquinil C_{2-6} incluyen etinilo ($-C\equiv CH$), prop-1-inilo ($-C\equiv CCH_3$), prop-2-inilo (propargilo, $-CH_2C\equiv CH$), but-1-inilo, but-2-inilo y but-3-inilo.

Los términos “halógeno” y “halo” se usan indistintamente en la presente e indican fluoro, cloro, bromo o yodo.

La expresión “alquinil C_{3-6} ” indica un grupo hidrocarburo lineal o ramificado monovalente de 3 a 6 átomos de carbono con al menos un enlace triple. En formas de realización particulares, alquinilo tiene 3 a 4 átomos de carbono con al menos un enlace triple. Los ejemplos de alquinil C_{3-6} incluyen prop-1-inilo ($-C\equiv CCH_3$), prop-2-inilo (propargilo, $-CH_2C\equiv CH$), but-1-inilo, but-2-inilo y but-3-inilo.

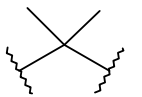
La expresión “haloalquil C_{1-6} ” indica un grupo alquil C_{1-6} , en donde al menos uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquil C_{1-6} se reemplazó por el mismo átomo de halógeno o por átomos de halógeno diferentes, en particular, átomos de fluoro. Los ejemplos de haloalquilo incluyen monofluoro-, difluoro- o trifluoro-metilo, -etilo o -propilo, por ejemplo, 3,3,3-trifluoropropilo, 2-fluoroetilo, 2,2,2-trifluoroetilo, fluorometilo o trifluorometilo.

La expresión “haloalquinil C_{3-6} ” indica un grupo alquinil C_{3-6} , en donde al menos uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquinil C_{3-6} se reemplazaron por el mismo o por diferentes átomos de halógeno. Los ejemplos de haloalquinil C_{3-6} incluyen 3,3,3-trifluoroprop-1-inilo.

La expresión “cicloalquil C_{3-7} ” indica un grupo hidrocarburo monocíclico o bicíclico saturado monovalente de 3 a 7 átomos de carbono del anillo. “Bicíclico” se refiere a que consiste en dos carbociclos saturados que tienen uno o más átomos de carbono en común. Los ejemplos de cicloalquilo monocíclico son ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo. Los ejemplos de cicloalquilo bicíclico son biciclo[1.1.0]butilo, biciclo[2.2.1]heptanilo, biciclo[1.1.1]pentanilo o biciclo[2.2.2]octanilo.

El término “tiazolileno” indica un grupo tiazolilo divalente.

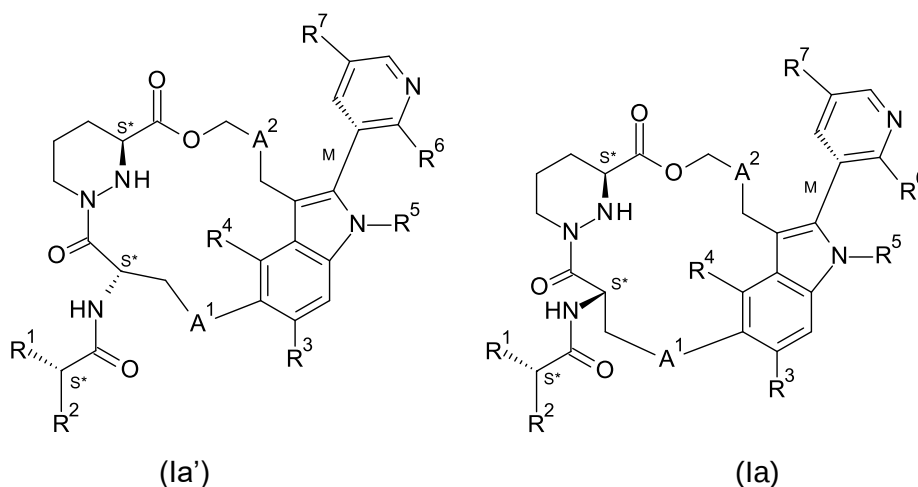
El término “oxo” indica un átomo de oxígeno divalente $=O$.



El término “dimetilmetileno” indica

La expresión “grupo protector” indica el grupo que bloquea selectivamente un sitio reactivo en un compuesto multifuncional, de modo que una reacción química se pueda llevar a cabo de manera selectiva en otro sitio reactivo desprotegido con el significado convencionalmente asociado a este en la química sintética. Los grupos protectores se pueden retirar en el punto adecuado. Los ejemplos de grupos protectores son grupos protectores de amino, grupos protectores de carboxi o grupos protectores de hidroxil.

Las personas del oficio de nivel medio comprenderán que las siguientes estructuras de compuestos de fórmula (Ia) y (Ia') son iguales, en especial para los centros quirales:



La expresión "sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico" indica sales que no son indeseables biológicamente o de otro modo. Las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico incluyen sales de adición ácidas y básicas.

La expresión "sal de adición ácida aceptable desde el punto de vista farmacéutico" indica aquellas sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido carbónico, ácido fosfórico y ácidos orgánicos seleccionados de clases alifáticas, cicloalifáticas, aromáticas, aralifáticas, heterocíclicas, carboxílicas y sulfónicas de ácidos orgánicos tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido maleico, ácido maloneico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido aspártico, ácido ascórbico, ácido glutámico, ácido antranílico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido embónico, ácido fenilacético, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido *p*-toluensulfónico y ácido salicíclico.

La expresión "sal de adición básica aceptable desde el punto de vista farmacéutico" indica aquellas sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico formadas con una base orgánica o inorgánica. Los ejemplos de bases inorgánicas aceptables incluyen sales de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso y aluminio. Las sales derivadas de bases no tóxicas orgánicas aceptables desde el punto de vista farmacéutico incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como resinas de isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dietilaminoetanol, trimetamina, dicitclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina,

betaína, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, piperizina, piperidina, *N*-etilpiperidina y poliamina.

La expresión "un metabolito farmacéuticamente activo" indica un producto farmacológicamente activo que se produce a través del metabolismo en el cuerpo de un compuesto especificado o una sal de este. Después de ingresar en el cuerpo, la mayoría de los fármacos son sustratos para reacciones químicas que pueden cambiar sus propiedades físicas y efectos biológicos. Estas conversiones metabólicas, que en general afectan la polaridad de los compuestos de la invención, alteran el modo en que los fármacos se distribuyen en y excretan del cuerpo. No obstante, en algunos casos, el metabolismo de un fármaco es necesario para los efectos terapéuticos.

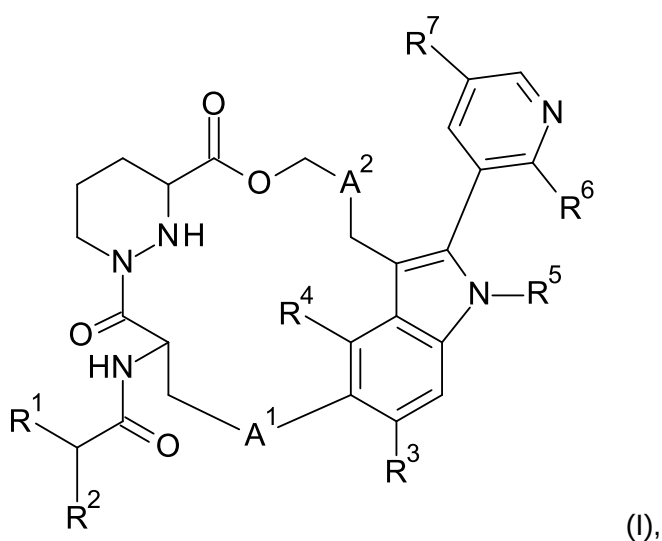
La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" indica una cantidad de un compuesto o molécula de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, (i) trata o previene la enfermedad, afección o trastorno particular, (ii) atenúa, alivia o elimina uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular, o (iii) previene o retrasa la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular descrito en la presente. La cantidad terapéuticamente eficaz variará según el compuesto, el estado de la enfermedad que se trata, la gravedad de la enfermedad que se trata, la edad y salud relativa del sujeto, la vía y la forma de administración, el criterio del médico clínico o veterinario, y otros factores.

La expresión "composición farmacéutica" indica una mezcla o solución que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un ingrediente farmacéutico activo junto con excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico que se desean administrar a un mamífero, por ejemplo, un ser humano que los necesita.

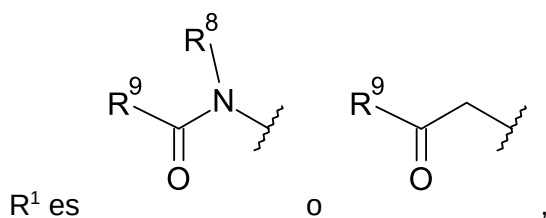
Las expresiones "excipiente aceptable desde el punto de vista farmacéutico", "portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico" y "excipiente terapéuticamente inerte" se pueden utilizar de manera indistinta e indican cualquier ingrediente aceptable desde el punto de vista farmacéutico en una composición farmacéutica que no tiene actividad terapéutica y que no es tóxico para el sujeto al que se la administra, tal como desintegrantes, aglutinantes, agentes de relleno, solventes, amortiguadores, agentes de tonicidad, estabilizadores, antioxidantes, tensioactivos, portadores, diluyentes o lubricantes utilizados en la formulación de productos farmacéuticos.

INHIBIDOR DE KRAS

La presente invención se refiere a (i') un compuesto de fórmula (I),



en donde



en donde R⁸ es alquil C₁₋₆;

R⁹ es cicloalquil C₃₋₇, azetidinilo o fenilo, en donde dichos cicloalquil C₃₋₇, azetidinilo y fenilo se sustituyen con haloalquil C₃₋₆, (haloalquilpirimidinil C₃₋₆)alquil C₂₋₆ o pirimidinilalquil C₂₋₆;

R² es alquil C₁₋₆;

R³ es H o halógeno;

R⁴ es H o halógeno;

R⁵ es alquil C₁₋₆ o haloalquil C₁₋₆;

R⁶ es alcoxi C₁₋₆ alquil C₁₋₆;

R⁷ es morfolinilo, (haloalquil C₁₋₆)piperazinilo o alquilpiperazinil C₁₋₆;

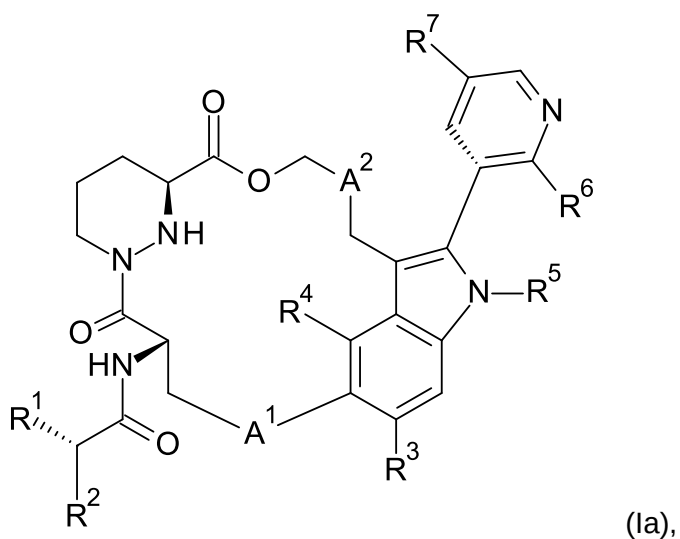
A¹ es tiazolileno;

A² es alquilen C₁₋₆;

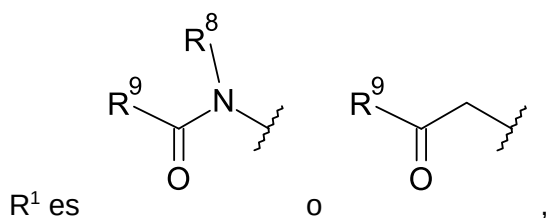
siempre que R³ y R⁴ no sean H en simultáneo;

o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

Otra forma de realización de la presente invención es (ii') un compuesto de fórmula (Ia),



en donde



en donde R⁸ es alquil C₁₋₆;

R⁹ es cicloalquil C₃₋₇, azetidino o fenilo, en donde dichos cicloalquil C₃₋₇, azetidino y fenilo se sustituyen con haloalquil C₃₋₆, (haloalquilpirimidinil C₃₋₆)alquil C₂₋₆ o pirimidinilalquil C₂₋₆;

R² es alquil C₁₋₆;

R³ es H o halógeno;

R⁴ es H o halógeno;

R⁵ es alquil C₁₋₆ o haloalquil C₁₋₆;

R⁶ es alcoxi C₁₋₆ alquil C₁₋₆;

R⁷ es morfolino, (haloalquil C₁₋₆)piperazinilo o alquilpiperazinil C₁₋₆;

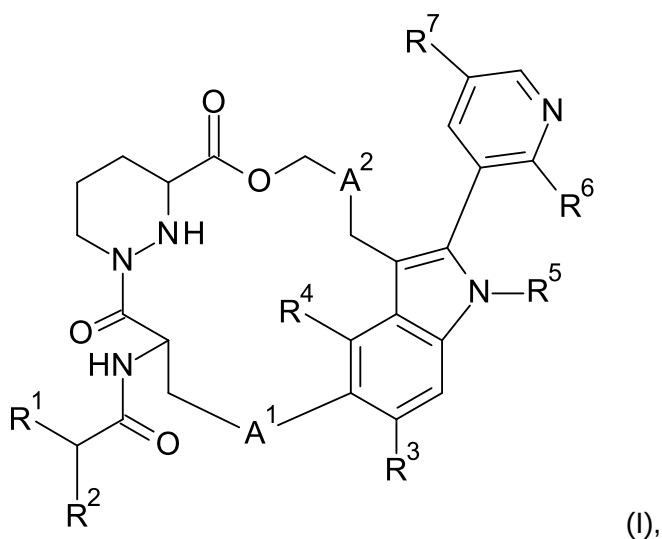
A¹ es tiazolileno;

A² es alquilen C₁₋₆;

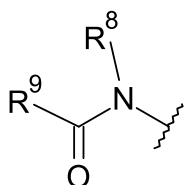
siempre que R³ y R⁴ no sean H en simultáneo;

o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

La presente invención se refiere a (i) un compuesto de fórmula (I),



en donde



R¹ es

en donde R⁸ es alquil C₁₋₆;

R⁹ es cicloalquil C₃₋₇, azetidino o fenilo, en donde dichos cicloalquil C₃₋₇, azetidino y fenilo se sustituyen con haloC₃₋₆alquil o pirimidinilC₂₋₆alquil;

R² es alquil C₁₋₆;

R³ es H o halógeno;

R⁴ es H o halógeno;

R⁵ es alquil C₁₋₆ o haloalquil C₁₋₆;

R⁶ es alcoxi C₁₋₆ alquil C₁₋₆;

R⁷ es morfolino, (haloalquil C₁₋₆)piperazino o alquimpiperazinil C₁₋₆;

A¹ es tiazolileno;

A² es alquilen C₁₋₆;

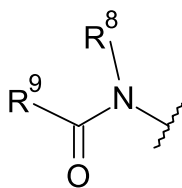
siempre que R³ y R⁴ no sean H en simultáneo;

o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

Otra forma de realización de la presente invención es (ii) un compuesto de fórmula (Ia),

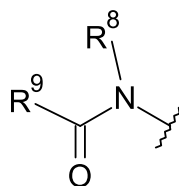
R^9C(=O)N(R^8)C(=O)R^{10}

Otra forma de realización de la presente invención es (iii) un compuesto de fórmula (I) o (Ia) de acuerdo con (i), (ii), (i') o (ii'), o una sal aceptable desde el punto de vista



farmacéutico de este, en donde R^1 es C_1 , en donde R^8 es alquil C_{1-6} ; R^9 es cicloalquil C_{3-7} sustituido con haloalquil C_{3-6} .

Otra forma de realización de la presente invención es (iv) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), de acuerdo con cualquiera de (i) a (iii), (i') y (ii'), o una sal aceptable desde el punto



de vista farmacéutico de este, en donde R^1 es C_1 , en donde R^8 es metilo; R^9 es ciclobutilo sustituido con 3,3,3-trifluoroprop-1-inilo.

Otra forma de realización de la presente invención es (v) un compuesto de fórmula (I) o (Ia) de acuerdo con cualquiera de (i) a (iv), (i') y (ii'), en donde R^9 es 3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutilo.

Otra forma de realización de la presente invención es (vi) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, de acuerdo con cualquiera de (i) a (v), (i') y (ii'), en donde R^2 es isopropilo.

Otra forma de realización de la presente invención es (vii) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, de acuerdo con cualquiera de (i) a (vi), (i') y (ii'), en donde R^3 es halógeno.

Otra forma de realización de la presente invención es (viii) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, de acuerdo con cualquiera de (i) a (vii), (i') y (ii'), en donde R^3 es fluoro.

Otra forma de realización de la presente invención es (ix) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, de acuerdo con cualquiera de (i) a (viii), (i') y (ii'), en donde R^4 es H o fluoro.

Otra forma de realización de la presente invención es (x) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, de acuerdo con cualquiera de (i) a (ix), (i') y (ii'), en donde R^4 es H.

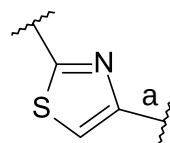
Otra forma de realización de la presente invención es (xi) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, de acuerdo con cualquiera de (i) a (x), (i') y (ii'), en donde R^5 es etilo o 2,2,2-trifluoroetilo.

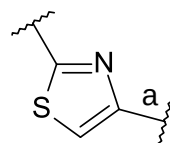
Otra forma de realización de la presente invención es (xii) un compuesto de fórmula (I) o

(Ia), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, de acuerdo con cualquiera de (i) a (xi), (i') y (ii'), en donde R^6 es 1-metoxietilo.

Otra forma de realización de la presente invención es (xiii) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, de acuerdo con cualquiera de (i) a (xii), (i') y (ii'), en donde R^7 es morfolinilo, 4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-ilo o 4-metilpiperazin-1-ilo.

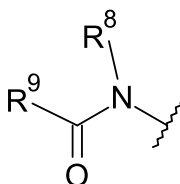
Otra forma de realización de la presente invención es (xiv) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, de acuerdo con

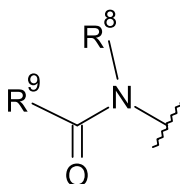


cualquiera de (i) a (xiii), (i') y (ii'), en donde A^1 es , en donde el enlace "a" se conecta con el anillo de indol.

Otra forma de realización de la presente invención es (xv) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, de acuerdo con cualquiera de (i) a (xiv), (i') y (ii'), en donde A^2 es dimetilmetileno.

Otra forma de realización de la presente invención es (xvi) un compuesto de fórmula (I) o (Ia), de acuerdo con (i) o (ii), (i') o (ii'), en donde



R^1 es , en donde R^8 es alquil C_{1-6} ; R^9 es cicloalquil C_{3-7} sustituido con haloalquil C_{3-6} ;

R^2 es alquil C_{1-6} ;

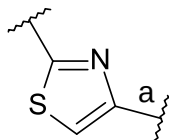
R^3 es halógeno;

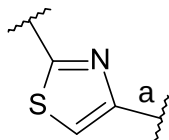
R^4 es H;

R^5 es alquil C_{1-6} o haloalquil C_{1-6} ;

R^6 es alcoxi C_{1-6} alquil C_{1-6} ;

R^7 es morfolinilo, (haloalquil C_{1-6})piperazinilo o alquelpiperazinil C_{1-6} ;



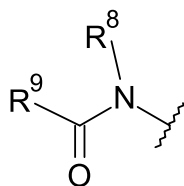
A^1 es , en donde el enlace "a" se conecta con el anillo de indol;

A^2 es alquilen C_{1-6} ;

o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

Otra forma de realización de la presente invención es (xvii) un compuesto de fórmula (I) o

(Ia), de acuerdo con (xvi), en donde



R¹ es , en donde R⁸ es metilo; R⁹ es 3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutilo;

R² es isopropilo;

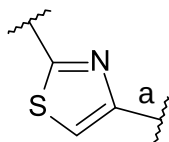
R³ es fluoro;

R⁴ es H;

R⁵ es etilo o 2,2,2-trifluoroetil;

R⁶ es (1S)-1-metoxietilo;

R⁷ es morfolinilo, 4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-ilo o 4-metilpiperazin-1-ilo;



A¹ es , en donde el enlace "a" se conecta con el anillo de indol;

A² es dimetilmetileno;

o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

Otra forma de realización de la presente invención es (xviii) un compuesto de fórmula (I) o (Ia) seleccionado de los siguientes:

trans-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-N-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida;

N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-N-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carboxamida;

cis-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-N-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida;

N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-N-metil-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzamida;

cis-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-

3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(2-pirimidin-2-iletinil)ciclobutancarboxamida;

cis-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida;

cis-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida;

cis-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida;

trans-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxamida;

cis-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxamida;

cis-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida;

cis-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-25-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida;

cis-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-[2-[5-(trifluorometil)pirimidin-2-

il]etini]ciclobutancarboxamida;

N-[(1*S*)-1-[(7*S*,13*S*)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-

tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carboxamida;

N-[(1*S*)-1-[(7*S*,13*S*)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carboxamida;

cis-N-[(1*S*)-1-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-[2-[4-(trifluorometil)pirimidin-2-

il]etini]ciclobutancarboxamida;

N-[(1*S*)-1-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carboxamida;

(2*S*)-*N*-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]-2-isopropil-4-oxo-4-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-il]butanamida;

N-[(1*S*)-1-[(7*S*,13*S*)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-

tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carboxamida;

cis-N-[(1*S*)-1-[(7*S*,13*S*)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-

tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-[2-[4-(trifluorometil)pirimidin-2-

il]etini]ciclobutancarboxamida; y

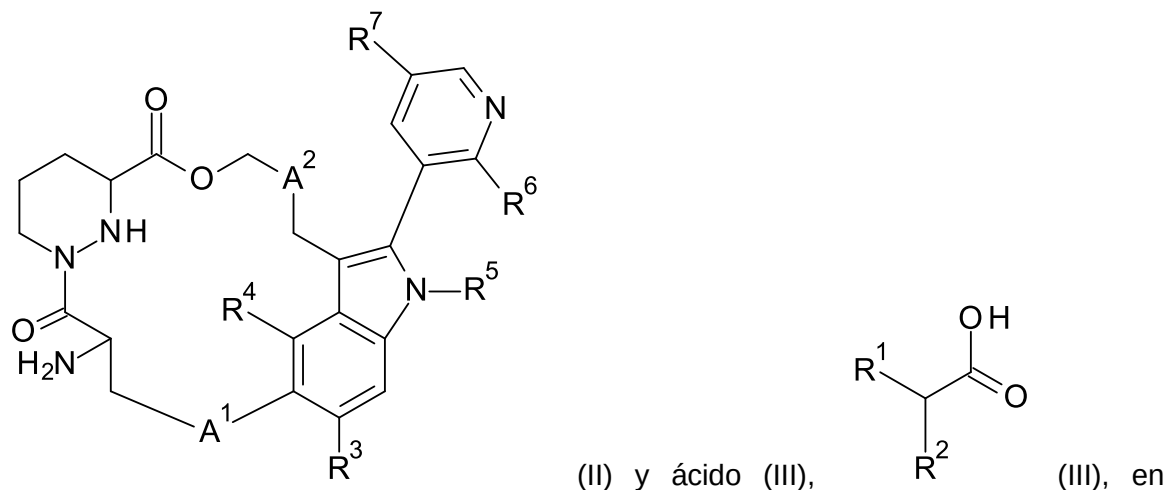
cis-N-[(1*S*)-1-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-

tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida;

o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con (xix) un proceso para la preparación de un compuesto de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii) que comprende la siguiente etapa:

a) reacción de acoplamiento entre el compuesto de fórmula (II),



presencia de un reactivo de acoplamiento y una base para formar el compuesto de fórmula (I);

en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , A^1 y A^2 se definen como en cualquiera de (i) a (xvii); el reactivo de acoplamiento es T_3P , HATU, PyBOP o EDCI/HOBt; la base es TEA, DIEPA o DMAP.

Otra forma de realización de la presente invención es (xx) un compuesto o sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), para su uso como sustancia terapéuticamente activa.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxi) una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), y un excipiente aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxii) el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), para tratar una enfermedad relacionada con la proteína KRAS G12C.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxiii) el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii) para tratar una enfermedad relacionada con la proteína KRAS G12C, G12D y G12V.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxiv) el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), para inhibir la interacción de RAS con efectores corriente abajo, en donde los efectores corriente abajo son RAF y PI3K.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxv) el uso de un compuesto de

acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), para inhibir la señalización de MAPK y PI3K oncogénicas en propagación.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxvi) el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), para el tratamiento o profilaxis de tipos de cáncer causados por mutación de KRAS, en donde el cáncer se selecciona de cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, cáncer de esófago, cáncer de vesícula biliar, melanoma, cáncer de ovario y cáncer endométrico.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxvii) el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), para el tratamiento o profilaxis de tipos de cáncer causados por mutación de KRAS, en donde el cáncer se selecciona de adenocarcinoma pancreático, cáncer colorrectal y cáncer de pulmón no microcítico.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxviii) a compuesto o sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), para el tratamiento o profilaxis de tipos de cáncer causados por mutación de KRAS, en donde el cáncer se selecciona de adenocarcinoma pancreático, cáncer colorrectal y cáncer de pulmón no microcítico.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxix) el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), para el tratamiento o profilaxis de tipos de cáncer causados por mutación de KRAS, en donde el cáncer comprende una primera mutación que es G12C, y una segunda mutación en una posición seleccionada de V8A, V9Y, S17E, T58I, A59T, S65W, R68S, D69P, M72I, D92R, H95N, Y96D, Q99F, Q99W, Y96H y F156L.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxx) el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), para la preparación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de tipos de cáncer causados por mutación de KRAS, en donde el cáncer se selecciona de adenocarcinoma pancreático, cáncer colorrectal y cáncer de pulmón no microcítico.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxxi) el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), para la preparación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de tipos de cáncer causados por mutación de KRAS, en donde el cáncer comprende una primera mutación que es G12C, y una segunda mutación en una posición seleccionada de V8A, V9Y, S17E, T58I, A59T, S65W, R68S, D69P, M72I, D92R, H95N, Y96D, Q99F, Q99W, Y96H y F156L.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxxii) un método para el tratamiento o profilaxis de tipos de cáncer causados por mutación de KRAS, en donde el cáncer se selecciona de adenocarcinoma pancreático, cáncer colorrectal y cáncer de

pulmón no microcítico, en donde el método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como se define en cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii').

Otra forma de realización de la presente invención es (xxxiii) un método para el tratamiento o profilaxis de tipos de cáncer causados por mutación de KRAS, en donde el cáncer comprende una primera mutación que es G12C, y una segunda mutación en una posición seleccionada de V8A, V9Y, S17E, T58I, A59T, S65W, R68S, D69P, M72I, D92R, H95N, Y96D, Q99F, Q99W, Y96H y F156L.

Otra forma de realización de la presente invención es (xxxiv) un compuesto o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de acuerdo con cualquiera de (i) a (xviii), (i') y (ii'), cuando se fabrica de acuerdo con un proceso de (xix).

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS Y SU ADMINISTRACIÓN

Otra forma de realización proporciona composiciones farmacéuticas o medicamentos que contienen los compuestos de la invención y un portador, diluyente o excipiente terapéuticamente inertes, además de métodos para usar los compuestos de la invención para preparar tales composiciones y medicamentos. En un ejemplo, los compuestos de fórmula (I) se pueden formular al mezclar a temperatura ambiente, al pH adecuado y con el grado de pureza deseado, con portadores fisiológicamente aceptables, es decir, portadores que no son tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas en una forma de administración galénica. El pH de la formulación depende principalmente del uso en particular y de la concentración del compuesto, pero preferentemente varía de alrededor de 3 a alrededor de 8. En un ejemplo, un compuesto de fórmula (I) se formula en un amortiguador de acetato, a pH 5. En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I) son estériles. El compuesto puede almacenarse, por ejemplo, como una composición amorfa o sólida, como una formulación liofilizada o como una solución acuosa.

Las composiciones se formulan, dosifican y administran de acuerdo con las buenas prácticas médicas. Los factores a considerar en este contexto incluyen el trastorno particular en tratamiento, el mamífero particular en tratamiento, la afección clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el método de administración, el cronograma de administración y otros factores conocidos por los profesionales de la salud. La "cantidad eficaz" del compuesto que se debe administrar estará regulada por tales consideraciones, y es la cantidad mínima necesaria para inhibir la interacción de RAS mutante (por ejemplo, KRAS G12C) con RAF, por lo que bloquea la señalización de MAPK oncogénica. Por ejemplo, tal cantidad puede ser menor a la

cantidad que resulta tóxica para las células normales, o para el mamífero en su totalidad. En un ejemplo, la cantidad farmacéuticamente eficaz del compuesto de la invención administrado por vía parenteral por dosis variará de alrededor de 0,1 a 1000 mg/kg, de manera alternativa, de alrededor de 0,1 a 1000 mg/kg de peso corporal del paciente por día, en donde el rango inicial habitual del compuesto usado es de 0,3 a 15 mg/kg/día. En otra forma de realización, las formas de dosis unitarias orales, tales como comprimidos y cápsulas, contienen preferentemente de alrededor de 1 a alrededor de 1000 mg del compuesto de la invención.

Los compuestos de la invención se pueden administrar mediante cualquier medio adecuado, que incluye administración oral, tópica (que incluye bucal y sublingual), rectal, vaginal, transdérmica, parenteral, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar, intradérmica, intratecal y epidural e intranasal, y, si se desea para el tratamiento local, intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar con cualquier forma de administración conveniente, por ejemplo, comprimidos, polvos, cápsulas, soluciones, dispersiones, suspensiones, jarabes, pulverizaciones, supositorios, geles, emulsiones, parches, etc. Tales composiciones pueden contener componentes convencionales en las preparaciones farmacéuticas, por ejemplo, diluyentes, portadores, modificadores de pH, endulzantes, agentes volumétricos y otros agentes activos.

Una formulación habitual se prepara mezclando un compuesto de la presente invención y un portador o excipiente. Los portadores y excipientes adecuados son conocidos por las personas del oficio de nivel medio y se describen en detalle en, por ejemplo, Ansel, Howard C., *et al.*, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. Filadelfia: Lippincott, Williams y Wilkins, 2004; Gennaro, Alfonso R., *et al.* Remington: The Science and Practice of Pharmacy. Filadelfia: Lippincott, Williams y Wilkins, 2000; y Rowe, Raymond C. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Chicago, Pharmaceutical Press, 2005. Las formulaciones también pueden incluir uno o más amortiguadores, agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulgentes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, agentes de opacidad, deslizantes, auxiliares de procesamiento, colorantes, endulzantes, agentes perfumantes, agentes saborizantes, diluyentes y otros aditivos conocidos para proporcionar una presentación agradable del fármaco (es decir, un compuesto de la presente invención o composición farmacéutica de este) o ayudar en la fabricación del producto farmacéutico (es decir, medicamento).

Un ejemplo de una forma de dosis oral adecuada es un comprimido que contiene de

alrededor de 1 a 1000 mg del compuesto de la invención junto con alrededor de 1 a 1000 mg de lactosa anhidra, de alrededor de 1 a 1000 mg de croscarmelosa de sodio, de alrededor de 1 a 1000 mg de polivinilpirrolidona (PVP) K30, y de alrededor de 1 a 1000 mg de estearato de magnesio. Primero, los ingredientes en polvo se mezclan en conjunto y luego se mezclan con una solución de la PVP. La composición resultante se puede secar, granular, mezclar con el estearato de magnesio y comprimir hasta formar un comprimido mediante el uso de equipo convencional. Un ejemplo de una formulación en aerosol se puede preparar disolviendo el compuesto, por ejemplo, de 5 a 400 mg de la invención en una solución amortiguadora adecuada, por ejemplo, un amortiguador de fosfato, agregando un modificador de tonicidad, por ejemplo, una sal tal como cloruro de sodio, si se desea. La solución se puede filtrar, por ejemplo, con un filtro de 0,2 micrómetros, para eliminar impurezas y contaminantes.

Por lo tanto, una forma de realización incluye una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o un estereoisómero o sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este. Otra forma de realización incluye una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o un estereoisómero o sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este, junto con un portador o excipiente aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Otra forma de realización incluye una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) para su uso en el tratamiento de tipos de cáncer causados por KRAS mutante. Otra forma de realización incluye una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) para su uso en el tratamiento de tipos de cáncer causados por KRAS mutante.

Las siguientes composiciones A y B ilustran composiciones habituales de la presente invención, pero sirven simplemente como representación de estas.

Composición A

Un compuesto de la presente invención puede usarse de una manera conocida per se como el ingrediente activo para la producción de comprimidos de la siguiente composición:

	<u>Por comprimido</u>
Ingrediente activo	200 mg
Celulosa microcristalina	155 mg
Almidón de maíz	25 mg
Talco	25 mg
Hidroxipropilmetilcelulosa	<u>20 mg</u>
	425 mg

Composición B

Un compuesto de la presente invención puede usarse de una manera conocida per se como el ingrediente activo para la producción de cápsulas de la siguiente composición:

	<u>Por cápsula</u>
Ingrediente activo	100,0 mg
Almidón de maíz	20,0 mg
Lactosa	95,0 mg
Talco	4,5 mg
Estearato de magnesio	<u>0,5 mg</u>
	220,0 mg

INDICACIONES Y MÉTODOS DE TRATAMIENTO

Los compuestos de la invención inducen una cavidad de unión nueva en KRAS al causar formación de un tri-complejo de alta afinidad entre proteína KRAS y la ampliamente expresada ciclofilina A (CYPA), que inhibe la interacción de KRAS con efectores corriente abajo, tales como RAF y PI3K. En consecuencia, los compuestos de la invención son útiles para inhibir la señalización de MAPK y PI3K oncogénicas en propagación, por lo que reducen la proliferación celular, en particular, células cancerosas. Los compuestos de la invención son útiles para la terminación de señalización de RAS en células que expresan mutante de RAS, por ejemplo, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, cáncer de esófago, cáncer de vesícula biliar, melanoma, cáncer de ovario, cáncer endométrico, etc., causados por mutación de KRAS. De manera alternativa, los compuestos de la invención son útiles para la terminación de señalización de RAS en tumor sólido maligno donde la función oncogénica de la mutación de KRAS está reforzada por la desregulación o mutación de vías efectoras tales como MAPK, señalización causada por PI3K-AKT-mTOR (diana de mamífero de rapamicina), para tratamiento dirigido en adenocarcinoma de páncreas, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón no microcítico, etc.

Otra forma de realización incluye un método para tratar o prevenir cáncer en un mamífero que necesita tal tratamiento, en donde el método comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), un estereoisómero, tautómero, profármaco o sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

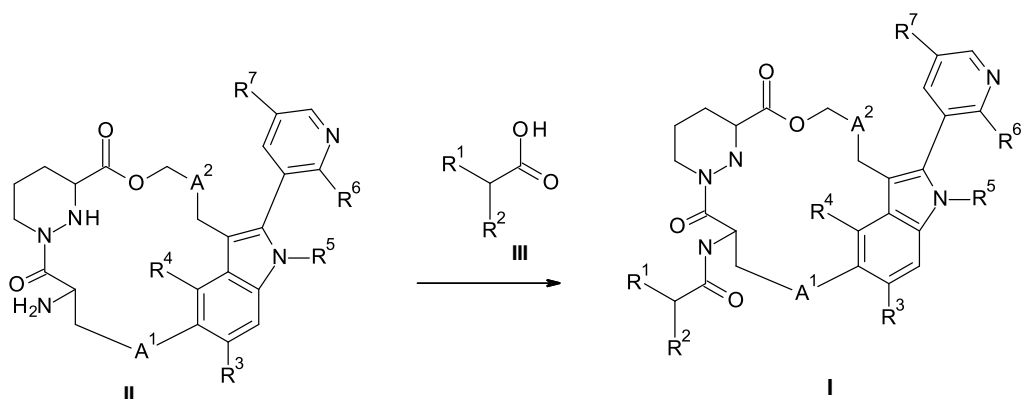
SÍNTESIS

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse mediante cualquier medio

convencional. Los procesos adecuados para sintetizar estos compuestos, así como sus materiales de inicio, se proporcionan en los esquemas y ejemplos a continuación. Todos los sustituyentes, en particular, R^1 a R^7 , A^1 y A^2 son como se definió anteriormente a menos que se indique lo contrario. Además, y a menos que se indique expresamente lo contrario, todas las reacciones, condiciones de reacción, abreviaturas y símbolos tienen los significados conocidos por una persona del oficio de nivel medio en el ámbito de la química orgánica.

Las vías sintéticas generales para preparar el compuesto de fórmula (I) se muestran más adelante.

Esquema 1

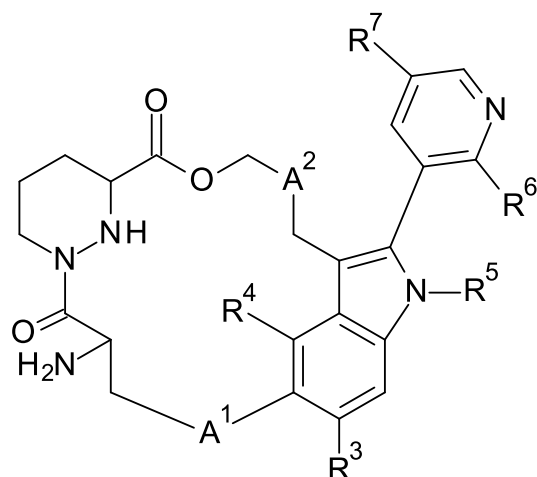


El compuesto de fórmula **II** se sintetizó de acuerdo con el procedimiento descrito en el intermediario A a K. El compuesto de fórmula (**I**) se puede obtener mediante una reacción de acoplamiento entre ácido (**III**) y compuesto de fórmula (**II**) con reactivos de acoplamiento, tales como T_3P , HATU, PyBOP y EDCI/HOBt, en presencia de una base, tal como TEA, DIEPA y DMAP.

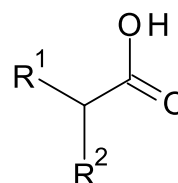
Los compuestos de la presente invención pueden obtenerse como mezclas de diastereómeros o enantiómeros, que se pueden separar mediante métodos conocidos en el estado de la técnica, por ejemplo, HPLC o SFC (quiral). En otra forma de realización, el compuesto de fórmula (**I**) se puede obtener de acuerdo con el esquema anterior al usar los materiales de inicio quiral correspondientes.

La presente invención también se refiere a un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (**I**) que comprende la siguiente etapa:

a) reacción de acoplamiento entre el compuesto de fórmula (**II**),



(II) y ácido (III),



(III), en

presencia de un reactivo de acoplamiento y una base para formar el compuesto de fórmula (I);

en donde

en la etapa a), el reactivo de acoplamiento puede ser, por ejemplo, T₃P, HATU, PyBOP o EDCI/HOBt; la base puede ser, por ejemplo, TEA, DIEPA o DMAP.

También es objeto de la invención un compuesto de fórmula (I) o (Ia) cuando se fabrica de acuerdo con el proceso anterior.

EJEMPLOS

La invención se comprenderá más en detalle en referencia a los ejemplos a continuación. Sin embargo, no deben interpretarse como limitativos del alcance de la invención.

ABREVIATURAS

La invención se comprenderá más en detalle en referencia a los ejemplos a continuación. Sin embargo, no deben interpretarse como limitativos del alcance de la invención.

Las abreviaturas usadas en la presente son las siguientes:

ACN	acetonitrilo
ac.	Acuoso
Boc- <i>N</i> -Me-Val-OH	<i>N</i> -(<i>ter</i> -butoxicarbonil)- <i>N</i> -metil- <i>L</i> -valina
(Boc) ₂ ^o	Di- <i>ter</i> -butildicarbonato
(<i>R</i>)-binap	(<i>R</i>)-(+)-2,2'-Bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo
CDCl ₃ :	cloroformo deuterado
CD ₃ OD:	metanol deuterado
COMU	Hexafluorofosfato de (1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilidenaminooxi)dimetilamino-morfolino-carbenio
DIEPA:	<i>N</i> , <i>N</i> -dietilpropilamina

DIBAL-H	Hidruro de diisobutilaluminio
DMAP:	4-dimetilaminopiridina
DMF:	dimetil formamida
DMP	1,1,1-tris(acetiloxi)-1,1-dihidro-1,2-benzodioxol-3-(1 <i>H</i>)-ona
DMSO:	sulfóxido de dimetilo
EDCI:	N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida clorhidrato
EtOAc o EA:	acetato de etilo
FRET	transferencia de energía de resonancia de fluorescencia
HATU:	(hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]piridinio 3-óxido)
h:	horas
HPLC:	cromatografía de líquidos de alta resolución
HOBt:	<i>N</i> -hidroxibenzotriazol
H-VAL-OTBU HCl	(<i>S</i>)- <i>ter</i> -butil 2-amino-3-metilbutanoato clorhidrato
[Ir(OMe)(COD)] ₂	Dímero de (1,5-ciclooctadien)(metoxi)iridio(I)
LDA	Diisopropilamida de litio
MS: (ESI):	espectroscopia de masas (ionización por pulverización de electrones)
min	minutos
MTBE	Metil <i>ter</i> -butil éter
NMM	<i>N</i> -metilmorfolina
RMN:	resonancia magnética nuclear
NMO	4-metilmorfolina <i>N</i> -óxido
obsd.	Observada
Pd(dppf)Cl ₂	[1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocen]dicloropaladio(II)
Pd(dtbpf)Cl ₂	[1,1'-bis(di- <i>ter</i> -butilfosfino)ferrocen]dicloropaladio(II)
HPLC preparativa	cromatografía de líquidos de alta resolución preparativa
PyBOP:	benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio hexafluorofosfato
RT o rt:	temperatura ambiente
sat.	saturado
SFC	cromatografía de fluido supercrítico
TEA:	triethylamina
TFA:	ácido trifluoroacético
THF:	tetrahidrofurano
TEA:	trimetilamina
TMEDA	Tetrametiletilendiamina

TMSCF ₃	Trifluorometiltrimetilsilano
T ₃ P:	anhídrido propilfosfónico

CONDICIONES EXPERIMENTALES GENERALES

Los intermediarios y compuestos finales se purificaron mediante cromatografía flash mediante el uso de uno de los siguientes instrumentos: i) sistema Biotage SP1 y el módulo Quad 12/25 Cartridge. ii) instrumento de cromatografía combi-flash ISCO. Marca del gel de sílice y tamaño de poro: i) KP-SIL 60 Å, tamaño de partícula: 40-60 µm; ii) registro CAS N.º: Gel de sílice: 63231-67-4, tamaño de partícula: gel de sílice de 47-60 micrómetros; iii) ZCX de Qingdao Haiyang Chemical Co., Ltd, poro: 200-300 o 300-400.

Los intermediarios y compuestos finales se purificaron mediante HPLC preparativa en columna de fase inversa usando una columna XBridge™ Prep-C18 (5 µm, OBDTM 30 × 100 mm), columna SunFire™ Prep-C18 (5 µm, OBD™ 30 × 100 mm), Phenomenex Synergi-C18 (10 µm, 25 × 150 mm) o Phenomenex Gemini-C18 (10 µm, 25 × 150 mm). Sistema de purificación Waters AutoP (Sample Manager 2767, bomba 2525, detector: Micromass ZQ y UV 2487, sistema de solvente: acetonitrilo y 0,1 % de hidróxido de amonio en agua; acetonitrilo y 0,1 % de FA en agua o acetonitrilo y 0,1 % de TFA en agua). O sistema de purificación Gilson-281 (bomba 322, detector: UV 156, sistema de solventes: acetonitrilo e hidróxido de amonio al 0,05 % en agua; acetonitrilo y FA al 0,225 % en agua; acetonitrilo y HCl al 0,05 % en agua; acetonitrilo y TFA al 0,075 % en agua; o acetonitrilo y agua).

Para la separación quiral SFC, los intermediarios se separaron mediante columna quiral (Daicel chiralpak IC, 5 µm, 30 × 250 mm), AS (10 µm, 30 × 250 mm) o AD (10 µm, 30 × 250 mm) usando un sistema SFC Mettler Toledo Multigram III, SFC preparativa Waters 80Q o SFC preparativa Thar 80, sistema de solvente: CO₂ e IPA (0,5 % de TEA en IPA) o CO₂ y MeOH (0,1 % de NH₃·H₂O en MeOH), contrapresión de 100 bar, detección UV a 254 o 220 nm.

Los espectros LC/MS de los compuestos se obtuvieron con LC/MS (Waters™ Alliance 2795-Micromass ZQ, Shimadzu Alliance 2020-Micromass ZQ o Agilent Alliance 6110-Micromass ZQ), las condiciones de LC/MS fueron como se indica a continuación (tiempo de corrida 3 o 1,5 min):

Condición ácida I: A: 0,1 % de TFA en H₂O; B: 0,1 % de TFA en acetonitrilo;

Condición ácida II: A: 0,0375 % de TFA en H₂O; B: 0,01875 % de TFA en acetonitrilo;

Condición básica I: A: 0,1 % de NH₃·H₂O en H₂O; B: acetonitrilo;

Condición básica II: A: 0,025 % de NH₃·H₂O en H₂O; B: acetonitrilo;

Condición neutra: A: H₂O; B: acetonitrilo.

Espectros de masa (MS): en general solo se informan los iones que indican la masa de origen y, a menos que se indique lo contrario, el ion de masa citado es el ion de masa positivo (MH)⁺.

Los espectros de RMN se obtuvieron usando Bruker Avance 400 MHz.

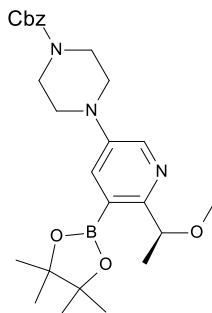
Las reacciones asistidas por microondas se llevaron a cabo en un sintetizador de microondas Biotage Initiator Sixty. Todas las reacciones que incluyen reactivos sensibles al aire se llevaron a cabo en una atmósfera de argón o nitrógeno. Los reactivos se utilizaron tal como se recibieron de los proveedores comerciales sin purificación adicional, a menos que se indique lo contrario.

EJEMPLOS PREPARATIVOS

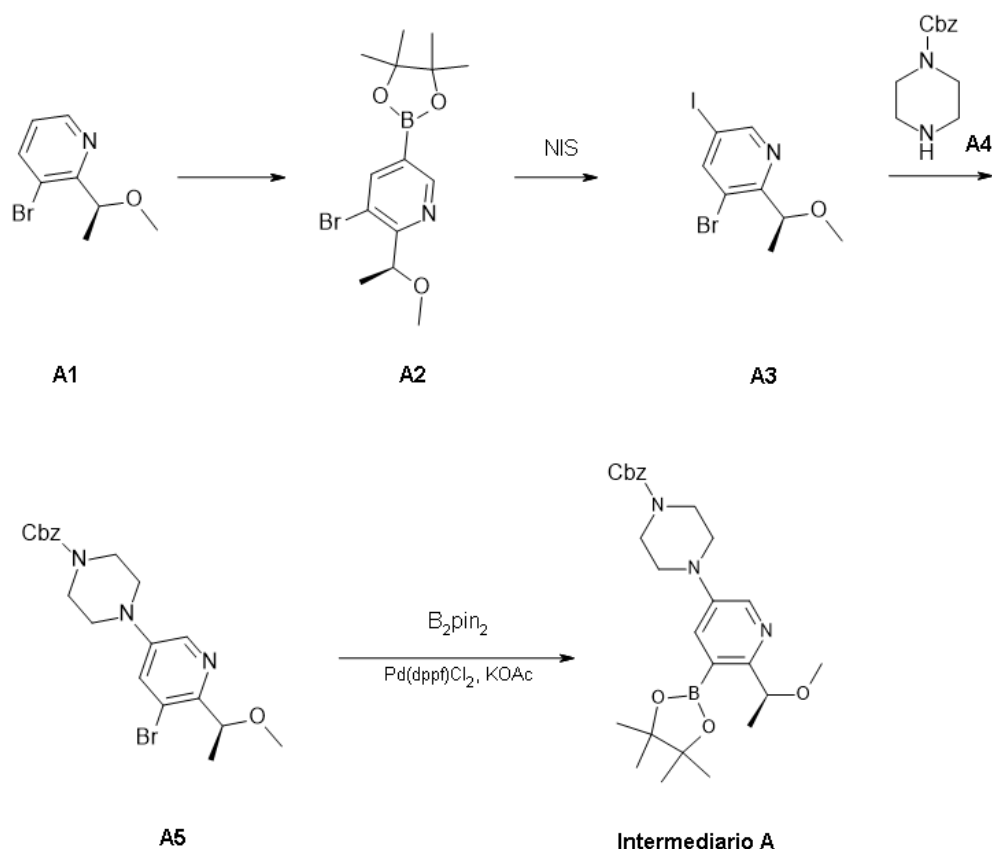
Preparación de intermediarios

Intermediario A

1-[6-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]-4-metil-piperazina



El intermediario **A** del título se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Etapas 1: Preparación de 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (compuesto **A2)**

A una solución de 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (compuesto **A1**, 2,0 g, 9,26 mmol) y bis(pinacolato)diboro (3,5 g, 13,9 mmol) en THF (30 ml) se agregaron 4,4'-di-*ter*-butil-2,2'-bipiridina (372,7 mg, 1,39 mmol) y [Ir(Ome)(COD)]₂ (306,3 mg, 0,460 mmol). La mezcla se agitó a 75 °C durante 16 horas en protección de N₂. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EA/PE: 0-20 %) para obtener 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (compuesto **A2**, 2,4 g) como un aceite amarillo. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,91 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 8,21 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 4,95 (q, *J* = 6,5 Hz, 1 H), 3,30 (s, 3 H), 1,49 (d, *J* = 6,5 Hz, 3 H), 1,35 (s, 12 H).

Etapas 2: Preparación de 3-bromo-5-yodo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (compuesto **A3)**

A una solución de 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (compuesto **A2**, 2,5 g, 7,3 mmol) en ACN (40 ml) se agregó N-yodosuccinimida (4,1 g, 18,27 mmol). La mezcla se agitó a 90 °C durante 40 h en protección de N₂. La reacción se inactivó con solución saturada de Na₂SO₃ (40 ml), y la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (30 ml, dos veces). La capa orgánica

combinada se lavó con salmuera (50 ml), se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EA/PE: 0-20 %) para obtener 3-bromo-5-yodo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (compuesto **A3**, 660 mg) como un aceite amarillo. MS calculada 342 (MH⁺), medida 341,8 (MH⁺).

Etapas 3: Preparación de bencil 4-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto A5)

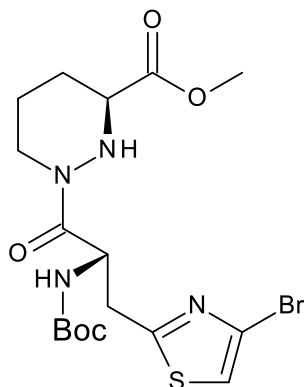
A una solución de 3-bromo-5-yodo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (compuesto **A3**, 660 mg, 1,9 mmol) y 1-Cbz-piperazina (compuesto **A4**, 425,1 mg, 1,9 mmol) en tolueno (10 ml) se agregaron carbonato de cesio (1,6 g, 4,83 mmol), @-BINAP (60,1 mg, 0,1 mmol) y acetato de paladio (II) (43,3 mg, 0,19 mmol). La mezcla se agitó a 100 °C durante 12 horas en protección de N₂. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EA/PE: 0-50 %) para obtener bencil 4-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **A5**, 740 mg) como un sólido amarillo. MS calculada 434,1 (MH⁺), medida 434,1 (MH⁺).

Etapas 4: Preparación de 1-[6-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]-4-metil-piperazina (intermediario A)

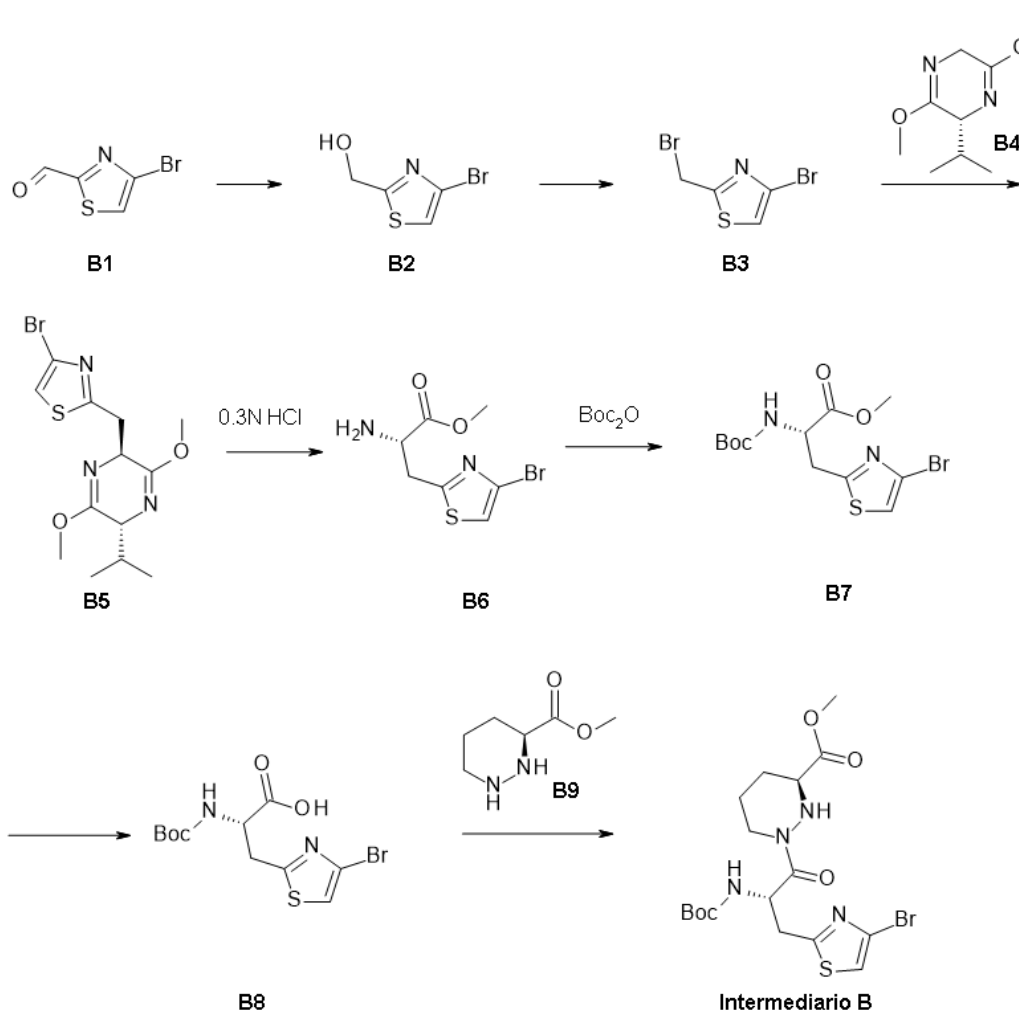
A una solución de bencil 4-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **A5**, 740 mg, 1,7 mmol) y bis(pinacolato)diboro (519,2 mg, 2,04 mmol) en tolueno (12 ml) se agregaron KOAc (418,0 mg, 4,26 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (124,7 mg, 0,170 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 12 h en protección de N₂. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna en gel de sílice para obtener 1-[6-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]-4-metil-piperazina (intermediario **A**, 470 mg) como un sólido marrón. MS calculada 482,3 (MH⁺), medida 482,2 (MH⁺).

Intermediario B

Metil (3S)-1-[(2S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato



El intermediario **B** se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Etapas 1: Preparación de (4-bromotiazol-2-il)metanol (compuesto B2)

A una solución de 4-bromotiazol-2-carboxaldehído (compuesto **B1**, 6,0 g, 31,25 mmol) en metanol (70 ml), se agregó borohidruro de sodio (1,7 g, 46,87 mmol) a 0 °C. La mezcla

se agitó a 25 °C durante 1 hora. La reacción se inactivó con agua (300 ml) a 0 °C y la mezcla de reacción se extrajo mediante acetato de etilo (200 ml, tres veces). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (150 ml, dos veces), se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener (4-bromotiazol-2-il)metanol (compuesto **B2**, 6g) como un aceite incoloro.

Etapas 2: Preparación de 4-bromo-2-(bromometil)tiazol (compuesto B3)

A una solución de (4-bromotiazol-2-il)metanol (compuesto **B2**, 6,0 g, 30,92 mmol) en DCM (80 ml) se agregó CBr₄ (15,4 g, 46,38 mmol) y trifenilfosfina (12,1 g, 46,38 mmol) a 0 °C. Después de agitarse a 25 °C durante 1 hora, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice, que se eluyó con acetato de etilo en éter de petróleo (0~10 %) para obtener (4-bromotiazol-2-il)metanol (compuesto **B3**, 6,0 g) como un aceite amarillo. MS calculada 255,9 (MH⁺), medida 255,9 (MH⁺).

Etapas 3: Preparación de 4-bromo-2-[[[(2S,5R)-5-isopropil-3,6-dimetoxi-2,5-dihidropirazin-2-il]metil]tiazol (compuesto B5)

A una mezcla de 2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-2-isopropilpirazina (compuesto **B4**, 4,3 g, 23,45 mmol) en THF (60 ml) se agregó n-butilitio (10 ml, 25,22 mmol, 2,5 M) a -78 °C lentamente. Después de la adición, la mezcla se agitó durante 0,5 h a -78 °C. 4-bromo-2-(bromometil)tiazol (compuesto **B3**, 5,4 g, 21,02 mmol) se agregó a la mezcla anterior a -78 °C que se agitó durante una 1 h adicional. La reacción se inactivó con solución saturada de NH₄Cl (100 ml) y la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (100 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (150 ml), se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa para obtener 4-bromo-2-[[[(2S,5R)-5-isopropil-3,6-dimetoxi-2,5-dihidropirazin-2-il]metil]tiazol (compuesto **B5**, 3,6 g) como un aceite amarillo. MS calculada 360 (MH⁺), medida 359,9 (MH⁺).

Etapas 4: Preparación de metil (2S)-2-amino-3-(4-bromotiazol-2-il)propanoato (compuesto B6)

A una solución de 4-bromo-2-[[[(2S,5R)-5-isopropil-3,6-dimetoxi-2,5-dihidropirazin-2-il]metil]tiazol (compuesto **B5**, 3,6 g, 10 mmol) en ACN (20 ml) se agregó ácido clorhídrico (66,6 ml, 0,3 M). Se agitó la mezcla a 25 °C durante 2 horas. La mezcla se basificó mediante solución saturada de NaHCO₃ hasta pH=8. La mezcla se extrajo con EtOAc (80 ml, seis veces). La capa orgánica combinada se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener metil (2S)-2-amino-3-(4-bromotiazol-2-il)propanoato (compuesto **B6**, 3,1 g) como un aceite amarillo. MS calculada 264,9 (MH⁺), medida 264,9 (MH⁺).

Etapla 5: Preparación de metil (2S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)propanoato (compuesto B7)

A una solución de metil (2S)-2-amino-3-(4-bromotiazol-2-il)propanoato (compuesto **B6**, 3,1 g, 11,69 mmol) en DCM (40 ml) se agregaron trietilamina (2,9 g, 29,23 mmol) y (Boc)₂O (3,8 g, 17,54 mmol). Una vez que se agitó a 30 °C durante 12 horas, la mezcla se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice, que se eluyó con acetato de etilo en éter de petróleo (0~30 %) para obtener metil (2S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)propanoato (compuesto **B7**, 3,2 g) como un aceite amarillo. MS calculada 387 (Mna⁺), medida 386,9 (Mna⁺).

Etapla 6: Preparación de ácido (2S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-propanoico (compuesto B8)

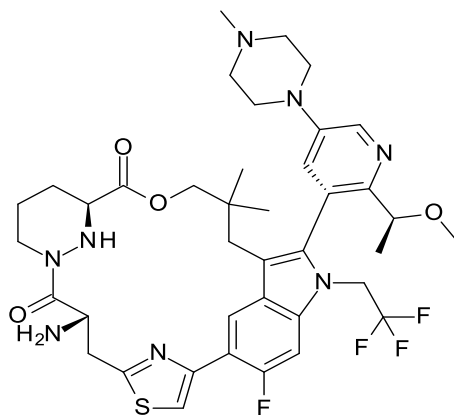
A una solución de metil (2S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)propanoato (compuesto **B7**, 3,2 g, 8,76 mmol) en THF (30 ml), metanol (2 ml) y agua (10 ml) se agregó hidróxido de litio (0,4 ml, 43,81 mmol). Después de agitarse a 25 °C durante 1 hora, la mezcla de reacción se acidificó mediante solución 1 M de HCl hasta pH=5. La mezcla se extrajo con EtOAc (40 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener ácido (2S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)propanoico (compuesto **B8**, 3,1 g) como un aceite amarillo. MS calculada 373 (Mna⁺), medida 372,9 (Mna⁺).

Etapla 7: Preparación de metil (3S)-1-[(2S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (intermediario B)

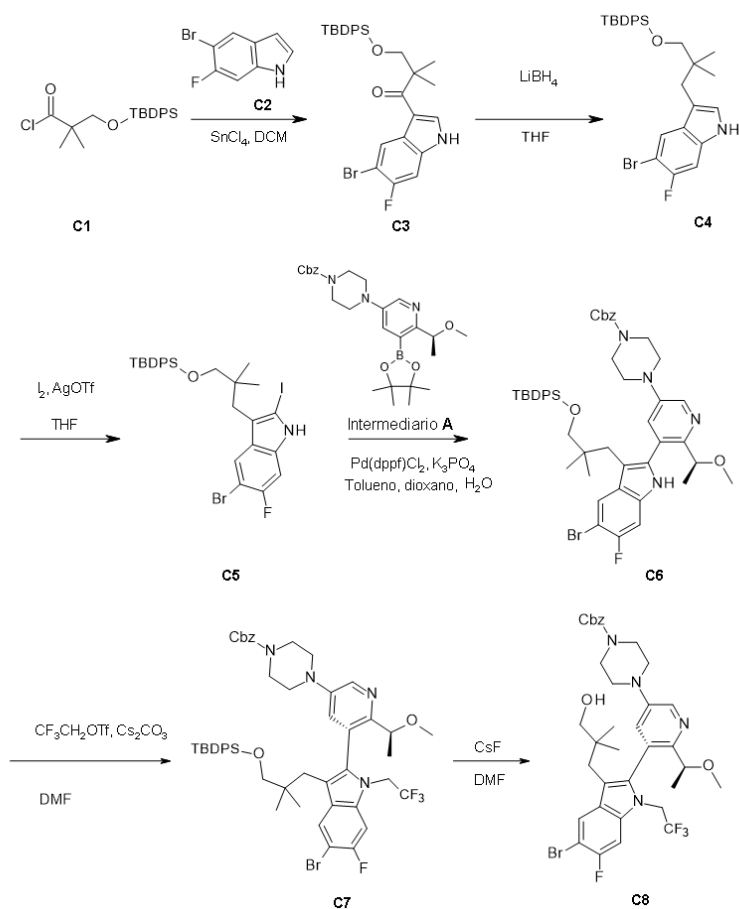
A una solución de ácido (2S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)propanoico (compuesto **B8**, 3,1 g, 8,83 mmol) en DCM (50 ml) se agregó metil (3S)-hexahidropiridazin-3-carboxilato; clorhidrato (compuesto **B9**, 2,4 g, 13,24 mmol), EDCI (3,4 g, 17,65 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (238,5 mg, 1,77 mmol) y NMM (9,92 ml, 88,26 mmol) a 0 °C. Después de agitarse a 25 °C durante 1 hora, la mezcla de reacción se diluyó con agua (60 ml) y se extrajo con EtOAc (60 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice y se eluyó con acetato de etilo en éter de petróleo (10~30 %) para obtener metil (3S)-1-[(2S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (intermediario **B**, 2,4 g). MS calculada 477 (MH⁺), medida 476,9 (MH⁺).

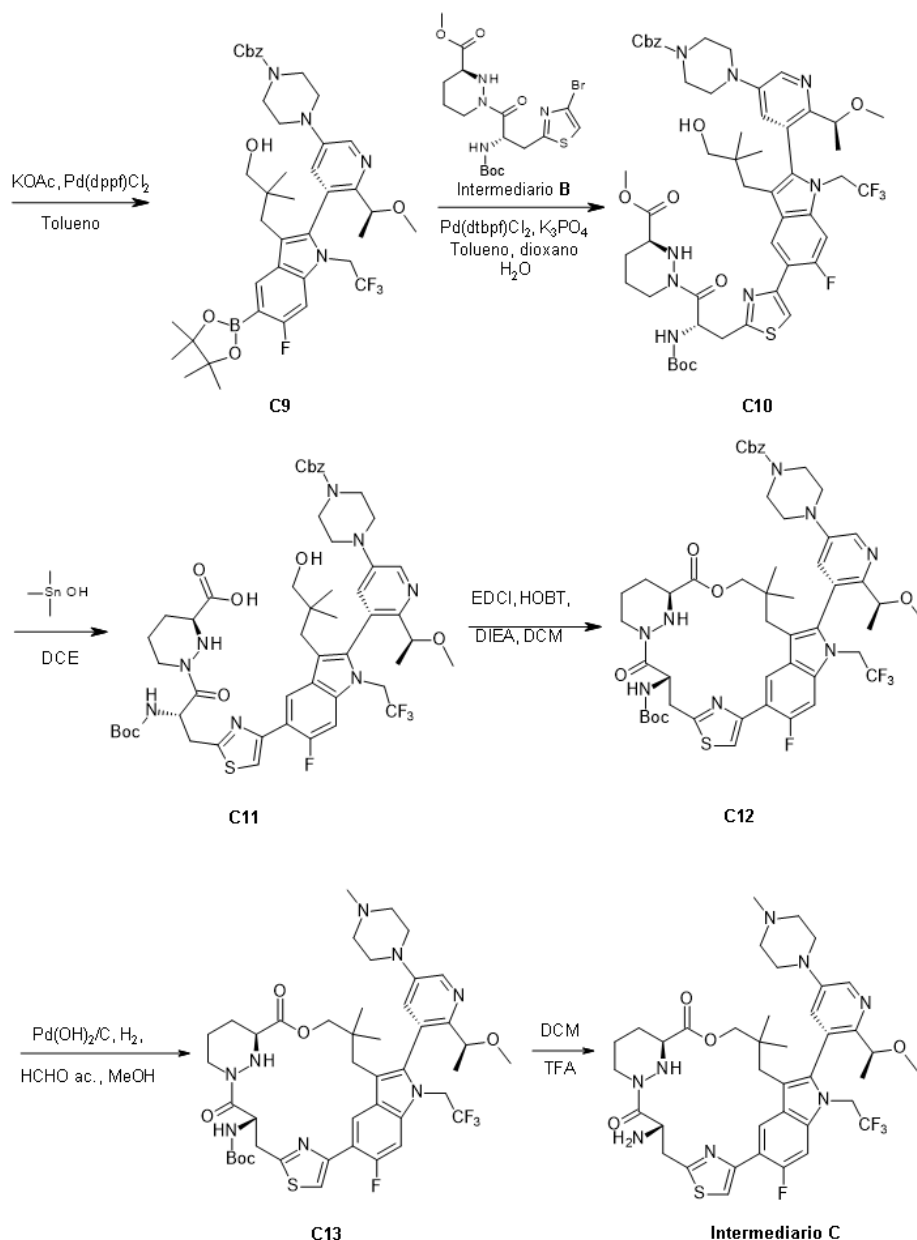
Intermediario C

(7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona



El intermediario **C** del título se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:





Etapas 1: Preparación de 1-(5-bromo-6-fluoro-1*H*-indol-3-il)-3-((*ter*-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropan-1-ona (compuesto **C3**)

A una mezcla de 3-((*ter*-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropanoil cloruro (compuesto **C1**, 35,0 g, 116,8 mmol) en DCM (400 ml) a 0 °C se agregó una solución de SnCl₄ (97,2 ml, 121,5 mmol) lentamente. Después de agitarse a - 40 °C durante 0,5 horas, 5-bromo-6-fluoro-1*H*-indol (compuesto **C2**, 25,0 g, 116,8 mmol) en DCM (200 ml) se agregó por goteo a la mezcla que se agitó a - 40 °C durante 15 min. Una vez que la reacción se completó, se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (800 ml), y la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (900 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (700 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se trituró con la solución (100 ml, éter de petróleo: acetato de etilo = 8:1) y se filtró. La torta

de filtro se secó al vacío para obtener 1-(5-bromo-6-fluoro-1*H*-indol-3-il)-3-((*ter*butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropan-1-ona (compuesto **C3**, 50,0 g) como un sólido amarillo. MS calculada 552,1 (MH⁺), medida 552,1 (MH⁺).

Etap 2: Preparación de [3-(5-bromo-6-fluoro-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **C4)**

A una mezcla de 1-(5-bromo-6-fluoro-1*H*-indol-3-il)-3-((*ter*butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropan-1-ona (compuesto **C3**, 50,0 g, 90,49 mmol) en THF (600 ml) se agregó LiBH₄ (48,4 ml, 193,49 mmol, 4 M en THF) por goteo a 0 °C. La mezcla se agitó a 70 °C durante 24 h en una atmósfera de nitrógeno. Una vez que la reacción se completó, se inactivó mediante adición de agua (600 ml) a 0 °C lentamente, y la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (600 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (600 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de sílice (EtOAc en PE = 20 % ~ 33 %) para obtener [3-(5-bromo-6-fluoro-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **C4**, 46,0 g) como un sólido blanco. MS calculada 538,1 (MH⁺), medida 538,2 (MH⁺).

Etap 3: Preparación de [3-(5-bromo-6-fluoro-2-yodo-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **C5)**

A una mezcla de [3-(5-bromo-6-fluoro-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **C4**, 35,4 g, 65,73 mmol) y yodo (18,4 g, 72,3 mmol) en THF (400 ml) se agregó trifluorometansulfonato de plata (20,3 g, 78,88 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 10 min. Una vez que la reacción se completó, se inactivó mediante Na₂SO₃ acuoso saturado (400 ml) y EtOAc (400 ml), y la mezcla de reacción se filtró. La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de sílice (EtOAc en PE = 0 % ~ 2,5 %) para obtener [3-(5-bromo-6-fluoro-2-yodo-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **C5**, 43,0 g) como un sólido amarillo. MS calculada 664,0 (MH⁺), medida 664,1 (MH⁺).

Etap 4: Preparación de bencil 4-[5-[5-bromo-3-[3-[*ter*-butil(difenil)silil]oxi-2,2-dimetil-propil]-6-fluoro-1*H*-indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C6)**

A una mezcla de [3-(5-bromo-6-fluoro-2-yodo-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **C5**, 16,7 g, 25,13 mmol) y bencil 4-[6-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (intermediario **A**, 16,7 g, 34,69 mmol) en una solución mixta de 1,4-dioxano (270 ml)/tolueno (90 ml) /agua (90 ml) se agregaron fosfato de potasio (15,7 g, 73,92 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (920 mg, 1,26

mmol). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 h en una atmósfera de nitrógeno. Una vez que la reacción se completó, la mezcla se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de sílice (EtOAc en PE = 20 % ~ 50 %) para obtener 4-[5-[5-bromo-3-[3-[*ter*-butil(difenil)silil]oxi-2,2-dimetil-propil]-6-fluoro-1*H*-indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C6**, 19,5 g) como un sólido blanco. MS calculada 891,3 (MH⁺), medida 891,3 (MH⁺).

Etapas 5: Preparación de bencil 4-[(5*M*)-5-[5-bromo-3-[3-[*ter*-butil(difenil)silil]oxi-2,2-dimetil-propil]-6-fluoro-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C7)**

A una solución de 4-[5-[5-bromo-3-[3-[*ter*-butil(difenil)silil]oxi-2,2-dimetil-propil]-6-fluoro-1*H*-indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C6**, 14,5 g, 16,26 mmol) y Cs₂CO₃ (15,9 g, 48,77 mmol) en DMF (200 ml) se agregó 2,2,2-trifluoroetil trifluorometansulfonato (37,7 g, 162,56 mmol) por goteo a 0 °C, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h. Una vez que la reacción se completó, se agregaron EtOAc (70 ml) y agua (100 ml) y las capas se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (70 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml, cuatro veces), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de sílice para obtener bencil 4-[(5*M*)-5-[5-bromo-3-[3-[*ter*-butil(difenil)silil]oxi-2,2-dimetil-propil]-6-fluoro-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C7**, 8,0 g, PICO 1, eluido más rápido) como un aceite amarillo. MS calculada 973,3 (MH⁺), medida 973,2 (MH⁺).

Etapas 6: Preparación de bencil 4-[(5*M*)-5-[5-bromo-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C8)**

A una solución de bencil 4-[(5*M*)-5-[5-bromo-3-[3-[*ter*-butil(difenil)silil]oxi-2,2-dimetil-propil]-6-fluoro-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C7**, 10,5 g, 10,78 mmol) en DMF (130 ml) se agregó fluoruro de cesio (8,2 g, 53,9 mmol) y la mezcla se agitó a 60 °C durante 24 h. Una vez que la reacción se completó, se agregaron EtOAc (100 ml) y agua (100 ml) y las capas se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (100 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (80 ml, tres veces), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de sílice (EtOAc en PE = 25 % ~ 66 %) para obtener bencil 4-[(5*M*)-5-[5-bromo-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C8**, 6,5 g) como un sólido amarillo.

MS calculada 735,2 (MH⁺), medida 735,1 (MH⁺).

Etapas 7: Preparación de bencil 4-[(5*M*)-5-[6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C9)**

A una solución de bencil 4-[(5*M*)-5-[5-bromo-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C8**, 5,4 g), bis(pinacolato)diboro (2,8 g, 11,01 mmol) y acetato de potasio (1,2 ml, 18,35 mmol) en tolueno (70 ml) se agregó Pd(dppf)Cl₂ (537,1 mg, 0,73 mmol). La mezcla se desgasificó y se purgó con atmósfera de nitrógeno tres veces, y la mezcla se agitó a 90 °C durante 12 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de sílice (EtOAc en PE = 25 % ~ 66 %) para obtener bencil 4-[(5*M*)-5-[6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C9**, 5,2 g) como un aceite amarillo. MS calculada 783,3 (MH⁺), medida 783,3 (MH⁺).

Etapas 8: Preparación de metil (3*S*)-1-[(2*S*)-3-[4-[(2*M*)-2-[5-(4-benciloxicarbonilpiperazin-1-il)-2-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (compuesto **C10)**

A una mezcla de metil (3*S*)-1-[(2*S*)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (intermediario **B**, 2,7 g, 5,69 mmol), bencil 4-[(5*M*)-5-[6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-2-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C9**, 4,9 g, 6,32 mmol) en tolueno (60 ml)/1,4-dioxano (20 ml) / agua (20 ml) se agregaron K₃PO₄ (3,4 g, 15,81 mmol) y Pd(dtbpf)Cl₂ (412,2 mg, 0,63 mmol) en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante columna de sílice (EtOAc en PE = 10 % ~ 75 %) para obtener metil (3*S*)-1-[(2*S*)-3-[4-[(2*M*)-2-[5-(4-benciloxicarbonilpiperazin-1-il)-2-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (compuesto **C10**, 3,6 g) como un sólido marrón. MS calculada 1053,4 (MH⁺), medida 1053,3 (MH⁺).

Etapa 9: Preparación de ácido (3S)-1-[(2S)-3-[4-[(2M)-2-[5-(4-benciloxicarbonilpiperazin-1-il)-2-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]-2-(ter-butoxicarbonilamino)propanoil]hexahi-dropiridazin-3-carboxílico (compuesto C11)

A una solución de metil (3S)-1-[(2S)-3-[4-[(2M)-2-[5-(4-benciloxicarbonilpiperazin-1-il)-2-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]-2-(ter-butoxicarbonilamino)-propanoil]-hexahidropiridazin-3-carboxilato (compuesto **C10**, 3,6 g, 3,42 mmol) en DCE (50 ml) se agregó trimetilestananol (2,4 g, 13,67 mmol) y la mezcla se agitó a 60 °C durante 12 h. Una vez que la reacción se completó, se agregaron EtOAc (80 ml) y agua (60 ml) y las capas se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (80 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener ácido (3S)-1-[(2S)-3-[4-[(2M)-2-[5-(4-benciloxicarbonilpiperazin-1-il)-2-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]-2-(ter-butoxicarbonilamino)propanoil]hexahi-dropiridazin-3-carboxílico (compuesto **C11**, 4,3 g) como un sólido marrón. MS calculada 1039,4 (MH⁺), medida 1039,2 (MH⁺).

Etapa 10: Preparación de bencil 4-[5-[(7S,13S)-7-(ter-butoxicarbonilamino)-24-fluoro-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-(20M)-20-il]-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto C12)

A una mezcla de ácido (3S)-1-[(2S)-3-[4-[(2M)-2-[5-(4-benciloxicarbonilpiperazin-1-il)-2-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]-2-(ter-butoxicarbonilamino)propanoil]hexahi-dropiridazin-3-carboxílico (compuesto **C11**, 4,3 g, 4,14 mmol) en DCM (430 ml) se agregó DIEA (14,4 ml, 82,76 mmol), EDCI (11,9 g, 62,07 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (1,4 g, 10,35 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 15 °C durante 12 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla se concentró al vacío, luego se diluyó con agua (80 ml), se extrajo con EtOAc (80 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (80 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de sílice (EtOAc en PE = 25 % ~ 66 %) para obtener bencil 4-[5-[(7S,13S)-7-(ter-butoxicarbonilamino)-24-fluoro-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-(20M)-20-il]-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C12**, 3,1 g) como una goma amarilla. MS calculada 1021,4 (MH⁺), medida 1021,2 (MH⁺).

Etapa 11: Preparación de *ter*-butil *N*-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamato (compuesto **C13)**

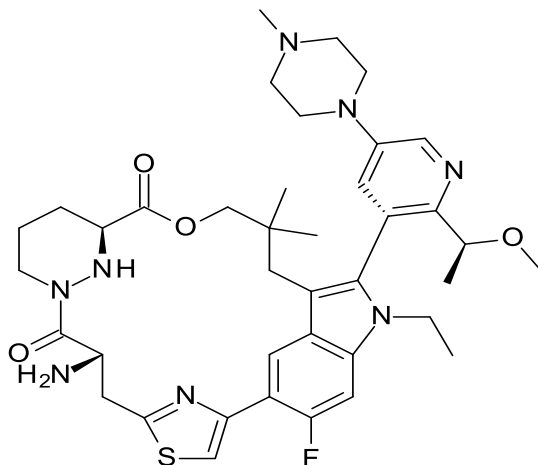
A una mezcla de bencil 4-[5-[(7*S*,13*S*)-7-(*ter*-butoxicarbonilamino)-24-fluoro-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-(20*M*)-20-il]-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]piperazin-1-carboxilato (compuesto **C12**, 3,1 g, 3,04 mmol) y formaldehído acuoso (775,0 mg, 9,55 mmol) en metanol (150 ml) se agregó Pd(OH)₂ sobre carbón activado (2,79 g, 3,97 mmol). La mezcla se desgasificó y se purgó con H₂ tres veces. La mezcla se hidrogenó a 30 °C durante 18 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener *ter*-butil *N*-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamato (compuesto **C13**, 2,6 g) como un sólido marrón. MS calculada 901,3 (MH⁺), medida 901,3 (MH⁺).

Etapa 12: Preparación de (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C)**

A una mezcla de *ter*-butil *N*-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamato (compuesto **C13**, 2,6 g, 2,89 mmol) en DCM (18 ml) se agregó TFA (14,0 ml, 181,72 mmol). La mezcla se agitó a 15 °C durante 0,5 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla se concentró al vacío y se diluyó con NaHCO₃ saturado (30 ml), se extrajo con EtOAc (30 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**, 2,0 g) como un sólido amarillo, que se usó directamente en la siguiente etapa. MS calculada 801,3 (MH⁺), medida 801,2 (MH⁺)

Intermediario D

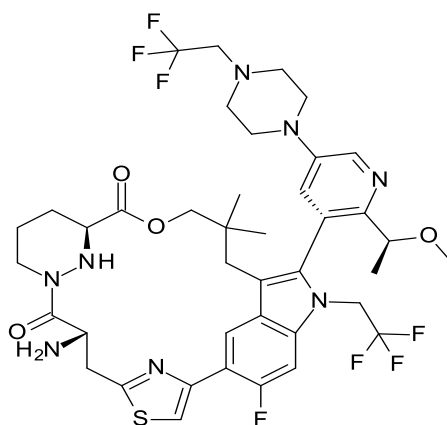
(7S,13S)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]] octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona



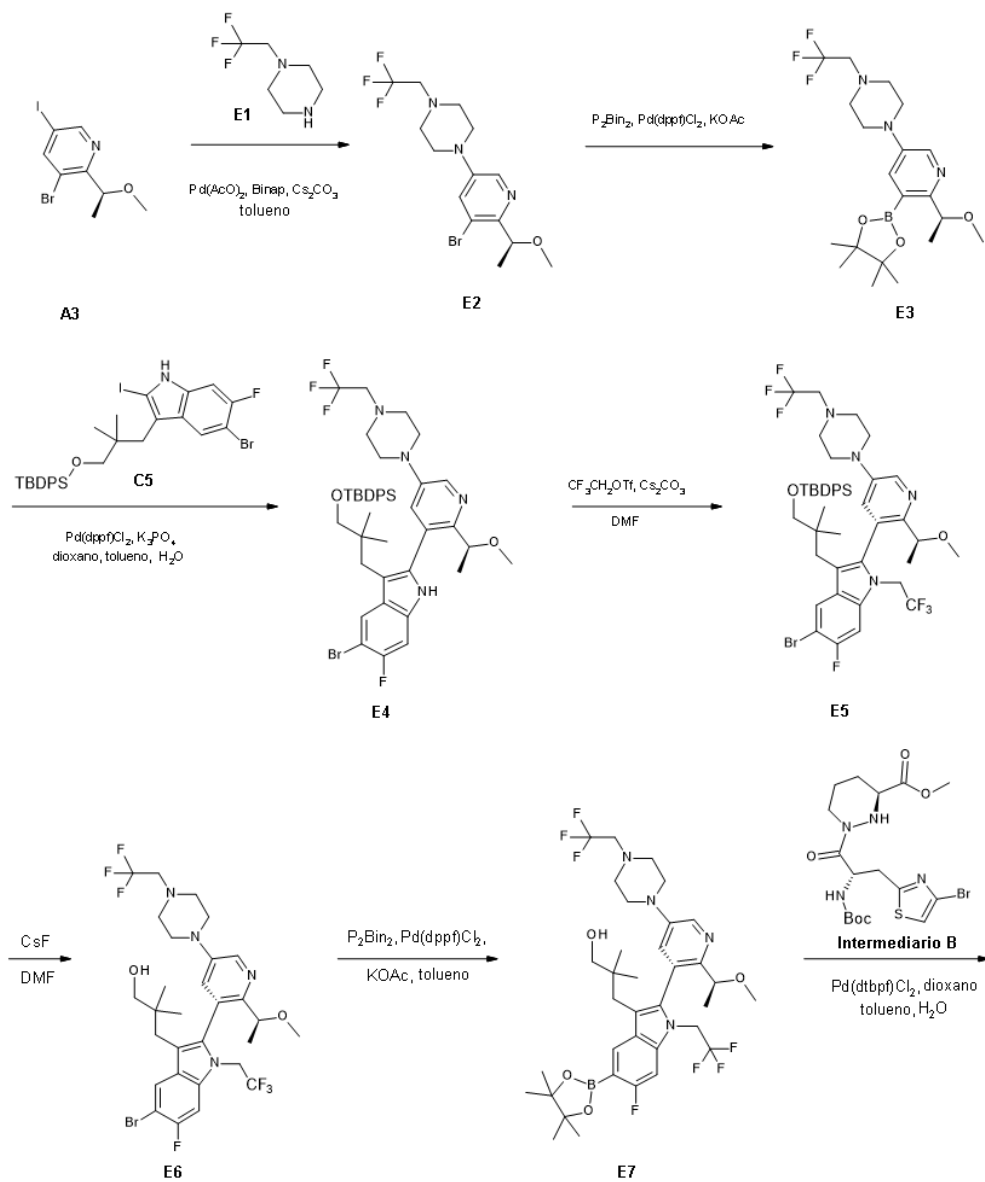
El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del intermediario **C** usando yodoetano en lugar de 2,2,2-trifluoroetil trifluorometansulfonato.

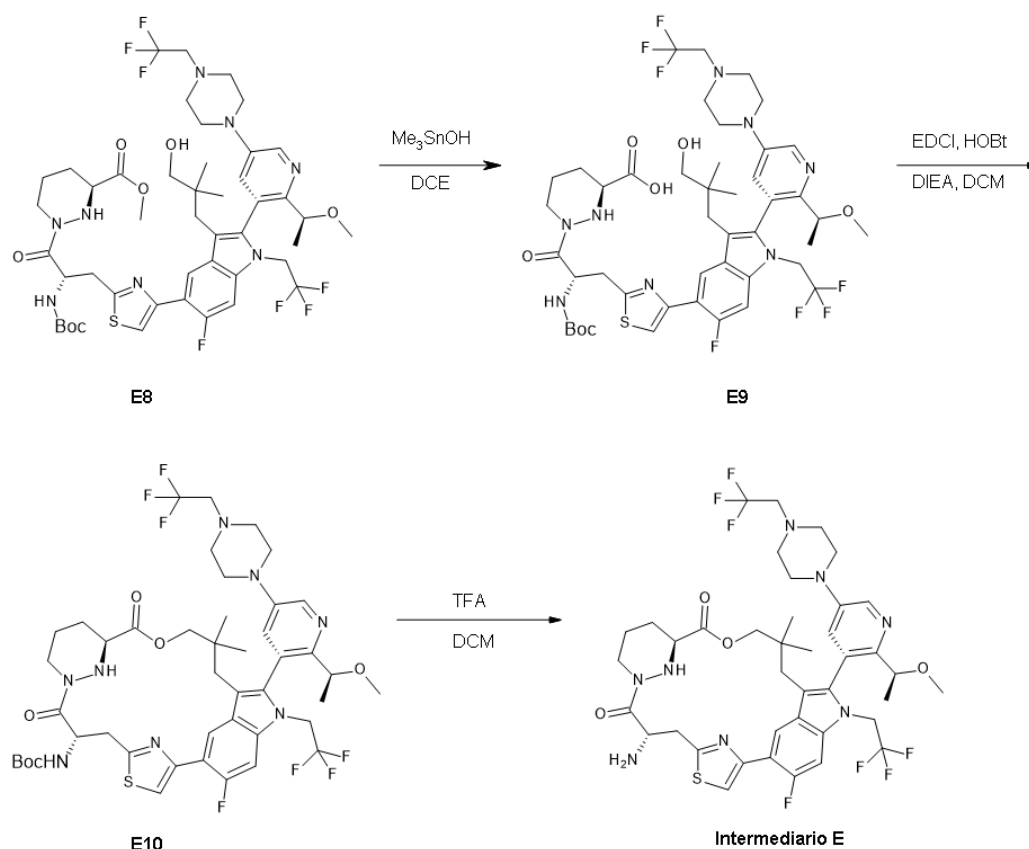
Intermediario E

(7S,13S)-7-amino-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona



El compuesto se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:





Etapla 1: Preparación de 1-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]-4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazina (compuesto E2).

A una mezcla de 3-bromo-5-yodo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (compuesto **A3**, 2,03 g, 5,95 mmol) y 1-(2,2,2-trifluoroetil)piperazina (compuesto **E1**, 1,0 g, 5,95 mmol) en tolueno (15 ml) se agregaron Cs_2CO_3 (4,85 g, 14,88 mmol), (*R*)-binap (92,6 mg, 0,15 mmol) y $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (66,8 mg, 0,3 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó y se purgó con nitrógeno 3 veces, y la mezcla se agitó a 100 °C durante 12 h en una atmósfera de nitrógeno. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener 1-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]-4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazina (compuesto **E2**, 2,0 g) como un aceite amarillo. MS calculada 382,2 (MH^+), medida 382,1 (MH^+)

Etapla 2: 1-[6-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]-4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazina (compuesto E3).

A una solución de 1-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]-4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazina (compuesto **E2**, 3,2 g, 8,37 mmol), bis(pinacolato)diboro (3,19 g, 12,56 mmol) y KOAc (2,1 g, 20,93 mmol) en tolueno (50 ml) se agregó $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (306,3 mg, 0,42 mmol). La mezcla se desgasificó y se purgó con nitrógeno 3 veces, y la mezcla se agitó a 90 °C

durante 12 h en una atmósfera de nitrógeno. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró, el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo, que se purificó mediante columna de fase inversa para obtener 1-[6-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]-4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazina (compuesto **E3**, 1,9 g) como una goma amarilla. MS calculada 430,2 (MH⁺), medida 348,4 (M-C₆H₁₀+H⁺).

Etap 3: Preparación de [3-[5-bromo-6-fluoro-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1*H*-indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **E4).**

A una solución de 1-[6-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]-4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazina (compuesto **E3**, 1,9 g, 4,41 mmol), [3-(5-bromo-6-fluoro-2-yodo-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **C5**, 2,1 g, 3,15 mmol) en 1,4-dioxano (24 ml), agua (8 ml) y tolueno (8 ml) se agregó K₃PO₄ (2,1 g, 9,5 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (231 mg, 0,37 mmol). La mezcla se desgasificó mediante burbujeo de nitrógeno durante 2 min, y la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 12 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró. El filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE : 30 % - 60 %) para obtener [3-[5-bromo-6-fluoro-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1*H*-indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **E4**, 960,0 mg) como una goma amarilla. MS calculada 839,3 (MH⁺), medida 839,3 (MH⁺).

Etap 4: Preparación de [3-[5-bromo-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **E5).**

A una solución de [3-[5-bromo-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1*H*-indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **E4**, 1 g, 1,14 mmol) en DMF (35 ml) se agregó Cs₂CO₃ (1,1 g, 3,44 mmol) y 2,2,2-trifluoroetil trifluorometansulfonato (2,7 g, 11,63 mmol) a 0 °C. Después de agitarse a 20 °C durante 15 h, la mezcla de reacción se vertió en agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml, tres veces). La orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml, tres veces), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo que se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE: 30 % - 40 %) para obtener [3-[5-bromo-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **E5**, 640,0 mg, eluido más rápido) como un sólido blanco. MS calculada 921,3 (MH⁺), medida 921,4 (MH⁺).

Etapla 5: Preparación de 3-[5-bromo-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto E6).

A una solución de [3-[5-bromo-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-*ter*-butil-difenil-silano (compuesto **E5**, 640,0 mg, 0,69 mmol) en DMF (7 ml) se agregó fluoruro de cesio (421,8 mg, 2,78 mmol). La mezcla se agitó a 60 °C durante 16 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE : 30 % - 60 %) para obtener 3-[5-bromo-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto **E6**, 360,0 mg) como un aceite amarillo. MS calculada 683,2 (MH⁺), medida 683,1 (MH⁺).

Etapla 6: Preparación de 3-[5-bromo-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto E7).

A una solución de 3-[5-bromo-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto **E6**, 360,0 mg, 0,53 mmol), bis(pinacolato)diboro (200,6 mg, 0,79 mmol) en tolueno (6 ml) se agregó acetato de potasio (0,08 ml, 1,32 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (40 mg, 0,1 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó mediante burbujeo de nitrógeno durante 5 min, luego se agitó a 80 °C durante 15 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE : 30 % - 50 %) para obtener 3-[5-bromo-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto **E7**, 300,0 mg) como una goma amarilla. MS calculada 731,4 (MH⁺), medida 731,4 (MH⁺).

Etapla 7: Preparación de metil (3*S*)-1-[(2*S*)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-3-[4-[6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (compuesto E8).

A una mezcla de 3-[5-bromo-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto **E7**, 0,3 g, 0,41 mmol) y metil (3*S*)-1-[(2*S*)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (intermediario **B**, 196,7 mg,

0,41 mmol) en tolueno (3 ml), 1,4-dioxano (1 ml) y agua (1 ml) se agregaron K_3PO_4 (221,3 mg, 1,04 mmol) y $Pd(dtbpf)Cl_2$ (27,05 mg, 0,04 mmol). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 h en una atmósfera de nitrógeno. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE : 60 % - 80 %) para obtener metil (3S)-1-[(2S)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-3-[4-[6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (compuesto **E8**, 200,0 mg) como una goma amarilla. MS calculada 1001,4 (MH^+), medida 1001,4 (MH^+).

Etapas 8: Preparación de ácido (3S)-1-[(2S)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-3-[4-[6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxílico (compuesto **E9).**

A una mezcla de metil (3S)-1-[(2S)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-3-[4-[6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (compuesto **E8**, 200,0 mg, 0,2 mmol) en DCE (5 ml) se agregó Me_3SnOH (200,0 mg, 1,11 mmol). La mezcla se agitó a 60 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener un residuo. Se agregaron EtOAc (10 ml) y agua (10 ml) al residuo y las capas se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (15 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml), se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío para obtener ácido (3S)-1-[(2S)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-3-[4-[6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxílico (compuesto **E9**, 188,0 mg) como un sólido marrón. MS calculada 987,4 (MH^+), medida 987,4 (MH^+).

Etapas 9: Preparación de *ter*-butil *N*-[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamato (compuesto **E10).**

A una mezcla de ácido (3S)-1-[(2S)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-3-[4-[6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxílico (compuesto **E9**, 188,0 mg, 0,19 mmol) en DCM (20 ml) se agregaron DIEA (0,7 ml, 3,81

mmol), EDCI (550,0 mg, 2,87 mmol) y HOBt (65,0 mg, 0,48 mmol) a 0 °C. Después de agitarse a 20 °C durante 12 h, la mezcla de reacción se vertió en agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo que se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE : 50 % - 70 %) para obtener *ter*-butil

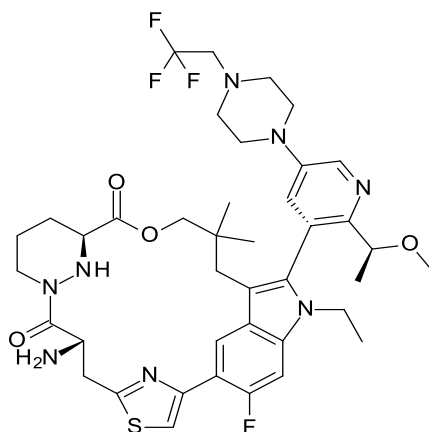
N-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamato (compuesto **E10**, 110,0 mg) como un sólido amarillo. MS calculada 969,4 (MH⁺), medida 969,5 (MH⁺).

Etapla 10: Preparación de (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario E).

A una solución de *ter*-butil *N*-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamato (compuesto **E10**, 110,0 mg, 0,11 mmol) en DCM (1 ml) se agregó TFA (1,0 ml, 12,98 mmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener un residuo. Se agregó NaHCO₃ acuoso (20 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (15 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml), se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para obtener (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **E**, 98,0 mg) como un sólido amarillo. MS calculada 869,4 (MH⁺), medida 869,2 (MH⁺).

Intermediario F

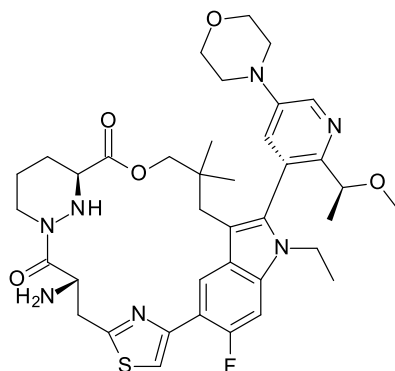
(7*S*,13*S*)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona



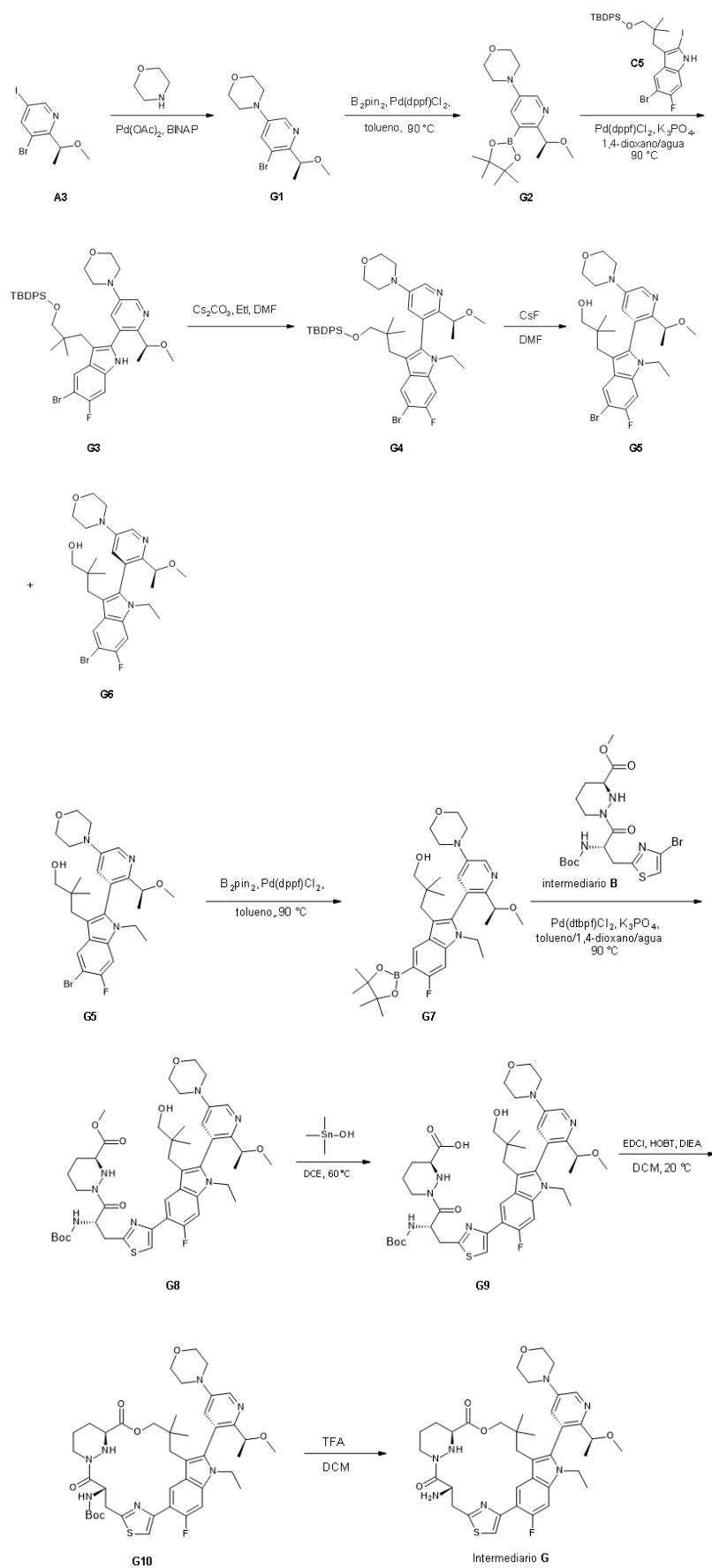
El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del intermediario **E** usando yodoetano en lugar de 2,2,2-trifluoroetil trifluorometansulfonato.

Intermediario G

(7S,13S)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo-[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona



El compuesto se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Etapas 1: Preparación de 4-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]morfolina (compuesto G1)

A una mezcla de 3-bromo-5-yodo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (compuesto **A3**, 30 g, 87,73 mmol) y morfolina (7,6 g, 87,73 mmol) en tolueno (450 ml) se agregaron Cs_2CO_3 (57,2 g, 175,45 mmol), (*R*)-binap (2,7 g, 4,39 mmol) y $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,98 g, 4,39 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó y se purgó con nitrógeno 3 veces, y la mezcla se agitó a 90 °C durante 12 h en una atmósfera de nitrógeno. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener 4-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]morfolina (compuesto **G1**, 21 g) como un aceite amarillo. MS calculada 301,1 (MH^+), medida 301,1 (MH^+).

Etapas 2: Preparación de 4-[6-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]morfolina (compuesto G2)

A una solución de 4-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]morfolina (compuesto **G1**, 21 g, 63,3 mmol), bis(pinacolato)diboro (24,0 g, 94,63 mmol) y KOAc (13,6 g, 138,79 mmol) en tolueno (500 ml) se agregó $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (4,4 g, 6,31 mmol). La mezcla se desgasificó y se purgó con nitrógeno 3 veces, y la mezcla se agitó a 90 °C durante 12 h en una atmósfera de nitrógeno. Después de enfriarse hasta la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró, el filtrado se concentró al vacío para obtener el producto crudo 4-[6-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]morfolina (compuesto **G2**, 45 g) como una goma amarilla, que se usó en la siguiente etapa. MS calculada 349,2 (MH^+), medida 349,2 (MH^+).

Etapas 3: Preparación de [3-[5-bromo-6-fluoro-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-1H-indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-ter-butil-difenil-silano (compuesto G3)

A una solución de 4-[6-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]morfolina (compuesto **G2**, 40,6 g, 46,65 mmol), [3-(5-bromo-6-fluoro-2-yodo-1H-indol-3-il)-2,2-dimetil-propoxi]-ter-butil-difenil-silano (compuesto **C5**, 31 g, 46,65 mmol) en 1,4-dioxano (420 ml) y agua (80 ml) se agregó K_3PO_4 (29,7 g, 2,33 mmol) y $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (1,7 g, 0,29 mmol). La mezcla se desgasificó mediante burbujeo de nitrógeno durante 2 min, y la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 18 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se extrajo con EA (200 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 ml), se secó en Na_2SO_4 , se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener [3-[5-bromo-6-fluoro-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-1H-indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-ter-butil-difenil-silano (compuesto **G3**, 17,2 g) como un aceite amarillo. MS calculada 758,3 (MH^+), medida 758,3 (MH^+).

Etapa 4: Preparación de [3-[5-bromo-1-etil-6-fluoro-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-ter-butil-difenil-silano (compuesto G4)

A una solución de [3-[5-bromo-6-fluoro-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-1H-indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-ter-butil-difenil-silano (compuesto **G3**, 15 g, 19,77 mmol) en DMF (300 ml) se agregó Cs_2CO_3 (19,3 g, 59,3 mmol) y yodoetano (6,16 g, 39,53 mmol) a 0 °C. Después de agitarse a 20 °C durante 16 h, la mezcla de reacción se vertió en agua (200 ml) y se extrajo con EtOAc (200 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml, tres veces), se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener [3-[5-bromo-1-etil-6-fluoro-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-ter-butil-difenil-silano (compuesto **G4**, 14,7 g) como un aceite amarillo. MS calculada 786,3 (MH^+), medida 786,4 (MH^+).

Etapa 5: Preparación de 3-[5-bromo-1-etil-6-fluoro-(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto G5) y 3-[5-bromo-1-etil-6-fluoro-(2P)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto G6)

A una solución de [3-[5-bromo-1-etil-6-fluoro-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-3-il]-2,2-dimetil-propoxi]-ter-butil-difenil-silano (compuesto **G4**, 14,7 g, 18,68 mmol) en DMF (160 ml) se agregó fluoruro de cesio (14,2 g, 93,41 mmol). La mezcla se agitó a 60 °C durante 48 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, a la mezcla de reacción se agregaron EtOAc (300 ml) y agua (300 ml), y las capas se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (200 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 ml, cuatro veces), se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener 3-[5-bromo-1-etil-6-fluoro-(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto **G5**, 6 g, eluido más rápido) como una espuma incolora y 3-[5-bromo-1-etil-6-fluoro-(2P)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto **G6**, 4,5 g, eluido más lento) como una espuma incolora. Compuesto **G5**: MS calculada 548,2 (MH^+), medida 548,2 (MH^+). ^1H RMN (400MHz, Metanol- d_4) δ = 8,41 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,92 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,37 - 7,33 (m, 2H), 4,58 (s, 1H), 4,05 - 3,98 (m, 2H), 3,87-3,82 (m, 5H), 3,27 - 3,23 (m, 4H), 3,15 - 3,13 (m, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,75-2,71 (m, 1H), 2,24 - 2,22 (m, 1H), 1,42 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,22 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,76 (s, 3H), 0,76 (s, 3H).

Análisis cristalográfico de rayos X del compuesto G5

La estructura de configuración absoluta del compuesto **G5** se confirmó mediante análisis cristalográfico de rayos X de su único cristal. (figura 1).

Etapas 6: Preparación de 3-[1-etil-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto G7)

A una solución de 3-[5-bromo-1-etil-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto **G5**, 6 g, 10,94 mmol), bis(pinacolato)diboro (4,2 g, 16,41 mmol) en tolueno (60 ml) se agregó acetato de potasio (2,7 g, 27,35 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (0,8 g, 1,09 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó mediante burbujeo de nitrógeno durante 5 min, luego se agitó a 90 °C durante 15 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener 3-[1-etil-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto **G7**, 4,5 g) como una goma incolora. MS calculada 596,4 (MH⁺), medida 596,4 (MH⁺).

Etapas 7: Preparación de metil (3*S*)-1-[(2*S*)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-3-[4-[1-etil-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (compuesto G8)

A una mezcla de 3-[1-etil-6-fluoro-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)indol-3-il]-2,2-dimetil-propan-1-ol (compuesto **G7**, 4,5 g, 7,56 mmol) y metil (3*S*)-1-[(2*S*)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (intermediario **B**, 3,6 g, 7,56 mmol) en tolueno (45 ml), 1,4-dioxano (15 ml) y agua (15 ml) se agregaron K₃PO₄ (4,0 g, 18,89 mmol) y Pd(dtbpf)Cl₂ (492,5 mg, 0,75 mmol). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 h en una atmósfera de nitrógeno. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener metil (3*S*)-1-[(2*S*)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-3-[4-[1-etil-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (compuesto **G8**, 3,8 g) como una goma incolora. MS calculada 866,4 (MH⁺), medida 866,4 (MH⁺).

Etapas 8: Preparación de ácido (3*S*)-1-[(2*S*)-2-(*ter*-butoxicarbonilamino)-3-[4-[1-etil-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2*M*)-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-

piridil]indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxílico (compuesto G9)

A una mezcla de metil (3S)-1-[(2S)-2-(ter-butoxicarbonilamino)-3-[4-[1-etil-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxilato (compuesto **G8**, 3,8 g, 4,39 mmol) en DCE (76 ml) se agregó Me₃SnOH (3,2 g, 17,55 mmol). La mezcla se agitó a 60 °C durante 48 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener un residuo. Se agregaron EtOAc (200 ml) y agua (100 ml) al residuo y las capas se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (150 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener ácido (3S)-1-[(2S)-2-(ter-butoxicarbonilamino)-3-[4-[1-etil-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxílico (compuesto **G9**, 3,7 g) como un sólido marrón. MS calculada 852,4 (MH⁺), medida 852,4 (MH⁺).

Etapas 9: Preparación de *ter*-butil N-[(7S,13S)-21-etil-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamato (compuesto G10)

A una mezcla de ácido (3S)-1-[(2S)-2-(ter-butoxicarbonilamino)-3-[4-[1-etil-6-fluoro-3-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]indol-5-il]tiazol-2-il]propanoil]hexahidropiridazin-3-carboxílico (compuesto **G9**, 2,5 g, 2,93 mmol) en DCM (250 ml) se agregaron DIEA (7,58 ml, 58,68 mmol), EDCI (8,4 g, 44,01 mmol) y HOBt (991,2 mg, 0,91 mmol) a 0 °C. Después de agitarse a 20 °C durante 12 h, la mezcla de reacción se vertió en agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc (100 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo que se purificó mediante cromatografía en columna para obtener *ter*-butil N-[(7S,13S)-21-etil-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamato (compuesto **G10**, 1,2 g) como un aceite amarillo. MS calculada 834,4 (MH⁺), medida 834,4 (MH⁺).

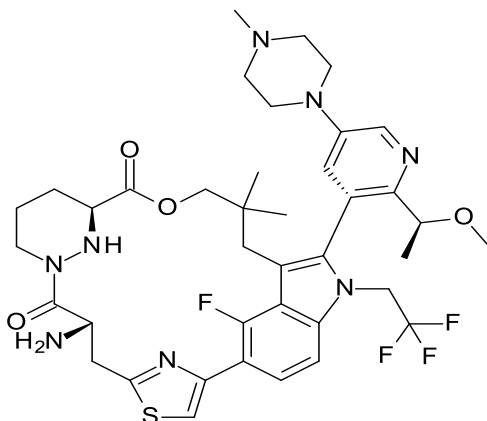
Etapas 10: Preparación de (7S,13S)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario G)

A una solución de *ter*-butil N-[(7S,13S)-21-etil-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-

morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamato (compuesto **G10**, 1,2 g, 1,44 mmol) en DCM (12 ml) se agregó TFA (6,0 ml). La mezcla se agitó a 20 °C durante 3 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener un residuo. Se agregó NaHCO₃ acuoso (60 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (80 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para obtener (7S,13S)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **G**, 1 g) como un sólido amarillo. MS calculada 734,3 (MH⁺), medida 734,3 (MH⁺).

Intermediario H

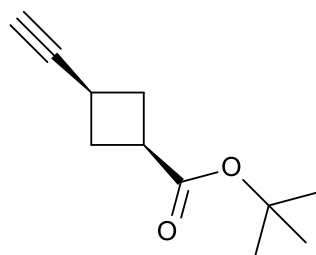
(7S,13S)-7-amino-25-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona



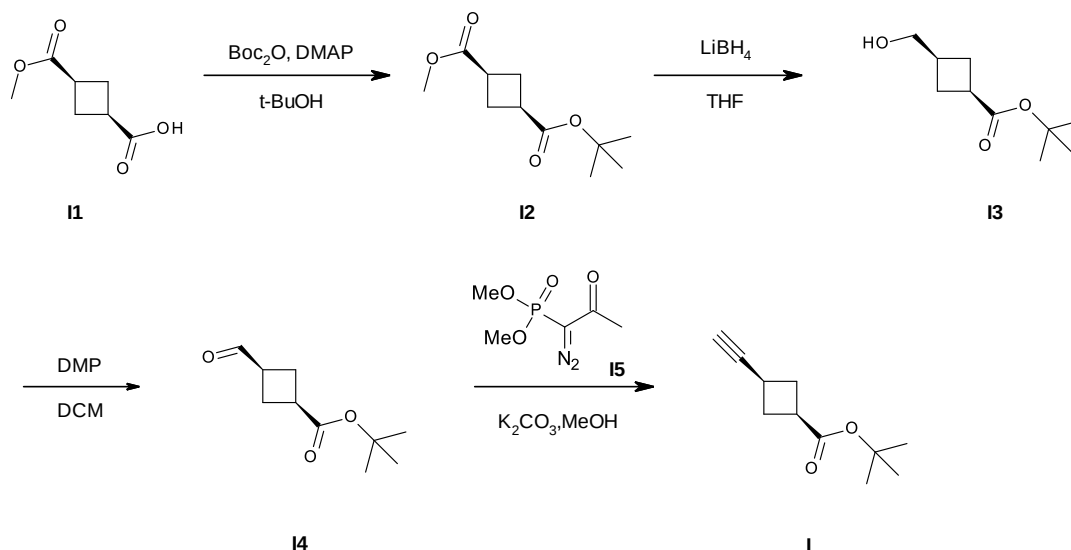
El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del intermediario **C** usando 5-bromo-4-fluoro-1*H*-indol en lugar de 5-bromo-6-fluoro-1*H*-indol (compuesto **C2**).

Intermediario I

cis-ter-butil 3-etinilciclobutancarboxilato



El compuesto se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Etap 1: Preparación de *cis*-O₁-ter-butil O₃-metil ciclobutan-1,3-dicarboxilato (compuesto I2)

A una mezcla de ácido *cis*-3-metoxycarbonilciclobutancarboxílico (**compuesto I1**, 25,0 g, 158,08 mmol) y DMAP (38,6 g, 316,16 mmol) en *ter*-butanol (450 ml) se agregó por goteo Boc₂O (37,9 g, 173,89 mmol) en *ter*-butanol (50 ml). Después de agitarse a 25 °C durante 0,5 h, la mezcla de reacción se diluyó con agua (150 ml), se extrajo con EtOAc (150 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (300 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó mediante columna de sílice (EtOAc en PE=5 %~10 %) para obtener *cis*-O₁-ter-butil O₃-metil ciclobutan-1,3-dicarboxilato (**compuesto I2**, 29,0 g) como un líquido incoloro. MS calculada 215,1 (MH⁺), medida 215,1 (MH⁺).

Etap 2: Preparación de *cis*-ter-butil 3-(hidroximetil)-ciclobutancarboxilato (compuesto I3)

A una mezcla de *cis*-O₁-ter-butil O₃-metil ciclobutan-1,3-dicarboxilato (**compuesto I2**, 29,0 g, 140,02 mmol) en THF (290 ml) se agregó borohidruro de litio (9,2 g, 420,05 mmol) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de agitarse a 25 °C durante 2 h, a la mezcla de reacción se agregaron EtOAc (800 ml) y agua (200 ml) y las capas se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (300 ml, tres veces). La capa orgánica

combinada se lavó con salmuera (500 ml), se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante columna de sílice (EtOAc en PE=10 %~30 %) para obtener *cis-ter*-butil 3-(hidroximetil)-ciclobutancarboxilato (compuesto **I3**, 19 g) como un líquido incoloro. MS calculada 186,1 (MH^+), medida 186,1 (MH^+).

Etapas 3: Preparación de *cis-ter*-butil 3-formilciclobutancarboxilato (compuesto **I4)**

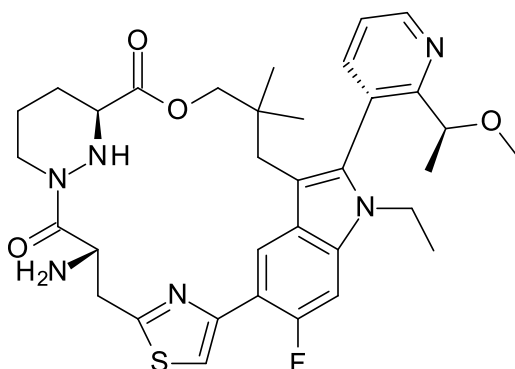
A una mezcla de *cis-ter*-butil 3-(hidroximetil)-ciclobutancarboxilato (compuesto **I3**, 19,0 g, 102,01 mmol) en DCM (230 ml) se agregó DMAP (51,9 g, 122,42 mmol) a 0 °C. Después de agitarse a 25 °C durante 1 h, la mezcla de reacción se filtró. El filtrado se concentró al vacío y se purificó mediante columna de sílice (EtOAc en PE=5 %~20 %) para obtener *cis-ter*-butil 3-formilciclobutancarboxilato (compuesto **I4**, 15,0 g) como un aceite incoloro. MS calculada 184,1 (MH^+), medida 184,1 (MH^+).

Etapas 4: Preparación de *cis-ter*-butil 3-etinilciclobutancarboxilato (intermediario **I)**

A una mezcla de *cis-ter*-butil 3-formilciclobutancarboxilato (compuesto **I4**, 15,0 g, 81,42 mmol) y carbonato de potasio (22,5 g, 162,84 mmol) en metanol (200 ml) se agregó dimetil (1-diazo-2-oxopropil)-fosfonato (compuesto **I5**, 23,5 g, 122,13 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para eliminar el solvente y se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en gel de sílice para obtener *cis-ter*-butil 3-etinilciclobutancarboxilato (intermediario **I**, 7 g) como un aceite incoloro. MS calculada 180,1 (MH^+), medida 180,1 (MH^+).

Intermediario J

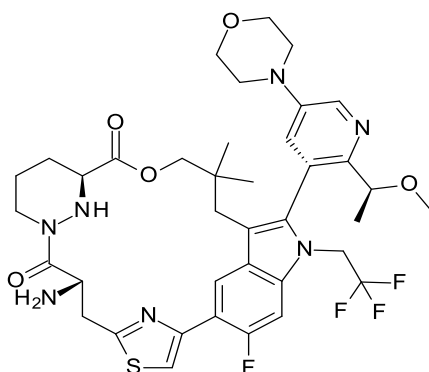
(7S,13S)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona



El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del intermediario **G** usando 3-bromo-2-[(1*S*)-1-metoxietil]piridina (compuesto **A1**) en lugar de 4-[5-bromo-6-[(1*S*)-1-metoxietil]-3-piridil]morfolina (compuesto **G1**).

Intermediario K

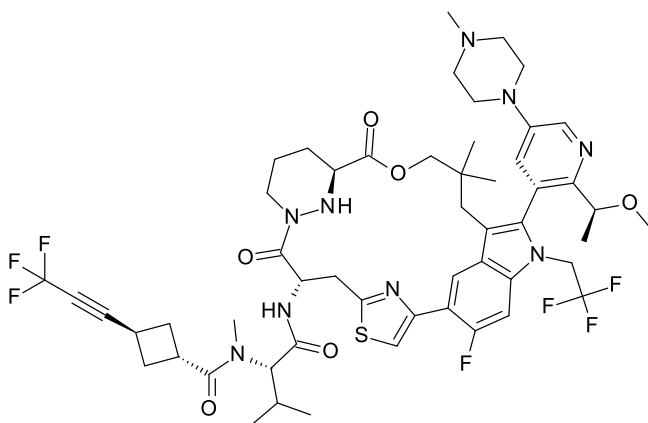
(7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona



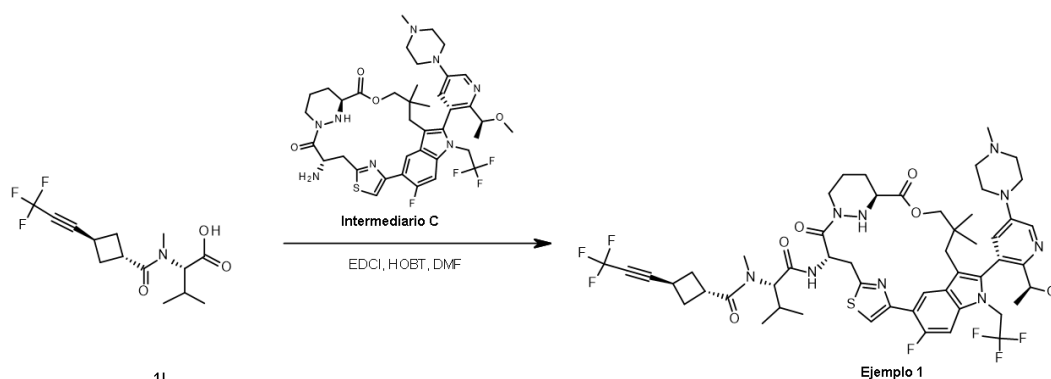
El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del intermediario **G** usando 2,2,2-trifluoroetil trifluorometansulfonato en lugar de yodoetano.

Ejemplo 1

***trans*-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida**



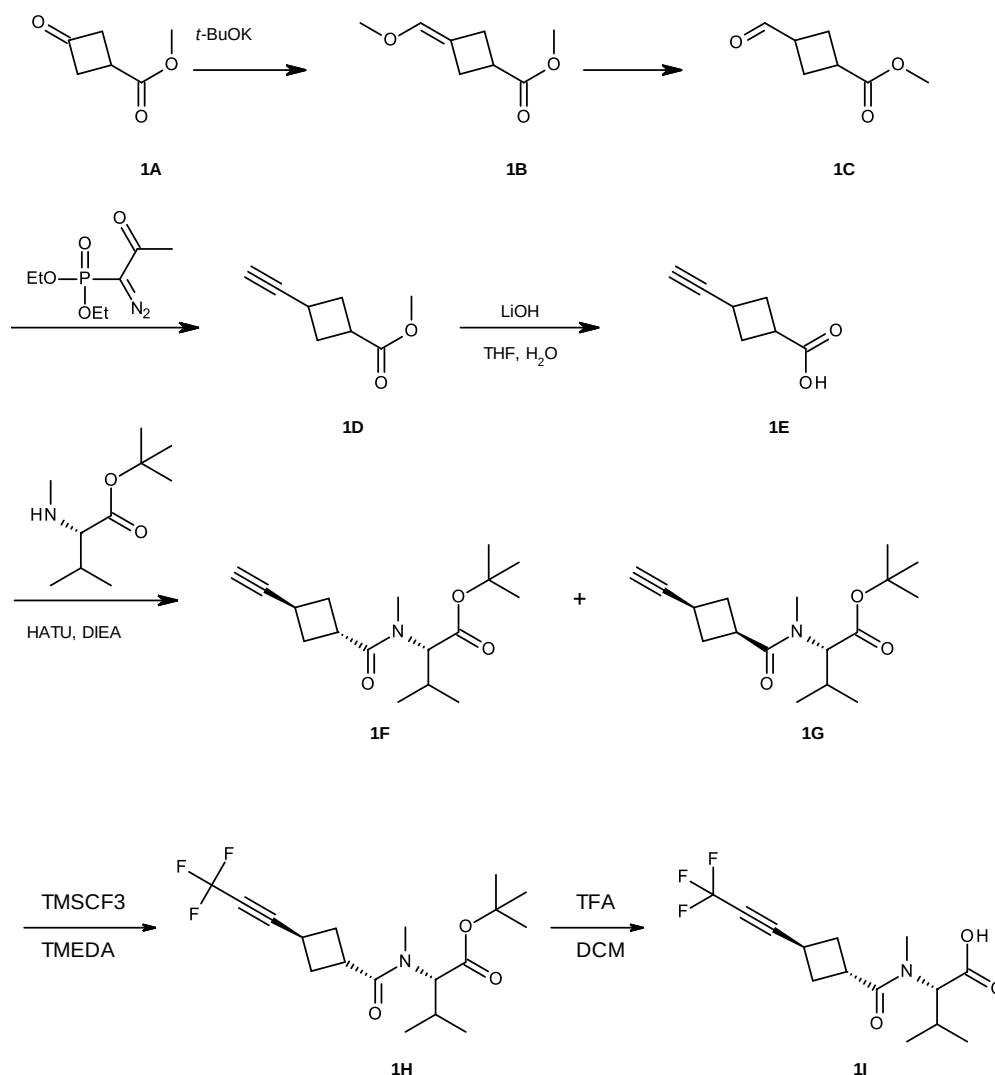
El compuesto se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Etapas 1: Preparación de *trans*-*N*-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacos-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida

A una solución de ácido *trans*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamido]amino]butanoico (compuesto **11**, 70,0 mg, 0,23 mmol), (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacos-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**, 100,0 mg, 0,12 mmol), EDCI (50,0 mg, 0,26 mmol) y DIEA (0,1 ml, 0,62 mmol) en DMF (2 ml) se agregó HOBT (34,0 mg, 0,25 mmol) a 0 °C. Después de agitarse a 16 °C durante 1 h, la mezcla de reacción se vertió en agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo resultante se purificó mediante HPLC preparativa para obtener *N*-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacos-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida (ejemplo **1**, 34,8 mg) como un sólido blancuzco. MS calculada 1088,5 (MH⁺), medida 1088,5 (MH⁺). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ = 8,68 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,50 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 7,69 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,54 – 7,43 (m, 2H), 5,72 – 5,65 (m, 1H), 5,26 – 5,10 (m, 1H), 4,82 – 4,75 (m, 1H), 4,46 – 4,38 (m, 1H), 4,27 – 4,18 (m, 2H), 4,12 – 3,86 (m, 2H), 3,82 – 3,56 (m, 5H), 3,54 – 3,41 (m, 2H), 3,37 – 3,33 (m, 4H), 3,30 – 3,23 (m, 2H), 3,21 – 3,06 (m, 2H), 3,02 – 2,91 (m, 6H), 2,87 – 2,68 (m, 3H), 2,65 – 2,16 (m, 6H), 2,05 – 1,55 (m, 4H), 1,45 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H), 1,35 – 1,25 (m, 1H), 1,03 – 0,94 (m, 5H), 0,91 – 0,82 (m, 3H), 0,44 (s, 3H) ppm.

El compuesto **1I** se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Etapla 1: Preparación de metil 3-(metoximetilen)ciclobutancarboxilato (compuesto **1B**)

A una solución de cloruro de (metoximetil)trifenilfosfonio (267,5 g, 780,46 mmol) en THF (1,6 l) se agregó *ter*-butóxido de potasio (87,6 g, 780,46 mmol) lentamente a 0 °C y se calentó hasta 20 °C. Metil 3-oxociclobutancarboxilato (compuesto **1A**, 50,0 g, 390,23 mmol) se agregó a la mezcla de reacción después de 1,5 h. Después de agitarse a 70 °C durante 3 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener el residuo. Una solución mixta de PE en EtOAc (10:1, 1,1 l) se agregó al residuo. Después de agitarse a 20 °C durante 0,5 h, la suspensión se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE : 0 % - 10 %) para obtener metil 3-(metoximetilen)ciclobutancarboxilato (compuesto **1B**, 18,0 g) como un aceite amarillo. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ : 5,85 – 5,79 (m, 1 H), 3,70 (s, 3 H), 3,60 (s, 3 H), 3,29 – 3,09 (m, 1 H), 3,01 – 2,90 (m, 2H), 2,89 – 2,71 (m, 2 H)

ppm.

Etapas 2: Preparación de metil 3-formilciclobutancarboxilato (compuesto 1C)

A una solución de metil 3-(metoximetil)ciclobutancarboxilato (compuesto **1B**, 26,0 g, 166,47 mmol) en DCM (300 ml) y agua (30 ml) se agregó TFA (26,0 ml). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 3 h. Una vez que la reacción se completó, a la mezcla de reacción se agregó H₂O (600 ml) luego se extrajo con DCM (100 ml, tres veces). La capa orgánica se lavó con salmuera (500 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener metil 3-formilciclobutancarboxilato (compuesto **1C**, 18,0 g, 126,63 mmol) como un aceite amarillo. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ: 9,84 – 9,52 (m, 1 H), 3,75 – 3,63 (m, 3 H), 3,32 – 3,20 (m, 1 H), 3,18 – 3,07 (m, 1 H), 2,67- 2,38 (m, 4 H) ppm.

Etapas 3: Preparación de metil 3-etinilciclobutancarboxilato (compuesto 1D)

Una solución de metil 3-formilciclobutancarboxilato (compuesto **1C**, 10,0 g, 70,35 mmol) en metanol (120 ml) se enfrió hasta 0 °C y luego dimetil (1-diazo-2-oxopropil)fosfonato (21,0 g, 109,31 mmol) y carbonato de potasio (20,0 g, 144,71 mmol) se agregaron a la mezcla de reacción. Después de agitarse a 20 °C durante 3 h, a la mezcla de reacción se agregó H₂O (150 ml) y luego se extrajo con PE (60 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (80 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE: 0 % a 25 %) para obtener metil 3-etinilciclobutancarboxilato (compuesto **1D**, 6,0 g) como un aceite incoloro. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ: 3,75 – 3,62 (m, 3 H), 3,42 – 3,21 (m, 1 H), 3,07 – 2,89 (m, 1 H), 2,65 – 2,33 (m, 4 H), 2,23 – 2,17 (m, 1 H) ppm.

Etapas 4: Preparación de ácido 3-etinilciclobutancarboxílico (compuesto 1E)

A una solución de metil 3-etinilciclobutancarboxilato (compuesto **1D**, 6,0 g, 43,43 mmol) en THF (10 ml) y agua (30 ml) se agregó hidróxido de litio (3,6 g, 86,86 mmol) a 0 °C y luego la solución se agitó a 20 °C durante 3 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla de reacción se concentró al vacío para eliminar THF, luego se le agregó H₂O (60 ml) y se extrajo con MTBE (30 ml). La fase de MTBE se descartó, y el pH de la fase acuosa se acidificó hasta pH=5 con HCl acuoso (1 N, 60 ml) y se extrajo con EtOAc (60 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (80 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener ácido 3-etinilciclobutancarboxílico (compuesto **1E**, 3,8 g) como un aceite incoloro. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ: 12,14 – 9,87 (m, 1 H), 3,36 – 3,15 (m, 1 H), 3,10 – 2,95 (m, 1 H), 2,68 – 2,53 (m, 2 H), 2,51 – 2,35 (m, 2 H), 2,22 (dd, *J* = 15,2, 2,4 Hz, 1 H) ppm.

Etapa 5: Preparación de *trans-ter*-butil (2S)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto 1F) y *cis-ter*-butil (2S)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto 1G)

A una solución de ácido 3-etinilciclobutancarboxílico (compuesto 1E, 3,8 g, 30,61 mmol) en DMF (50 ml) se agregó DIEA (19,0 ml, 114,96 mmol), HATU (14,3 g, 37,48 mmol). Después de agitarse a 0 °C durante 10 min, *ter*-butil (2S)-3-metil-2-(metilamino)butanoato (5,7 g, 30,44 mmol) se agregó a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h más. Una vez que la reacción se completó, a la mezcla de reacción se agregó H₂O (120 ml) luego se extrajo con EtOAc (40 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (60 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE: 9 % - 16 %) y HPLC preparativa (columna: Welch Ultimate XB-CN 250 × 50 × 10 µm; fase móvil: hexano-EtOH (0,1 % de FA); % de B: 1 % - 20 %, 15 min) para obtener *cis-ter*-butil (2S)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto 1G, eluido más rápido, 3 g) como un aceite amarillo y *trans-ter*-butil (2S)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto 1F, eluido más lento, 2 g) como un aceite amarillo.

Cis-ter-butil (2S)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto 1G, pico 1). MS calculada 294,2 (MH⁺), medida 294,1 (MH⁺). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 4,80 (d, *J* = 10,4 Hz, 0,5 H), 3,58 (d, *J* = 10,8 Hz, 0,5 H), 3,27 – 3,11 (m, 1 H), 3,01 – 2,91 (m, 1 H), 2,87 (d, *J* = 6,8 Hz, 3 H), 2,59 – 2,40 (m, 4 H), 2,25 – 2,12 (m, 2 H), 1,45 (s, 9 H), 1,00 (dd, *J* = 14,4, 6,4 Hz, 3 H), 0,84 (dd, *J* = 6,8, 1,2 Hz, 3 H) ppm. La estereoquímica del compuesto 1G se confirmó mediante 2D-RMN.

Trans-ter-butil (2S)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto 1F, pico 2). MS calculada 294,2 (MH⁺), medida 294,1 (MH⁺). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 4,80 (d, *J* = 10,4 Hz, 0,5 H), 3,69 – 3,46 (m, 1,5 H), 3,11 – 3,01 (m, 1 H), 2,88 (d, *J* = 3,2 Hz, 3 H), 2,73 – 2,60 (m, 2 H), 2,40 – 2,27 (m, 2 H), 2,25 – 2,11 (m, 2 H), 1,45 (d, *J* = 2,8 Hz, 9 H), 1,01 (dd, *J* = 12,0, 6,8 Hz, 3 H), 0,84 (dd, *J* = 6,8, 1,6 Hz, 3 H) ppm. La estereoquímica del compuesto 1F se confirmó mediante 2D-RMN.

Etapa 6: Preparación de *trans-ter*-butil (2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-iril)ciclobutancarbonil]amino]butanoato (compuesto 1H)

Una suspensión de CuI (408,9 mg, 2,15 mmol), K₂CO₃ (593,5 mg, 4,29 mmol) y TMEDA (249,5 mg, 2,15 mmol) en DMF (10 ml) se agitó a 25 °C en una atmósfera de argón durante 20 min. TMSCF₃ (407,1 mg, 2,86 mmol) se agregó a la reacción, y la mezcla de reacción se agitó durante 10 min en una atmósfera de argón. Una solución de TMSCF₃ (407,09 mg, 2,86 mmol) y *trans-ter*-butil (2S)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-

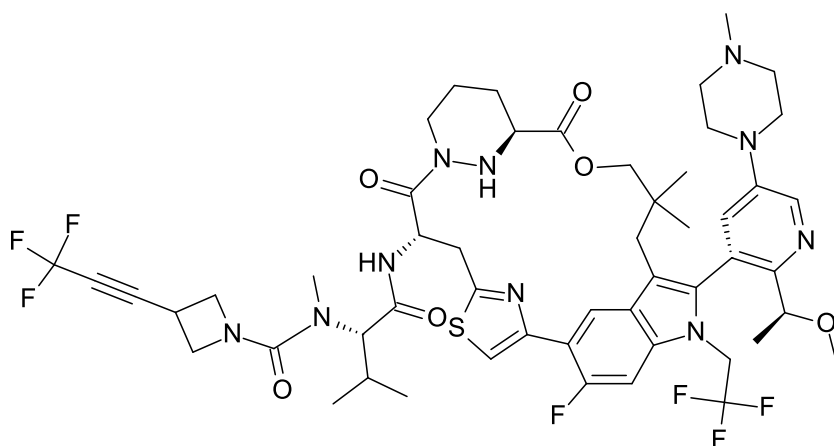
metil-butanoato (compuesto **1F**, 420,0 mg, 1,43 mmol) en DMF (10 ml) se agregó a la reacción. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min y se calentó hasta 25 °C. Después de agitarse a 25 °C durante 12 h más, a la mezcla de reacción se agregó H₂O (30 ml), luego se extrajo con EtOAc (10 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml) y se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa y HPLC preparativa para obtener *trans-ter*-butil (2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoato (compuesto **1H**, 80,0 mg) como un aceite amarillo. MS calculada 362,2 (MH⁺), medida 362,1 (MH⁺). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 4,80 (d, *J* = 10,0 Hz, 0,5 H), 3,62 – 3,46 (m, 1,5 H), 3,28 – 3,13 (m, 1 H), 2,89 (d, *J* = 4,4 Hz, 3 H), 2,82 – 2,67 (m, 2 H), 2,48 – 2,38 (m, 2 H), 2,29 – 2,15 (m, 1 H), 1,46 (d, *J* = 2,8 Hz, 9 H), 1,05 – 0,98 (m, 3 H), 0,85 (d, *J* = 6,8 Hz, 3 H) ppm.

Etapas 7: Preparación de ácido *trans*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I)**

A una solución de *trans-ter*-butil (2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoato (compuesto **1H**, 80,0 mg, 0,22 mmol) en DCM (1 ml) se agregó TFA (1,0 ml) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener ácido *trans*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I**, 80,0 mg) como un aceite amarillo, que se usó directamente en la siguiente etapa. MS calculada 306,0 (MH⁺), medida 306,0 (MH⁺).

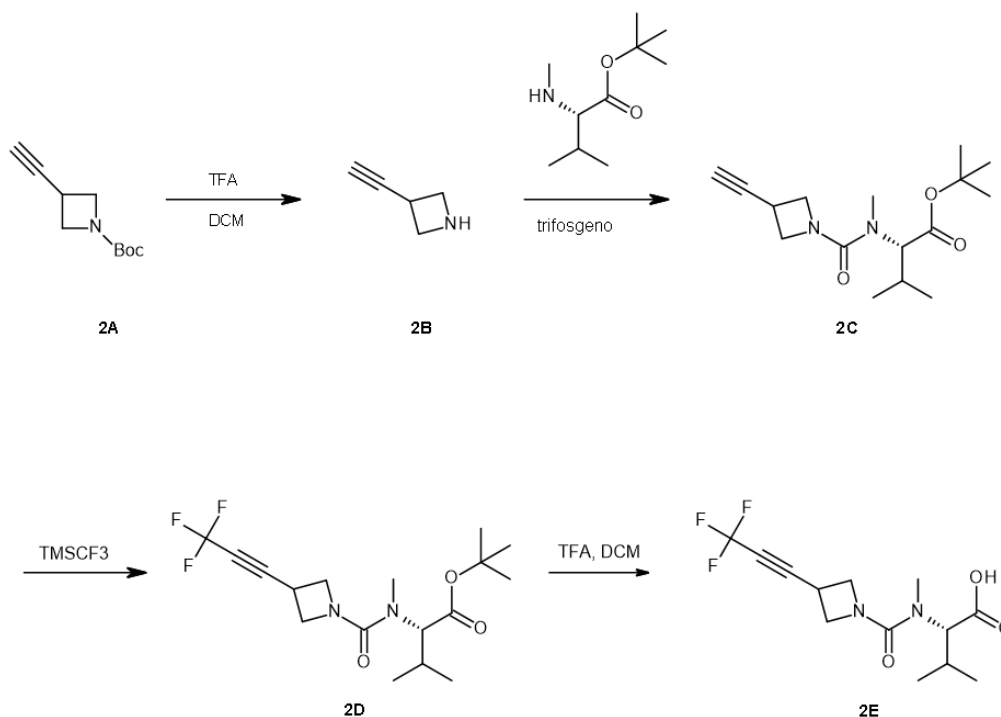
Ejemplo 2

***N*-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carboxamida**



El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido (2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-ynil)azetidín-1-carbonil]amino]butanoico (compuesto **2E**) en lugar de ácido *trans*-(2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-ynil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I**). El ejemplo **2** (78,9 mg) se obtuvo como un sólido amarillo. MS calculada 1089,5 (MH⁺), medida 1089,7 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,68 (d, *J* = 7,2 Hz, 1 H), 8,50 (d, *J* = 2,8 Hz, 1 H), 7,70 (d, *J* = 2,0 Hz, 1 H), 7,51 (d, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 7,48 (d, *J* = 12,8 Hz, 1 H), 5,71 (t, *J* = 8,8 Hz, 1 H), 5,23 - 5,13 (m, 1 H), 4,47 - 4,38 (m, 2 H), 4,37 - 4,11 (m, 6 H), 4,10 - 3,93 (m, 3 H), 3,81 - 3,77 (m, 1 H), 3,76 - 3,59 (m, 4 H), 3,47 (d, *J* = 14,8 Hz, 1 H), 3,35 (s, 3 H), 3,29 - 3,23 (m, 2 H), 3,19 - 3,10 (m, 2 H), 2,99 (s, 3 H), 2,87 (s, 3 H), 2,84 - 2,79 (m, 1 H), 2,57 (d, *J* = 14,4 Hz, 1 H), 2,25 - 2,16 (m, 2 H), 2,01 - 1,92 (m, 1 H), 1,87 - 1,77 (m, 1 H), 1,70 - 1,58 (m, 1 H), 1,45 (d, *J* = 6,0 Hz, 3 H), 1,39 - 1,25 (m, 1 H), 1,00 - 0,85 (m, 10 H), 0,44 (s, 3 H) ppm.

El compuesto **2E** se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Etapla 1: Preparación de 3-etinilazetidina (compuesto 2B)

A una solución de *ter*-butil 3-etinilazetidín-1-carboxilato (compuesto **2A**, 3,5 g, 19,31 mmol) en DCM (36 ml) se agregó TFA (17,7 g, 155,76 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla de reacción se evaporó, se coevaporó tres veces con DCM (20 ml) para obtener 3-etinilazetidina (compuesto **2B**, 3,5 g, crudo, sal de TFA) como un aceite amarillo que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

Etapla 2: Preparación de *ter*-butil (2S)-2-[(3-etinilazetidín-1-carbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto 2C)

A una mezcla de *ter*-butil (2S)-3-metil-2-(metilamino)butanoato (3,7 g, 19,76 mmol) en DCM (50 ml) se agregó DIEA (8,5 ml, 48,8 mmol) y trifosgeno (2,1 g, 7,08 mmol). Después de agitarse a 0 °C durante 10 min, una mezcla de ácido 3-etinilazetidina;2,2,2-trifluoroacético (compuesto **2B**, 3,5 g, 17,94 mmol) y DIEA (13,0 ml, 74,64 mmol) en DCM (50 ml) se agregó a la reacción. La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h más. Una vez que la reacción se completó, a la mezcla de reacción se agregó NaHCO₃ acuoso saturado (500 ml) y luego se extrajo con EtOAc (100 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (600 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE: 11 % - 25 %) para obtener *ter*-butil (2S)-2-[(3-etinilazetidín-1-carbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto **2C**, 3,2 g) como un aceite amarillo. MS calculada 239,2 (M-C₄H₉+H⁺), medida 239,0 (M-C₄H₉+H⁺).

Etapla 3: Preparación de *ter*-butil (2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidín-1-carbonil]amino]butanoato (compuesto 2D)

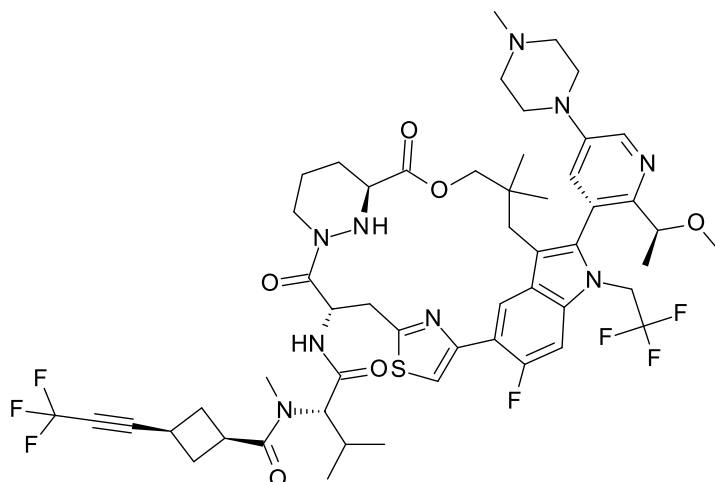
Una mezcla de CuI (1,5 g, 8,15 mmol), carbonato de potasio (2,3 g, 16,34 mmol) y TMEDA (947,3 mg, 8,15 mmol) en DMF (30 ml) se agitó a 20 °C durante 20 min en una atmósfera de argón. TMSF₃ (1,5 g, 10,87 mmol) se agregó a la mezcla de reacción y luego se agitó a 20 °C durante 20 min. Una mezcla de *ter*-butil (2S)-2-[(3-etinilazetidín-1-carbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto **2C**, 1,6 g, 5,43 mmol) y TMSF₃ (1,5 g, 10,87 mmol) en DMF (30 ml) se agregó a la mezcla de reacción. Después de agitarse a 20 °C durante 12 h más en una atmósfera de argón, a la mezcla de reacción se agregó H₂O (100 ml), luego se extrajo con EtOAc (30 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (150 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE: 11 % a 25 %) y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se volvió a purificar mediante HPLC de fase inversa para obtener *ter*-butil (2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidín-1-carbonil]amino]butanoato (compuesto **2D**, 600,0 mg) como un aceite amarillo. MS calculada 307,2 (M-C₄H₉+H⁺), medida 307,1 (M-C₄H₉+H⁺).

Etapla 4: Preparación de ácido (2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidín-1-carbonil]amino]butanoico (compuesto 2E)

A una solución de *ter*-butil (2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidín-1-carbonil]amino]butanoato (compuesto **2D**, 300,0 mg, 0,83 mmol) en DCM (2 ml) se agregó TFA (2,6 g, 23,36 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se coevaporó con DCM (6 ml, tres veces) para obtener ácido (2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidín-1-carbonil]amino]butanoico (compuesto **2E**, 250,0 mg) como un aceite amarillo que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación. MS calculada 307,1 (MH⁺), medida 307,0 (MH⁺).

Ejemplo 3

cis-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-N-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida

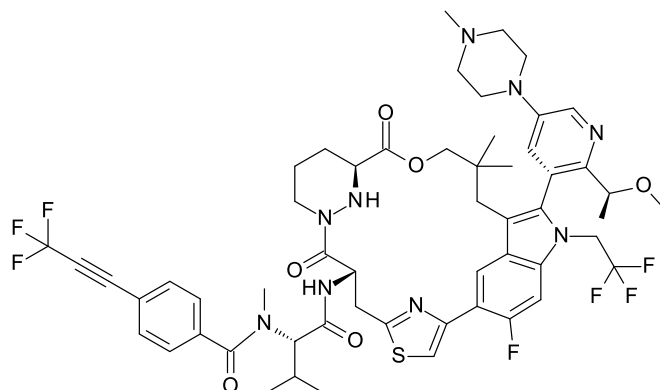


El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido *cis*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **3B**) en lugar de ácido *trans*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I**). El ejemplo **3** (202,7 mg) se obtuvo como un sólido amarillo. MS calculada 1088,5 (MH⁺), medida 1088,5 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,68 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 8,50 (d, *J* = 2,8 Hz 1H), 8,67 (d, *J* = 2,4 Hz 1H), 7,52 – 7,43 (m, 2H), 5,74 – 5,61 (m, 1H), 5,21 – 5,12 (m, 1H), 4,94 – 4,86 (m, 2H), 4,83 – 4,81 (m, 1H), 4,78 (d, *J* = 11,2 Hz, 1H), 4,46 – 4,39 (m, 1H), 4,26 – 4,19 (m, 2H), 4,11 – 3,90 (m, 2H), 3,84 – 3,64 (m, 4H), 3,62 – 3,43 (m, 4H), 3,38 – 3,33 (m, 4H), 3,18 – 3,08 (m, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,98 – 2,93 (m, 3H), 2,84 – 2,75 (m, 1H), 2,74 – 2,63 (m, 2H), 2,61 – 2,44 (m, 3H), 2,27 – 2,16 (m, 2H), 2,01 – 1,93 (m, 1H), 1,86 – 1,76 (m, 1H), 1,70 – 1,59 (m, 1H), 1,45 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H), 1,10-1,00 (m, 1H), 1,00 – 0,95 (m, 5H), 0,90 – 0,83 (m, 3H), 0,44 (s, 3H) ppm.

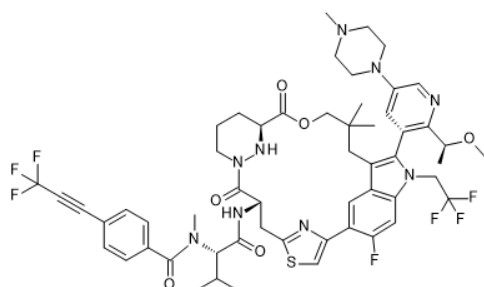
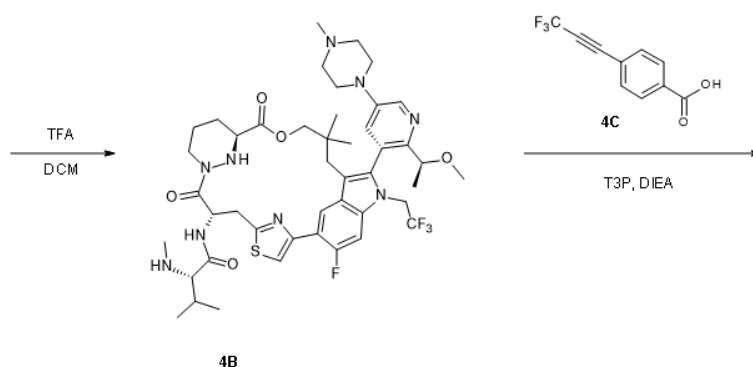
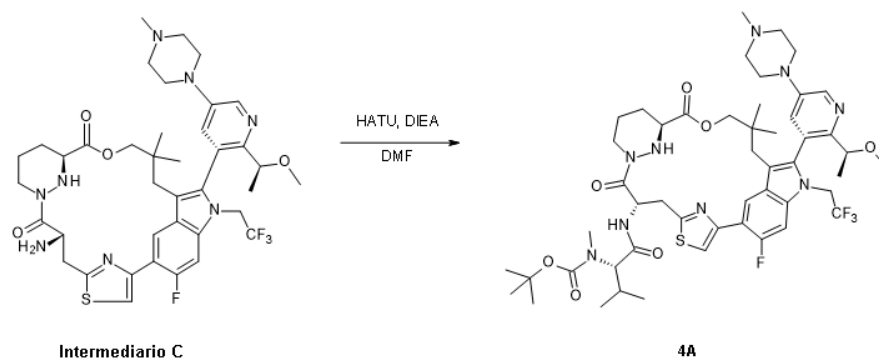
El compuesto **3B** se preparó de manera análoga a la preparación del compuesto **1I** usando *cis-ter*-butil (2*S*)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto **1G**) en lugar de *trans-ter*-butil (2*S*)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto **1F**).

Ejemplo 4

***N*-[[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzamida**



El compuesto se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Ejemplo 4

Etapla 1: Preparación de *ter*-butil *N*-[[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-carbamato

(compuesto 4A)

A una mezcla de BOC-*N*-ME-VAL-OH (93,8 mg, 0,41 mmol) y DIEA (0,2 ml, 0,94 mmol) en DMF (1 ml) se agregó HATU (154,3 mg, 0,41 mmol) y (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**, 250,0 mg, 0,31 mmol). Después de agitarse a 15 °C durante 1 h, la mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía de fase inversa para obtener *ter*-butil *N*-[(1*S*)-1-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-carbamato (compuesto **4A**, 300,0 mg) como un sólido amarillo. MS calculada 1014,4 (MH⁺), medida 1014,3 (MH⁺).

Etapas 2: Preparación de (2*S*)-*N*-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]-3-metil-2-(metilamino)butanamida (compuesto 4B)

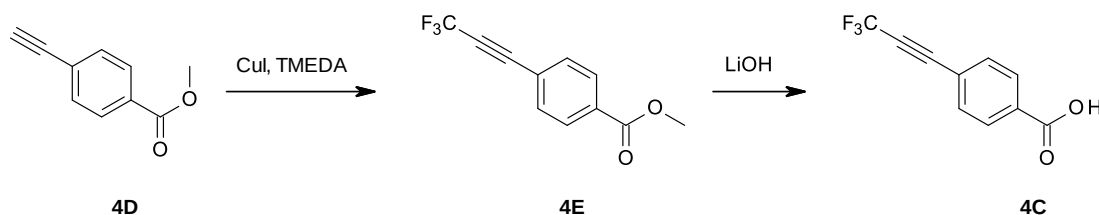
A una mezcla de *ter*-butil *N*-[(1*S*)-1-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-carbamato (compuesto **4A**, 300,0 mg, 0,3 mmol) en DCM (6 ml) se agregó TFA (4,0 ml). Después de agitarse a 15 °C durante 0,5 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo resultante se diluyó con NaHCO₃ acuoso saturado (30 ml), se extrajo con EtOAc (20 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener (2*S*)-*N*-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]-3-metil-2-(metilamino)butanamida (compuesto **4B**, 270,0 mg) como un aceite amarillo, que se usó directamente en la siguiente etapa. MS calculada 914,4 (MH⁺), medida 914,3 (MH⁺).

Etapas 3: Preparación de *N*-[(1*S*)-1-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-

1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzamida (ejemplo 4)

A una solución de (2*S*)-*N*-[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]-3-metil-2-(metilamino)butanamida (compuesto **4B**, 210 mg, 0,23 mmol) y ácido 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoico (compuesto **4C**, 49,2 mg, 0,23 mmol) en DMF (0,5 ml) se agregó DIEA (0,1 ml, 0,38 mmol) y T₃P (146,2 mg, 0,23 mmol). Después de agitarse a 20 °C durante 0,5 horas, la mezcla de reacción se agregó en agua (40 ml) y se extrajo con EtOAc (30 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml, tres veces), se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo, que se purificó mediante HPLC preparativa para obtener *N*-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzamida (ejemplo **4**, 9,8 mg) como un sólido blancuzco. MS calculada 1110,4 (MH⁺), medida 1110,6 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,69 (d, *J* = 9,2Hz, 1H), 8,47 - 8,43 (m, 1H), 7,79 (d, *J* = 8,4Hz, 2H), 7,73 - 7,69 (m, 1H), 7,58 (d, *J* = 8,0Hz, 2H), 7,49 - 7,44 (m, 1H), 7,39 - 7,33 (m, 1H), 5,78 - 5,71 (m, 1H), 5,19 - 5,10 (m, 1H), 4,60 - 4,41 (m, 1H), 4,32 - 4,15 (m, 2H), 3,80 - 3,70 (m, 1H), 3,53 - 3,40 (m, 5H), 3,23 - 3,08 (m, 4H), 2,97 (s, 3H), 2,95 - 2,90 (m, 3H), 2,84 - 2,71 (m, 2H), 2,62 - 2,52 (m, 4H), 2,46 - 2,14 (m, 3H), 2,08 - 1,53 (m, 4H), 1,43 (d, *J* = 6,0Hz, 3H), 1,29 (s, 3H), 1,06 (t, *J* = 6,4Hz, 5H), 0,97 (s, 3H), 0,48- 0,41 (m, 3H) ppm.

El compuesto 4B se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Etap 1: Preparación de metil 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoato (compuesto 8B)

Una suspensión de yoduro de cobre(I) (1,8 g, 9,37 mmol), carbonato de potasio (2,6 g, 18,77 mmol), TMEDA (1,1 g, 9,37 mmol) en DMF (10 ml) se agitó a 20 °C en una atmósfera de argón. Después de agitarse durante 20 min, a la mezcla de reacción se agregó TMSCF₃ (1,8 g, 12,49 mmol). Una mezcla de metil 4-etinilbenzoato (compuesto **4D**, 1,0 g, 6,24 mmol) y TMSCF₃ (1,8 g, 12,49 mmol) en DMF (10 ml) se agregó

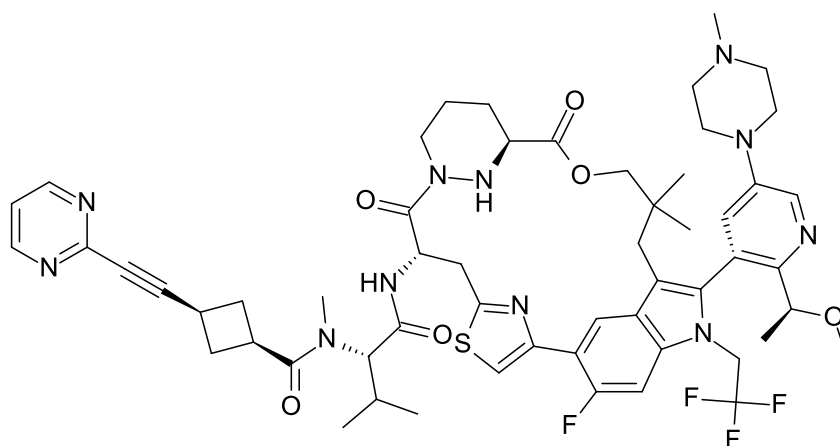
lentamente a la mezcla de reacción y luego se agitó a 20 °C durante 12 h más en una atmósfera de argón. Una vez que la reacción se completó, a la mezcla de reacción se agregó H₂O (200 ml) y se extrajo con EtOAc (80 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (80 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, EtOAc en PE: 0 %-95 %) para obtener metil 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoato (compuesto **4D**, 233,0 mg) como un sólido incoloro. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 8,08 (d, *J* = 8,4Hz, 2H), 7,64 (d, *J* = 8,4Hz, 2H), 3,95 (s, 3H) ppm.

Etap 2: Preparación de ácido 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoico (compuesto 4C)

A una solución de metil 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoato (compuesto **4D**, 180,0 mg, 0,79 mmol) en THF (1 ml), agua (1 ml) se agregó hidróxido de litio monohidrato (69,5 mg, 1,66 mmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. Una vez que la reacción se completó, el pH de la mezcla de reacción se ajustó a 6 con solución acuosa 1M de HCl y se extrajo con EtOAc (10 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se concentró al vacío para obtener ácido 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoico (compuesto **4C**, 168,0 mg) como un sólido blanco, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Ejemplo 5

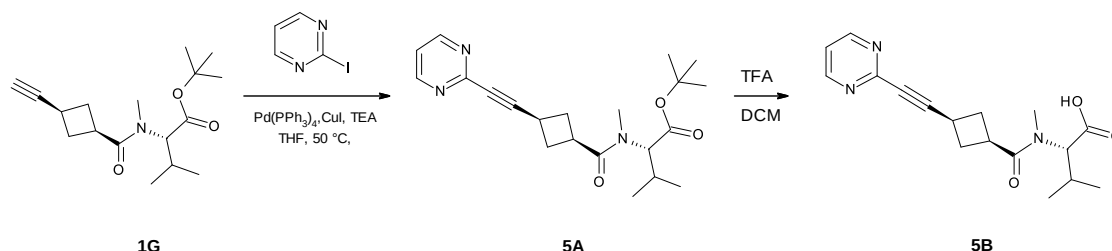
cis-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-N-metil-3-(2-pirimidin-2-iletinil)ciclobutancarboxamida



El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido (2S)-3-metil-2-[metil-[*cis*-3-(2-pirimidin-2-iletinil)ciclobutancarboxamido]amino]butanoico (compuesto **5B**) en lugar de ácido *trans*-(2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamido]amino]butanoico (compuesto

1I). El ejemplo **4** (1,3 mg) se obtuvo como un sólido amarillo. MS calculada 1098,5 (MH^+), medida 1098,5 (MH^+). ^1H RMN (400MHz, ClO_2 FORMO- d) δ = 8,74 - 8,64 (m, 2H), 8,52 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,72 - 7,61 (m, 1H), 7,55 - 7,46 (m, 1H), 7,25 - 7,20 (m, 1H), 7,18 - 7,09 (m, 2H), 5,74 - 5,62 (m, 1H), 5,13 - 4,88 (m, 1H), 4,79 - 4,68 (m, 1H), 4,63 - 4,41 (m, 2H), 4,35 - 4,16 (m, 2H), 4,13 - 3,93 (m, 1H), 3,89 - 3,77 (m, 2H), 3,77 - 3,69 (m, 2H), 3,66 - 3,53 (m, 3H), 3,52 - 3,46 (m, 1H), 3,39 - 3,33 (m, 3H), 3,32 - 3,21 (m, 2H), 3,20 - 3,07 (m, 3H), 2,92 - 2,87 (m, 3H), 2,87 - 2,82 (m, 2H), 2,80 (s, 1H), 2,73 - 2,61 (m, 3H), 2,43 - 2,37 (m, 1H), 2,36 - 2,29 (m, 1H), 2,26 - 2,20 (m, 1H), 2,14 (br s, 1H), 2,05 - 2,00 (m, 1H), 1,98 - 1,89 (m, 4H), 1,60 - 1,57 (m, 1H), 1,49 - 1,45 (m, 3H), 1,38 - 1,35 (m, 1H), 1,28 - 1,25 (m, 3H), 1,17 (br dd, J = 6,9, 19,4 Hz, 2H), 1,06 (br d, J = 6,5 Hz, 2H), 1,11 - 0,76 (m, 5H) ppm.

El compuesto **5B** se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Etapas 1: Preparación de *ter*-butil (2*S*)-3-metil-2-[metil-[*cis* 3-(2-pirimidin-2-iletinil)ciclobutancarbonil]amino]butanoato (compuesto 5A)

A una solución de *cis-ter*-butil (2*S*)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto **1G**, 100,0 mg, 0,34 mmol) en THF (1 ml) se agregaron trietilamina (0,2 ml, 1,02 mmol), 2-yodopirimidina (70,2 mg, 0,34 mmol), tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (39,4 mg, 0,03 mmol) y CuI (6,5 mg, 0,03 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó y se purgó con nitrógeno tres veces y se agitó a 50 °C durante 1 h. Una vez que la reacción se completó, a la mezcla de reacción se agregó H₂O (60 ml), luego se extrajo con EtOAc (40 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (60 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa para obtener *ter*-butil (2*S*)-3-metil-2-[metil-[*cis* 3-(2-pirimidin-2-iletinil)ciclobutancarbonil]amino]butanoato (compuesto **5A**, 60 mg) como un aceite amarillo. MS calculada 372 (MH^+), medida 372 (MH^+).

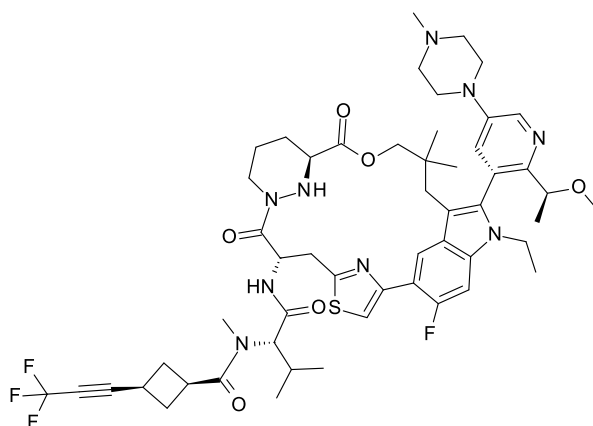
Etapas 2: Preparación de ácido (2*S*)-3-metil-2-[metil-[*cis* 3-(2-pirimidin-2-iletinil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto 5B)

A una solución de *ter*-butil (2*S*)-3-metil-2-[metil-[*cis* 3-(2-pirimidin-2-iletinil)ciclobutancarbonil]amino]butanoato (compuesto **5A**, 60,0 mg, 0,16 mmol) en DCM (1 ml) se agregó TFA (0,2 ml). Después de agitarse a 20 °C durante 1 h, la mezcla de

reacción se concentró al vacío para obtener ácido (2S)-3-metil-2-[metil-[*cis*-3-(2-pirimidin-2-iletinil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **5B**, 50 mg). El crudo se usó en la siguiente etapa. MS calculada 316 (MH⁺), medida 316 (MH⁺).

Ejemplo 6

***cis*-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida**

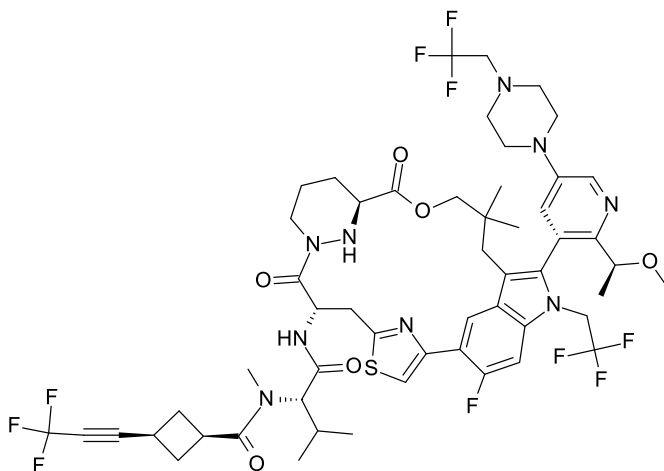


El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido *cis*-(2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **3B**) y (7S,13S)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **D**) en lugar de ácido *trans*-(2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I**) y (7S,13S)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo **6** (32,2 mg) se obtuvo como un sólido amarillo. MS calculada 1034,5 (MH⁺), medida 1034,5 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,66 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H), 8,48 (d, *J* = 2,8 Hz, 1 H), 7,62 (d, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 7,52 (d, *J* = 2,8 Hz, 1 H), 7,33 (d, *J* = 12,8 Hz, 1 H), 5,78 - 5,67 (m, 1 H), 4,78 - 4,74 (m, 2 H), 4,48 - 4,36 (m, 1 H), 4,33 - 4,26 (m, 1 H), 4,24 - 3,96 (m, 4 H), 3,81 - 3,64 (m, 3 H), 3,56 - 3,42 (m, 3 H), 3,34 (s, 4 H), 3,29 - 3,24 (m, 3 H), 3,12 - 2,89 (m, 8 H), 2,89 - 2,80 (m, 1 H), 2,80 - 2,31 (m, 6 H), 2,31 - 2,12 (m, 2 H), 1,98 - 1,87 (m, 1 H), 1,87 - 1,75 (m, 1 H), 1,75 - 1,54 (m, 1

H), 1,43 (d, $J = 6,0$ Hz, 3 H), 1,08 - 0,88 (m, 9 H), 0,85 (d, $J = 6,4$ Hz, 3 H), 0,58 - 0,41 (m, 3 H) ppm.

Ejemplo 7

cis-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-N-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida

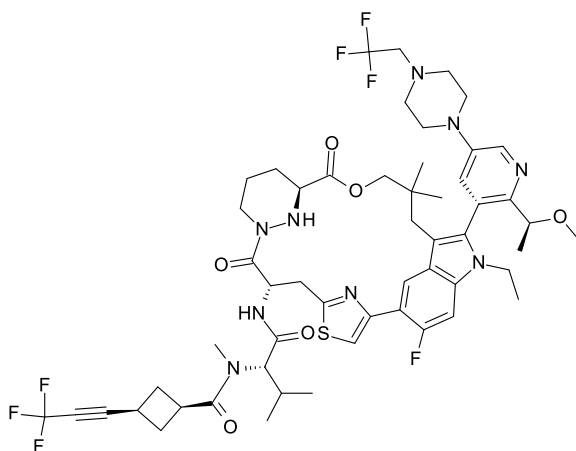


El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido *cis*-(2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxil]amino]butanoico (compuesto **3B**) y (7S,13S)-7-amino-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **E**) en lugar de ácido *trans*-(2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxil]amino]butanoico (compuesto **1I**) y (7S,13S)-7-amino-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo **7** (30,8 mg) se obtuvo como un sólido blanco. MS calculada 1156,5 (MH⁺), medida 1157,1 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,71 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 8,41 (d, $J = 2,8$ Hz, 1 H), 7,67 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 7,58 (s, 1 H), 7,47 (d, $J = 12,4$ Hz, 1 H), 5,70 (t, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 5,24 - 5,06 (m, 2 H), 4,80 - 4,74 (m, 2 H), 4,48 - 4,35 (m, 1 H), 4,30 - 4,15 (m, 2 H), 3,80 - 3,69 (m, 2 H), 3,62 - 3,47 (m, 2 H), 3,47 - 3,39 (m, 5 H), 3,38 - 3,35 (m, 3 H), 3,22 - 3,11 (m, 3 H), 2,98 - 2,82 (m, 8 H), 2,72 - 2,60 (m, 3 H), 2,51 - 2,46 (m, 1 H), 2,28 - 2,16 (m, 2 H),

2,01 - 1,91(m, 1 H), 1,89 - 1,74 (m, 1 H), 1,69 - 1,58 (m, 1 H), 1,46 (d, $J = 6,0$ Hz, 3 H), 1,10 - 1,01 (m, 1 H), 1,01 - 0,83 (m, 9 H), 0,49 (s, 3 H) ppm.

Ejemplo 8

cis-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-21-etil-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-N-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida

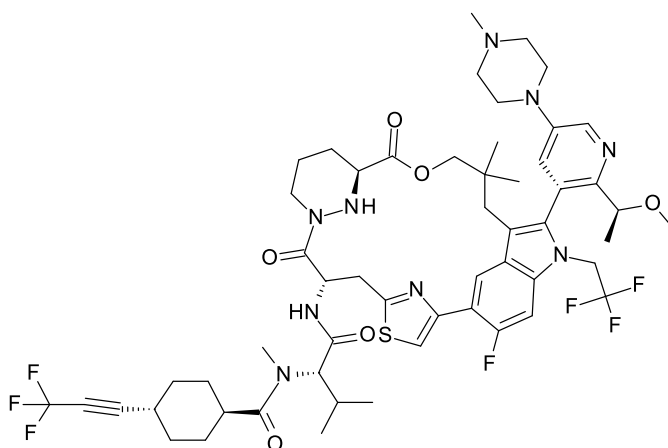


El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido *cis*-(2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamido]amino]butanoico (compuesto **3B**) y (7S,13S)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **F**) en lugar de ácido *trans*-(2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamido]amino]butanoico (compuesto **1I**) y (7S,13S)-7-amino-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo **8** (23,3 mg) se obtuvo como un sólido blanco. MS calculada 1102,5 (MH⁺), medida 1102,7 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,65 (d, $J = 7,2$ Hz, 1 H), 8,40 (d, $J = 2,8$ Hz, 1 H), 7,61 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 7,33 – 7,27 (m, 2 H), 5,90 – 5,68 (m, 1 H), 4,89 (s, 1 H), 4,83 – 4,82 (m, 1 H), 4,77 (d, $J = 11,2$ Hz, 1 H), 4,47 – 4,37 (m, 1 H), 4,26 – 4,12 (m, 4 H), 3,82 – 3,42 (m, 5 H), 3,36 – 3,33 (m, 4 H), 3,27 (s, 1 H), 3,17 – 3,11 (m, 2 H), 3,02 (d, $J = 14,4$ Hz, 1 H), 2,97- 2,91 (m, 3 H), 2,90 – 2,81 (m, 5 H), 2,74 – 2,60 (m, 3 H), 2,60 – 2,36 (m, 2 H), 2,29 – 2,12 (m, 2 H), 1,99 – 1,91 (m, 1 H),

1,88 – 1,75 (m, 1 H), 1,69 – 1,57 (m, 1 H), 1,42 (d, $J = 6,0$ Hz, 3 H), 1,17 – 0,88 (m, 10 H), 0,85 (d, $J = 6,4$ Hz, 3 H), 0,50 (s, 3 H) ppm.

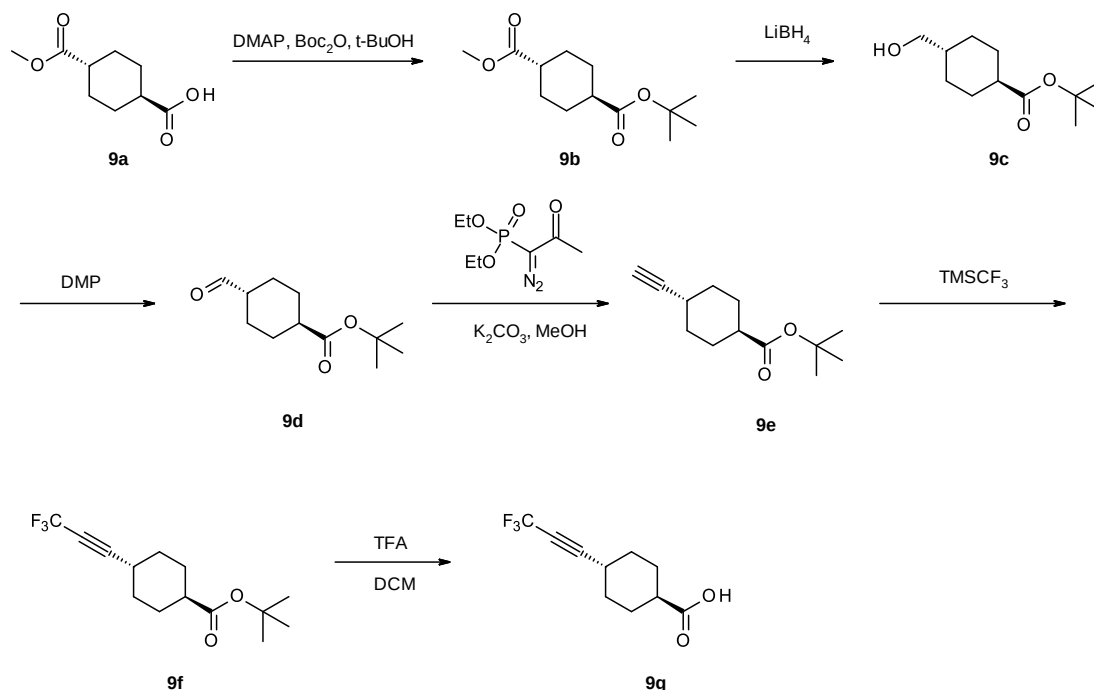
Ejemplo 9

***trans*-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxamida**



El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **4** usando ácido *trans* 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxílico (compuesto **9g**) en lugar de 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoico (compuesto **4C**). El ejemplo **9** (30,8 mg) se obtuvo como un sólido blanco. MS calculada 1116,5 (MH⁺), medida 1116,7 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,68 (d, $J = 7,2$ Hz, 1 H), 8,53 – 8,48 (m, 1 H), 7,70 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 7,51 – 7,45 (m, 2 H), 5,68 (t, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 5,21 – 5,14 (m, 1 H), 4,80 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,46 – 4,37 (m, 1 H), 4,25 – 4,18 (m, 2 H), 4,15 – 3,87 (m, 2 H), 3,81 – 3,76 (m, 1 H), 3,73 – 3,64 (m, 2 H), 3,45 (d, $J = 14,8$ Hz, 1 H), 3,35 (s, 3 H), 3,27 – 3,23 (m, 1 H), 3,16 (s, 1 H), 3,09 (s, 3 H), 3,00 (s, 3 H), 2,88 – 2,76 (m, 2 H), 2,61 – 2,53 (m, 2 H), 2,26 – 1,84 (m, 12 H), 1,66 – 1,56 (m, 4 H), 1,50 – 1,43 (m, 6 H), 1,02 – 0,83 (m, 9 H), 0,44 (s, 3 H) ppm.

El compuesto **9g** se preparó de acuerdo con el siguiente esquema:



Etap 1: Preparación de *trans* 4-*ter*-butil 1-metil ciclohexan-1,4-dicarboxilato (compuesto **9b)**

A una solución de ácido *trans* 4-metoxicarbonilciclohexanecarboxílico (compuesto **9a**, 5,0 g, 26,85 mmol) en *ter*-butanol (100 ml) se agregó 4-dimetilaminopiridina (6,6 g, 53,7 mmol), luego di-*t*-butildicarbonato (6,5 g, 29,54 mmol) se agregó lentamente a la mezcla de reacción a 20 °C. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 2 h. Una vez que la reacción se completó, a la mezcla de reacción se agregó H_2O (500 ml), y se extrajo con EtOAc (80 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (400 ml), se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE: 0 % - 10 %) para obtener *trans* 4-*ter*-butil 1-metil ciclohexan-1,4-dicarboxilato (compuesto **9b**, 6,5 g) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, $\text{CLOROFORMO-}d$) δ = 3,67 (s, 3 H), 2,32 – 2,23 (m, 1 H), 2,21 – 2,12 (m, 1 H), 2,05 – 1,96 (m, 4 H), 1,44 – 1,42 (m, 13 H) ppm.

Etap 2: Preparación de *trans ter*-butil 4-(hidroximetil)ciclohexanecarboxilato (compuesto **9c)**

A una solución de *trans* 4-*ter*-butil 1-metil ciclohexan-1,4-dicarboxilato (compuesto **9b**, 5,0 g, 20,63 mmol) en THF (100 ml) se agregó LiBH_4 (1,4 g, 64,28 mmol) lentamente a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante otras 12 h. Una vez que la reacción se completó, se inactivó con H_2O (500 ml) lentamente a 0 °C, y la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (100 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (600 ml), se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE : 10 % -

30 %) para obtener *trans ter*-butil 4-(hidroximetil)ciclohexancarboxilato (compuesto **9c**, 3,8 g) como un aceite amarillo. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ : 3,47 (d, J = 6,0 Hz, 2 H), 2,18 – 2,08 (m, 1 H), 2,03 – 1,94 (m, 2 H), 1,91 – 1,79 (m, 2 H), 1,58 – 1,26 (m, 14 H) ppm.

Etapla 3: Preparación de *trans ter*-butil 4-formilciclohexancarboxilato (compuesto 9d)

A una solución de *trans ter*-butil 4-(hidroximetil)ciclohexancarboxilato (compuesto **9c**, 3,8 g, 17,73 mmol) en DCM (100 ml) se agregó DMP (11,28 g, 26,6 mmol) lentamente a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla de reacción se concentró al vacío para eliminar DCM directamente para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE = 10 % a 30 %) y se concentró al vacío para obtener *trans ter*-butil 4-formilciclohexancarboxilato (compuesto **9d**, 2,5 g) como un aceite amarillo. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 9,63 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 2,33 – 1,93 (m, 6 H), 1,59 – 1,20 (m, 13 H) ppm.

Etapla 4: Preparación de *trans ter*-butil 4-etinilciclohexancarboxilato (compuesto 9e)

A una solución de *trans ter*-butil 4-formilciclohexancarboxilato (compuesto **9d**, 2,5 g, 11,78 mmol) en metanol (50 ml) se agregó carbonato de potasio (3,5 g, 25,32 mmol). La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, y se le agregó dimetil (1-diazo-2-oxopropil)fosfonato (3,5 g, 18,22 mmol) lentamente. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante otras 3 h. Una vez que la reacción se completó, a la mezcla de reacción se agregó H₂O (200 ml) y luego se extrajo con PE (60 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (800 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE : 0 % - 16 %) para obtener *trans ter*-butil 4-etinilciclohexancarboxilato (compuesto **9e**, 1,5 g) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 2,29 – 1,94 (m, 7 H), 1,49 – 1,34 (s, 13 H) ppm.

Etapla 5: Preparación de *trans ter*-butil 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxilato (compuesto 9f)

A una solución de TMEDA (450 mg, 3,87 mmol) en DMF (15 ml) se agregó CuI (740 mg, 3,6 mmol) y carbonato de potasio (1 g, 7,24 mmol) a 25 °C. Después de agitar vigorosamente a 25 °C durante 20 min, a la mezcla de reacción se agregó TMSCF₃ (700 mg, 4,92 mmol) en una atmósfera de argón, luego se agitó a 25 °C durante otros 20 min. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se le agregó una mezcla de *trans ter*-butil 4-etinilciclohexancarboxilato (compuesto **9e**, 500,0 mg, 2,4 mmol) y TMSCF₃ (700 mg, 4,92 mmol) en DMF (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min y se

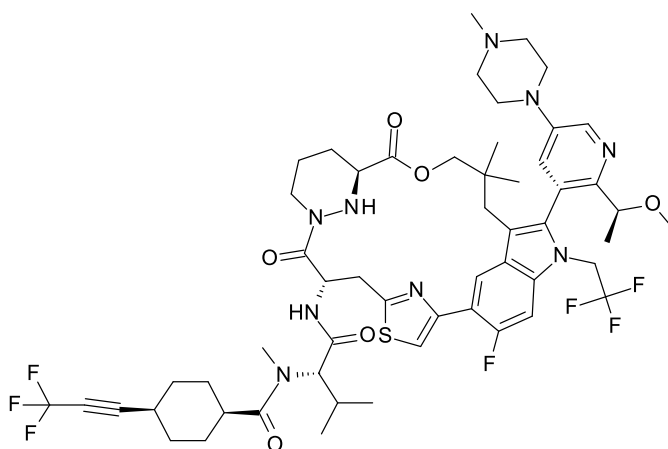
calentó hasta 25 °C durante 12 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla de reacción se vertió en agua (60 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml, tres veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (80 ml, tres veces), se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para obtener un residuo, que se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc en PE : 0 %-10 %) para obtener *trans* *ter*-butil 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxilato (compuesto **9f**, 500 mg, 1,48 mmol) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 2,17 – 1,94 (m, 6 H), 1,48 – 1,34 (m, 13 H) ppm.

Etapas 6: Preparación de ácido *trans* 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxílico (compuesto **9g)**

A una solución de *trans* *ter*-butil 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxilato (compuesto **9f**, 100,0 mg, 0,36 mmol) en DCM (1 ml) se agregó TFA (1,0 ml). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 0,5 h. Una vez que la reacción se completó, la mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener un residuo. El residuo se coevaporó con DCM (5 ml) tres veces para obtener ácido *trans* 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxílico (compuesto **9g**, 50,0 mg) como un sólido blanco, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

Ejemplo 10

***cis*-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxamida**



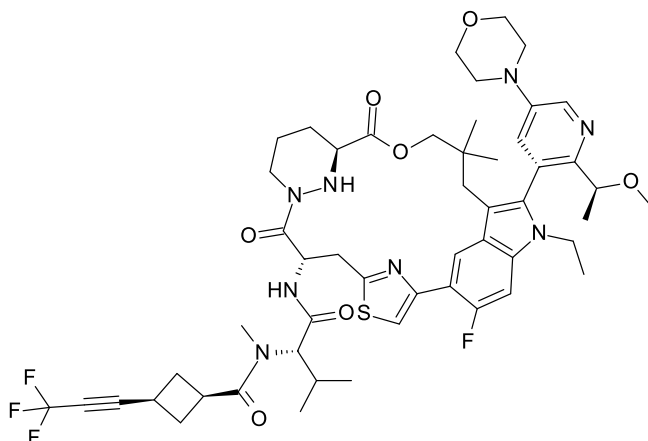
El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo 4

usando ácido *cis* 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclohexancarboxílico (compuesto **10g**) en lugar de ácido 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoico (compuesto **4C**). El ejemplo **10** (39,7 mg) se obtuvo como un sólido blanco. MS calculada 1116,5 (MH⁺), medida 1116,4 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,74 - 8,65 (m, 1H), 8,52 - 8,49 (m, 1H), 7,72 - 7,64 (m, 1H), 7,53 - 7,42 (m, 2H), 5,75 - 5,61 (m, 1H), 5,26 - 5,12 (m, 1H), 4,99 - 4,92 (m, 1H), 4,50 - 4,35 (m, 1H), 4,28 - 4,17 (m, 2H), 4,17 - 3,88 (m, 2H), 3,82 - 3,74 (m, 1H), 3,73 - 3,51 (m, 3H), 3,48 - 3,43 (m, 1H), 3,37 - 3,34 (m, 3H), 3,29 - 3,25 (m, 1H), 3,17 - 3,11 (m, 1H), 3,09 - 3,03 (m, 3H), 3,01 - 2,97 (m, 3H), 2,90 - 2,78 (m, 2H), 2,57 (d, *J* = 14,8 Hz, 1H), 2,45 - 2,31 (m, 1H), 2,29 - 2,11 (m, 2H), 2,05 - 1,89 (m, 4H), 1,88 - 1,71 (m, 10H), 1,70 - 1,57 (m, 2H), 1,45 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H), 1,14 - 0,91 (m, 6H), 0,86 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,44 (s, 3H) ppm.

El compuesto **10g** se preparó de manera análoga a la preparación del compuesto **9g** usando ácido *cis* 4-metoxicarbonilciclohexancarboxílico (compuesto **10a**) en lugar de ácido *trans* 4-metoxicarbonilciclohexancarboxílico (compuesto **9a**).

Ejemplo 11

***cis*-N-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida**

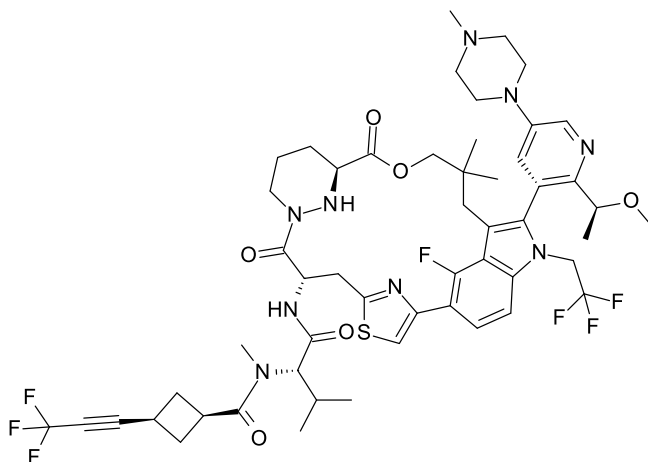


El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido *cis*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamido]amino]butanoico (compuesto **3B**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **G**) en lugar de ácido *trans*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-

(3,3,3-trifluoroprop-1-ynil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I**) y (7S,13S)-7-amino-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo **11** (39,6 mg) se obtuvo como un sólido amarillo. MS calculada 1021,5 (MH⁺), medida 1021,5 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,71 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 8,39 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,88 – 7,82 (m, 1H), 7,62 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,40 – 7,32 (m, 1H), 5,84 – 5,72 (m, 1H), 4,84 – 4,72 (m, 1H), 4,47 – 4,34 (m, 2H), 4,32 – 4,22 (m, 1H), 4,20 – 4,12 (m, 1H), 4,10 – 3,98 (m, 1H), 3,87 (t, *J* = 4,8 Hz, 4H), 3,81 – 3,69 (m, 2H), 3,53 – 3,36 (m, 9H), 3,29 – 3,18 (m, 2H), 3,08 – 2,97 (m, 1H), 2,95 – 2,87 (m, 3H), 2,83 – 2,58 (m, 4H), 2,55 – 2,36 (m, 2H), 2,27 – 2,12 (m, 2H), 2,00 – 1,91 (m, 1H), 1,86 – 1,74 (m, 1H), 1,71 – 1,56 (m, 1H), 1,46 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 1,07 – 0,94 (m, 9H), 0,89 – 0,82 (m, 3H), 0,68 – 0,49 (m, 3H) ppm.

Ejemplo 12

cis-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-25-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-N-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida

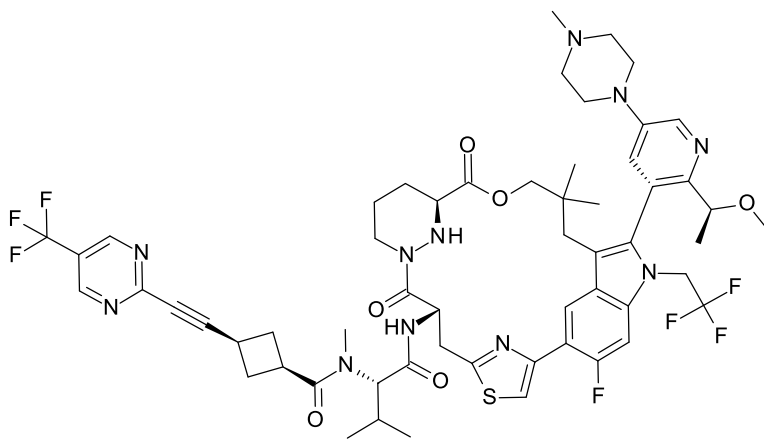


El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido *cis*-(2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **3B**) y (7S,13S)-7-amino-25-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **H**) en lugar de ácido *trans*-

(2S)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **11**) y (7S,13S)-7-amino-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo **12** (7,7 mg) se obtuvo como un sólido blanco. MS calculada 1088,5 (MH⁺), medida 1088,5 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,54 - 8,50 (m, 1H), 7,54 - 7,42 (m, 4H), 5,84 - 5,96 (m, 1H), 5,20 - 5,10 (m, 1H), 4,68 - 4,60 (m, 1H), 4,39 (d, *J* = 12Hz, 1H), 4,12 - 3,96 (m, 2H), 3,75- 3,60 (m, 3H), 3,57- 3,46 (m, 2H), 3,45 - 3,38 (m, 1H), 3,29 - 3,23 (m, 5H), 3,22 - 3,12 (m, 5H), 3,03 - 3,07 (m, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,98 - 2,95 (m, 3H), 2,93 - 2,75 (m, 2H), 2,74 - 2,53 (m, 4H), 2,50 - 2,34 (m, 2H), 2,25 - 2,16 (m, 1H), 1,71 - 1,59 (m, 1H), 1,47 - 1,43 (m, 3H), 1,38 - 1,14 (m, 3H), 0,98 - 0,92 (m, 3H), 0,85 - 0,78 (m, 6H), 0,76 - 0,68 (m, 1H), 0,65 - 0,55 (m, 2H) ppm.

Ejemplo 13

cis-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-[2-[5-(trifluorometil)pirimidin-2-il]etinil]ciclobutancarboxamida



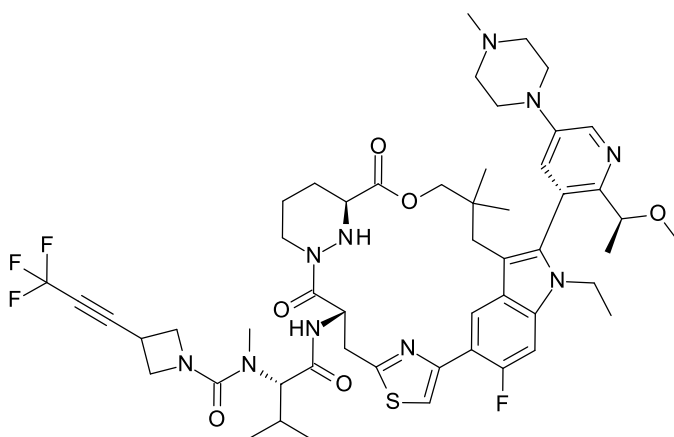
El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **4** usando ácido *cis*-3-[2-[5-(trifluorometil)pirimidin-2-il]etinil]ciclobutancarboxílico (compuesto **13B**) en lugar de ácido 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoico (compuesto **4C**). El ejemplo **13** (10,8 mg) se obtuvo como un sólido blanco. MS calculada 1166,5 (MH⁺), medida 1166,4 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 9,07 (s, 2H), 8,66 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 8,49 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,46 - 7,38 (m, 2H), 5,65 - 5,61 (m, 1H), 5,15 (br d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 4,68 - 4,56 (m, 1H), 4,46 - 4,37 (m, 1H), 4,26 - 4,19 (m, 2H), 3,80 - 3,67 (m, 3H), 3,61 (q, *J* = 7,2 Hz, 5H), 3,48 - 3,39 (m, 6H), 3,15 (br d, *J* = 14,7 Hz, 1H), 2,96 (d,

$J = 7,3$ Hz, 6H), 2,83 – 2,76 (m, 2H), 2,70 – 2,66 (m, 1H), 2,60 – 2,52 (m, 2H), 2,22 (dt, $J = 3,2, 7,5$ Hz, 2H), 1,99 – 1,93 (m, 1H), 1,81 (br s, 1H), 1,68 – 1,60 (m, 1H), 1,45 – 1,41 (m, 3H), 1,32 – 1,27 (m, 1H), 1,18 (t, $J = 6,8$ Hz, 4H), 1,01 – 0,93 (m, 6H), 0,87 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,45 – 0,40 (s, 3H) ppm.

El compuesto **13B** se preparó de manera análoga a la preparación del compuesto **5B** usando *cis-ter*-butil 3-etinilciclobutancarboxilato (intermediario **I**) y 2-yodo-5-(trifluorometil)-pirimidina en lugar de *cis-ter*-butil (2*S*)-2-[(3-etinilciclobutancarbonil)-metil-amino]-3-metil-butanoato (compuesto **1G**) y 2-yodopirimidina.

Ejemplo 14

***N*-[[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carboxamida**

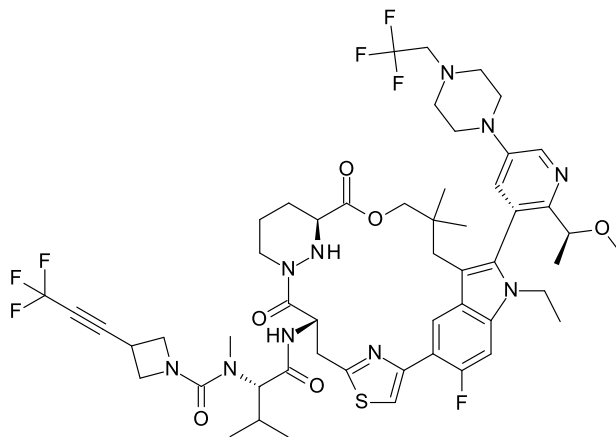


El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido (2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carbonil]amino]butanoico (compuesto **2E**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **D**) en lugar de ácido *trans*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo **14** (41,2 mg) se obtuvo como un sólido amarillo. MS calculada 1035,5 (MH⁺), medida 1035,5 (MH⁺), ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) $\delta = 8,66$ (d,

$J = 7,6$ Hz, 1H), 8,48 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 7,65 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,50 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J = 12,8$ Hz, 1H), 5,79 - 5,74 (m, 1H), 4,46 - 4,13 (m, 12H), 4,08 - 4,03 (m, 2H), 3,77 - 3,63 (m, 6H), 3,49 - 3,46 (m, 1H), 3,45 - 3,43 (m, 1H), 3,09 - 3,01 (m, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,95 (d, $J = 2,4$ Hz, 2H), 2,85 (s, 3H), 2,81 - 2,74 (m, 1H), 2,64 - 2,57 (m, 1H), 2,32 - 2,14 (m, 3H), 1,99 - 1,92 (m, 1H), 1,86 - 1,76 (m, 1H), 1,68 - 1,60 (m, 1H), 1,43 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,98 - 0,92 (m, 12H), 0,50 (s, 3H).

Ejemplo 15

***N*-[*(1S)*-1-[[*(7S,13S)*-21-etil-24-fluoro-(*20M*)-20-[2-[[*(1S)*-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carboxamida**

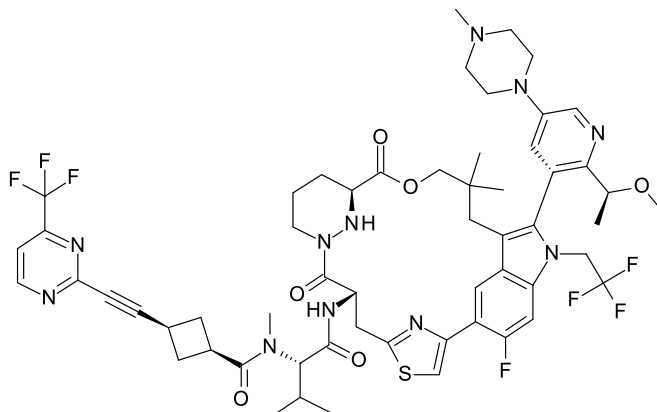


El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido (2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carbonil]amino]butanoico (compuesto **2E**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(*20M*)-20-[2-[[*(1S)*-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **F**) en lugar de ácido *trans*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(*20M*)-20-[2-[[*(1S)*-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo **15** (43,2 mg) se obtuvo como un sólido amarillo. MS calculada 1103,5 (MH⁺), medida 1103,5 (MH⁺), ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,70 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 8,39 – 8,36 (m, 1H), 7,80 – 7,76 (m, 1H), 7,68 – 7,62 (m, 1H), 7,38 – 7,32 (m, 1H), 5,85 – 5,78 (m, 1H), 4,40 – 4,14 (m, 8H), 4,10 – 4,02 (m, 2H), 3,78 – 3,68 (m,

3H), 3,49 – 3,45 (m, 4H), 3,45 – 3,42 (s, 1H), 3,19 – 3,14 (m, 2H), 2,94 – 2,85 (m, 6H), 2,83 (s, 4H), 2,75 – 2,69 (m, 1H), 2,22 – 2,14 (m, 2H), 2,01 – 1,92 (m, 1H), 1,86 – 1,75 (m, 1H), 1,69 – 1,57 (m, 1H), 1,45 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,34 – 1,23 (m, 1H), 1,05 – 0,99 (m, 3H), 0,97 – 0,90 (m, 11H), 0,58 (s, 3H).

Ejemplo 16

cis-N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-N-metil-3-[2-[4-(trifluorometil)pirimidin-2-il]etnil]ciclobutancarboxamida



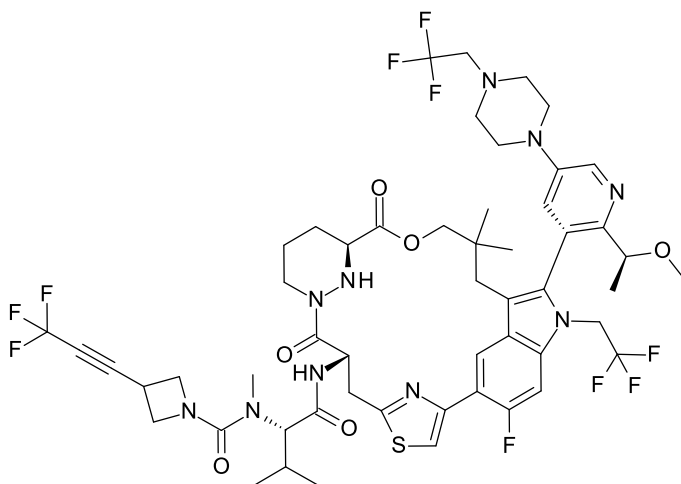
El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo 4 usando ácido *cis*-3-[2-[4-(trifluorometil)pirimidin-2-il]etnil]ciclobutancarboxílico (compuesto **16B**) en lugar de ácido 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-iril)benzoico (compuesto **4C**). El ejemplo **16** (98,2 mg) se obtuvo como un sólido blanco. MS calculada 1166,5 (MH⁺), medida 1166,4 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 9,06 - 8,99 (m, 1H), 8,71 - 8,63 (m, 1H), 8,47 - 8,39 (m, 1H), 7,82 - 7,73 (m, 1H), 7,71 - 7,64 (m, 1H), 7,46 - 7,26 (m, 2H), 5,77 - 5,60 (m, 1H), 5,20 - 5,02 (m, 3H), 4,48 - 4,09 (m, 2H), 3,82 - 3,74 (m, 1H), 3,72 - 3,66 (m, 1H), 3,60 - 3,53 (m, 1H), 3,52 - 3,46 (m, 1H), 3,46 - 3,42 (m, 1H), 3,41 - 3,38 (m, 1H), 3,38 - 3,34 (m, 4H), 3,17 - 3,08 (m, 1H), 3,03 - 2,92 (m, 3H), 2,91 - 2,84 (m, 1H), 2,83 - 2,77 (m, 1H), 2,76 - 2,69 (m, 2H), 2,66 - 2,60 (m, 5H), 2,60 - 2,54 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,29 - 2,15 (m, 2H), 2,01 - 1,90 (m, 1H), 1,86 - 1,70 (m, 1H), 1,69 - 1,53 (m, 1H), 1,46 - 1,38 (m, 3H), 1,32 - 1,25 (m, 1H), 1,20 - 1,02 (m, 1H), 1,00 - 0,94 (m, 5H), 0,92 - 0,82 (m, 4H), 0,81 - 0,69 (m, 1H), 0,40 (s, 3H).

El compuesto **16B** se preparó de manera análoga a la preparación del compuesto **5B** usando *cis-ter*-butil 3-etnilciclobutancarboxilato (intermediario **I**) y 2-bromo-4-(trifluorometil)pirimidina en lugar de *cis-ter*-butil (2S)-2-[(3-etnilciclobutancarbonil)-metil-

amino]-3-metil-butanoato (compuesto **1G**) y 2-yodopirimidina.

Ejemplo 18

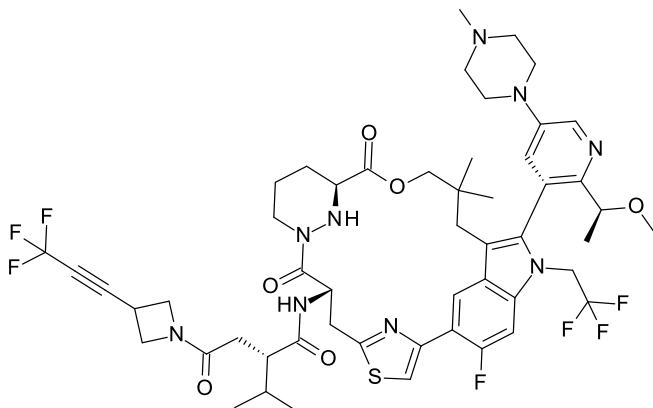
***N*-[[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carboxamida**



El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1a** al usar ácido (2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidin-1-carbonil]amino]butanoico (compuesto **2E**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-[4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il]-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **E**) en lugar de ácido *trans*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo **18** (24,8 mg) se obtuvo como un sólido amarillo. MS calculada 1157,5 (MH⁺), medida 1157,5 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,71 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,41 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,73 - 7,64 (m, 2H), 7,48 (d, *J* = 12,4 Hz, 1H), 5,79 - 5,72 (m, 1H), 5,23 - 5,16 (m, 1H), 4,44 - 4,28 (m, 4H), 4,25 - 3,99 (m, 4H), 3,83 - 3,73 (m, 1H), 3,72 - 3,69 (m, 1H), 3,50 - 3,42 (m, 5H), 3,40 - 3,36 (s, 3H), 3,25 - 3,14 (m, 3H), 2,91 - 2,82 (m, 9H), 2,66 (d, *J* = 14,4 Hz, 1H), 2,24 - 2,16 (m, 2H), 1,99 - 1,91 (m, 1H), 1,91 - 1,68 (m, 1H), 1,68 - 1,55 (m, 1H), 1,48 - 1,45 (m, 3H), 0,99 - 0,91 (m, 11H), 0,51 (s, 3H).

Ejemplo 19

(2S)-N-[(7S,13S)-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]-2-isopropil-4-oxo-4-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidín-1-il]butanamida



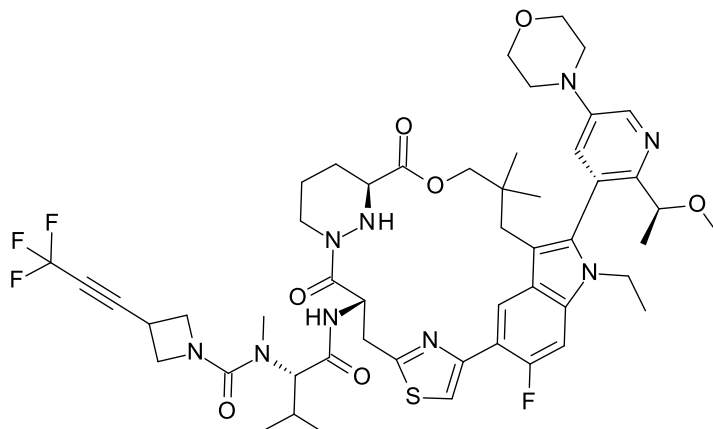
El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo 4 usando ácido (2S)-4-*ter*-butoxi-2-isopropil-4-oxo-butanoico y 3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidina (compuesto **19B**) en lugar de BOC-*N*-ME-VAL-OH y ácido 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoico (compuesto **4C**). El ejemplo 19 (30,6 mg) se obtuvo como un sólido blanco. MS calculada 1074,4 (MH⁺), medida 1074,4 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 8,67 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 8,50 (d, *J* = 2,8 Hz 1H), 7,76 - 7,68 (m, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,50 - 7,44 (m, 1H), 5,78 - 5,66 (m, 1H), 5,22 - 5,13 (m, 1H), 4,98 - 4,89 (m, 2H), 4,57 - 4,48 (m, 1H), 4,46 - 4,39 (m, 1H), 4,35 - 4,27 (m, 1H), 4,26 - 4,16 (m, 3H), 4,14 - 4,04 (m, 1H), 4,04 - 3,99 (m, 1H), 3,98-3,92 (m, 1H), 3,82 - 3,76 (m, 1H), 3,74 - 3,62 (m, 3H), 3,59-3,52 (m, 1H), 3,50-3,39 (m, 2H), 3,38 - 3,33 (m, 4H), 3,21 - 3,09 (m, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,86 - 2,70 (m, 2H), 2,64 - 2,44 (m, 2H), 2,26 - 2,14 (m, 2H), 2,00 - 1,88 (m, 2H), 1,86 - 1,73 (m, 1H), 1,70 - 1,58 (m, 1H), 1,45 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H), 1,26-1,06 (m, 1H), 1,03 - 0,92 (m, 9H), 0,53 - 0,41 (m, 3H).

El compuesto **19B** se preparó de manera análoga a la preparación del compuesto **9g** usando *ter*-butil 3-etinilazetidín-1-carboxilato (compuesto **2A**) en lugar de *trans ter*-butil 4-etinilciclohexancarboxilato (compuesto **9e**).

Ejemplo 20

N-[(1S)-1-[[[(7S,13S)-21-etil-24-fluoro-(20M)-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)azetidín-1-

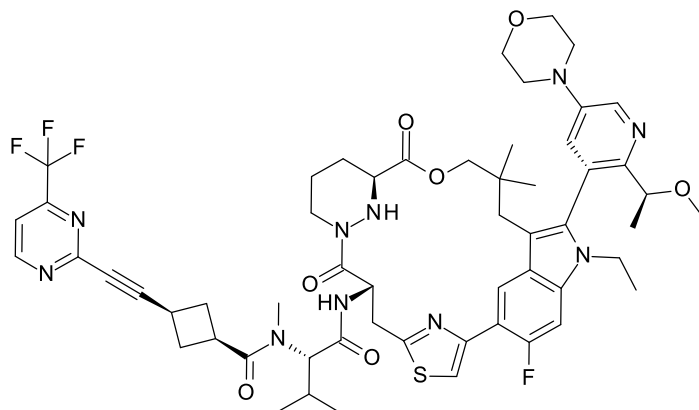
carboxamida



El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido (2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-ínil)azetidín-1-carbonil]amino]butanoico (compuesto **2E**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **G**) en lugar de ácido *trans*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-[3-(3,3,3-trifluoroprop-1-ínil)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo **20** (8,8 mg) se obtuvo como un sólido amarillo. MS calculada 1022,5 (MH⁺), medida 1022,5 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8,55 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 8,50 - 8,39 (m, 2H), 7,67 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 12,8 Hz, 1H), 7,30 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 5,53 - 5,41 (m, 1H), 5,14 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,31 - 4,21 (m, 4H), 4,21 - 4,05 (m, 5H), 4,05 - 3,98 (m, 2H), 3,81 - 3,70 (m, 6H), 3,57 (s, 2H), 3,26 - 3,23 (m, 3H), 3,20 (s, 3H), 2,93 - 2,84 (m, 1H), 2,78 - 2,68 (m, 4H), 2,11 - 2,03 (m, 2H), 1,88 - 1,67 (m, 2H), 1,58 - 1,45 (m, 1H), 1,33 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H), 1,23 (s, 1H), 0,95 - 0,83 (m, 10H), 0,79 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,37 (s, 3H).

Ejemplo 21

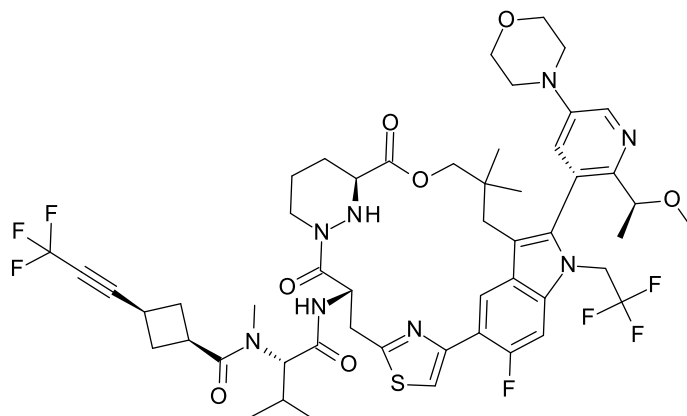
cis-*N*-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-[2-[4-(trifluorometil)pirimidin-2-il]etínil]ciclobutancarboxamida



El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo 4 usando ácido *cis*-3-[2-[4-(trifluorometil)pirimidin-2-il]etinil]ciclobutancarboxílico (compuesto **16B**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-21-etil-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo-[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **G**) en lugar de ácido 4-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)benzoico (compuesto **4C**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo 21 (22,8 mg) se obtuvo como un sólido blanco. MS calculada 1099,5 (MH⁺), medida 1099,5 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, Metanol-*d*₄) δ = 9,03 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 8,66 - 8,61 (m, 1H), 8,40 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,78 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 7,62 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,32 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,25 (d, *J* = 12,8 Hz, 1H), 5,71 (br d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,92-4,88 (m, 1H), 4,80-4,76 (m, 1H), 4,47 - 4,38 (m, 1H), 4,27 - 4,22 (m, 1H), 4,21-4,16 (m, 2H), 3,88 - 3,84 (m, 4H), 3,78 - 3,69 (m, 2H), 3,56 - 3,48 (m, 1H), 3,46 - 3,36 (m, 2H), 3,28-3,26 (m, 3H), 3,05 - 2,92 (m, 5H), 2,86 - 2,52 (m, 8H), 2,25 - 2,17 (m, 2H), 1,99 - 1,92 (m, 1H), 1,88 - 1,74 (m, 1H), 1,68 - 1,57 (m, 1H), 1,42 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 1,34 - 1,28 (m, 1H), 1,12 - 1,02 (m, 1H), 0,99 - 0,84 (m, 12H), 0,53 - 0,45 (m, 3H).

Ejemplo 22

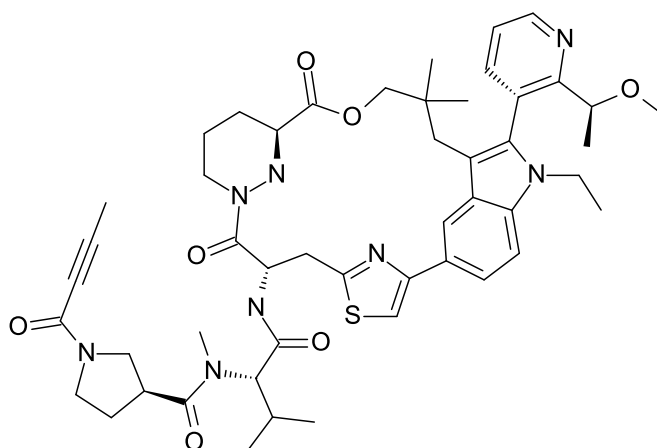
cis-*N*-[(1*S*)-1-[[[(7*S*,13*S*)-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamoil]-2-metil-propil]-*N*-metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-inil)ciclobutancarboxamida



El compuesto del título se preparó de manera análoga a la preparación del ejemplo **1** usando ácido (2*S*)-3-metil-2-[metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-yn-1-yl)azetidín-1-carbonil]amino]butanoico (compuesto **2E**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-morfolino-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **K**) en lugar de ácido *trans*-(2*S*)-3-metil-2-[metil-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-yn-1-yl)ciclobutancarbonil]amino]butanoico (compuesto **1I**) y (7*S*,13*S*)-7-amino-24-fluoro-(20*M*)-20-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)-3-piridil]-17,17-dimetil-21-(2,2,2-trifluoroetil)-15-oxa-4-tia-9,21,27,28-tetrazapentaciclo[17.5.2.1^{2,5}.1^{9,13}.0^{22,26}]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-8,14-diona (intermediario **C**). El ejemplo **22** (41,5 mg) se obtuvo como un sólido blanco. MS calculada 1075,4 (MH⁺), medida 1075,4 (MH⁺). ¹H RMN (400MHz, METANOL-*d*₄) δ = 8,80 - 8,63 (d, *J* = 7,2Hz, 1H), 8,44 - 8,36 (d, *J* = 2,8Hz, 1H), 7,71 - 7,61 (m, 2H), 7,53 - 7,42 (d, *J* = 12,8Hz, 1H), 5,76 - 5,63 (m, 1H), 5,27 - 5,11 (m, 2H), 4,80 - 4,72 (m, 1H), 4,49 - 4,36 (m, 1H), 4,34 - 4,13 (m, 2H), 3,94 - 3,84 (m, 4H), 3,83 - 3,76 (m, 1H), 3,75 - 3,67 (m, 1H), 3,58 - 3,43 (m, 2H), 3,39 - 3,35 (m, 6H), 3,29 - 3,23 (m, 1H), 3,17 - 3,09 (m, 1H), 2,98 - 2,90 (m, 3H), 2,88 - 2,77 (m, 1H), 2,75 - 2,60 (m, 3H), 2,56 - 2,43 (m, 2H), 2,30 - 2,15 (m, 2H), 2,04 - 1,91 (m, 1H), 1,90 - 1,74 (m, 1H), 1,72 - 1,56 (m, 1H), 1,51 - 1,43 (d, *J* = 6,0Hz, 3H), 1,41 - 1,34 (d, *J* = 6,4Hz, 1H), 1,22 - 1,14 (d, *J* = 6,4Hz, 1H), 1,09 - 1,03 (d, *J* = 6,4Hz, 1H), 1,01 - 0,95 (m, 5H), 0,92 - 0,80 (m, 3H), 0,55 - 0,45 (m, 3H).

EJEMPLO BIOLÓGICO

El compuesto A168 (página 81 de la tabla.1) de WO2021091982 se citó como compuesto de referencia para esta invención.



(A168)

Ejemplo 23

Velocidades de reacción de GSH

El glutatión (GSH) es un tripéptido que se encuentra en la mayoría de los tejidos, especialmente en altas concentraciones en el hígado, y cumple una función esencial al proteger a las células del daño oxidativo y la toxicidad de electrófilos xenobióticos, y al mantener la homeostasis redox. Más específicamente, la conjugación de glutatión ayuda a contribuir a la desintoxicación al unir electrófilos que, de otro modo, podrían unirse a proteínas o ácidos nucleicos, lo que da como resultado daño celular y mutaciones genéticas.

Muchos xenobióticos electrófilos potencialmente tóxicos y algunos compuestos endógenos se desintoxican mediante conversión en el conjugado S de glutatión correspondiente, que consume GSH inherente y luego reduce los efectos de desintoxicación. Algunos fármacos y contaminantes halogenados de lugar de trabajo/ambientales son bioactivados mediante este mecanismo.

Por otra parte, la conjugación entre el glutatión y la molécula del fármaco en órganos extrahepáticos así como en el hígado habitualmente produce las propiedades deficientes de PK (depuración notablemente alta) de la molécula, y aumenta su posibilidad de reactividad no diana (desventaja potencial de diversas toxicidades). Por lo tanto, la estrategia de minimizar el metabolismo de GSH es muy esencial. La $T_{1/2}$ corta en reacción de GSH inherente indicó alta velocidad de reacción de GSH. Por lo tanto, la $T_{1/2}$ en ensayo de reacción de GSH inherente se determinó para el cribado de candidatos.

Los compuestos de referencia y los compuestos de esta invención podrían, potencialmente, formar conjugación con GSH a través de reacción de sustitución de porciones halogenadas o reacción directa de adición de Michael. Por lo tanto, esta

prueba se llevó a cabo para evaluar la reactividad de GSH de los compuestos enumerados.

Para la determinación de la reactividad de GSH inherente, los compuestos a 1 μ M se incubaron a 37 °C con y sin 5 mM de GSH para 0, 0,5, 1, 2, 4 y 6 h en 100 mM de amortiguador de fosfato de potasio a pH 7,4. Al final de los puntos temporales designados, las muestras se inactivaron con acetonitrilo que contiene 10 mM de N-etilmaleimida y un estándar interno. Las muestras activadas se centrifugaron, y los sobrenadantes se analizaron mediante LC-MS/MS para cuantificación de compuesto. Si el % de disminución después de 6 horas de incubación es menor de 20 %, los compuestos se informan como estables; si el % de disminución es mayor de 20 %, se informan los valores de semivida.

Tabla 1. Velocidades de reacción de GSH de los ejemplos y compuestos de la presente invención

Ejemplo	T1/2(hora) en GSH	Restante a 6 h en GSH (%)
A168	28,9	77
Ejemplo 3	Estable	100
Ejemplo 8	Estable	90
Ejemplo 11	Estable	94

El resultado anterior muestra claramente que los compuestos de referencia (A168) formaron conjugación con GSH, lo que causó su disminución durante 6 horas mientras que los compuestos de la presente invención mantuvieron la estabilidad con mucha menos conjugación o sin conjugación con GSH.

Ejemplo 24

Estudio de farmacocinética de dosis única (SDPK) en ratones hembra BALB/c

El objetivo de este estudio fue determinar la farmacocinética de compuestos seleccionados luego de la administración única de bolo intravenoso o sonda nasogástrica en ratones hembra BALB/c. Brevemente, dos grupos de ratones hembra BALB/c (disponibles de Zhejiang Vital River Laboratory Animal Technology Co., Ltd. o Shanghai Lingchang Biotechnology Co., Ltd) (N=3/grupo) se trataron con una dosis única de compuesto por vía intravenosa a 3 mg/kg (IV) u oral a 30 mg/kg (PO). Las muestras de sangre se recolectaron a los 5 min (solo por IV), 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 7 h y 24 h posteriores a la dosis. Las muestras de sangre se colocaron en hielo hasta la centrifugación para obtener muestras de plasma. La concentración de compuesto en

muestras de plasma se determinó mediante el uso del método LC-MS/MS. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante análisis no compartimental.

Tabla 2. Resultados de SDPK

compuesto	3mg/kg, iv	30 mg/kg, po	
	CL (ml/min/kg)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{0-último} (h*ng/ml)
A168	77	794	1583
Ejemplo 11	14,2	1510	2176

De la tabla 2, se puede observar que el ejemplo 11 tiene buenas propiedades farmacocinéticas en modelo de ratón. Especialmente, el ejemplo 11 tiene las casi 2 veces de C_{máx}, 1,5 veces de AUC_{0-último} y una depuración mucho menor que A168, lo cual hace que el ejemplo 11 sea más adecuado para tratar cáncer con mutación de KRAS como un ingrediente activo oralmente terapéutico en la clínica.

Ejemplo 25

Ensayo de estabilidad de hepatocitos humanos

El ensayo de estabilidad de hepatocitos mide la tasa de desaparición de un compuesto de incubaciones con hepatocitos de suspensión criopreservados de seres humanos. Los controles positivos, que incluyen midazolam, raloxifeno y dextrometorfano, se incluyen en cada experimento. Las incubaciones consisten en 1 μ M de compuesto evaluado y suspensión de hepatocitos humanos (1×10^6 células/ml) en medio E de Williams suplementado con 10 % de FBS y 0,5 % de penicilina-estreptomicina. La suspensión de hepatocitos se incubó con agitación intermitente de 900 rpm a 37 °C, en una incubadora de 5 % de CO₂. La reacción se detuvo al agregar estándar interno que contiene metanol (2 μ M de tolbutamida) a 2, 10, 20, 40, 60 y 120 minutos después de la adición de compuesto, la disminución del compuesto de origen se monitoreó mediante análisis LC-MS/MS. Para datos humanos, CL_{hep} (ml/min/kg) >16,24 es depuración alta, CL_{hep} (ml/min/kg) < 6,96 es depuración baja. 16,24 < CL_{hep} (ml/min/kg) >6,96 es depuración media.

Tabla 3. Estabilidad de hepatocitos humanos de los ejemplos y compuestos de la presente invención

Ejemplo	CL _{hep} (Humano) (ml/min/kg)	Categoría de depuración
A168	8,8	media
Ejemplo 3	3,6	baja
Ejemplo 8	2,9	baja
Ejemplo 11	3,3	baja

Alcanzar una depuración baja es ventajoso para mejorar el rendimiento *in vivo* del compuesto, tal como reducción de dosis, mejor exposición y prolongación de semivida. El resultado anterior muestra claramente que los compuestos de referencia (**A168**) mostraron depuración media mientras que los compuestos de la presente invención mantuvieron la depuración baja en el ensayo de estabilidad de hepatocitos humanos.

Ejemplo 26

Ensayo de viabilidad celular

El objetivo de este ensayo celular fue determinar los efectos de los compuestos de prueba sobre la proliferación de líneas celulares de cáncer humano de células NCI-H358 (ATCC-CRL5807), células AGS (ATCC-CRL-1739), SW620 (ATCC-CCL-227) en un período de tratamiento de 3 días al cuantificar la cantidad de NADPH presente en el criterio de valoración mediante el uso del kit de recuento de células 8.

Las células se sembraron a 5.000 células/cavidad (NCI-H358), 2.000 células/cavidad (AGS), 2.000 células/cavidad (SW620) en placas de ensayo de 96 cavidades (Corning-3699) y se incubaron durante la noche. El día del ensayo, los compuestos diluidos luego se agregaron en una concentración final de 0,5 % de DMSO. Luego de incubación de 72 h, se agregó un décimo del volumen del kit de recuento celular 8 (Dnjindo-CK04) en cada cavidad. Se leyó la señal (OD450 menos OD650) mediante el uso de EnVision luego de incubación de 2 h. IC₅₀ se determinó al ajustar un modelo de respuesta de concentración sigmoideal de 4 parámetros.

Tabla 4. Actividad de ejemplos y compuestos de la presente invención en ensayo de viabilidad celular de KRAS

Ejemplo	G12C IC50 (μM)	G12D IC50 (μM)	G12V IC50 (μM)
A168	0,011	2,192	0,121
Ejemplo 1	0,027	>10	0,040
Ejemplo 2	0,002	0,020	0,010
Ejemplo 3	0,003	3,573	2,178
Ejemplo 4	0,123	0,781	0,041
Ejemplo 5	0,007	0,536	0,230
Ejemplo 6	<0,001	2,836	4,734
Ejemplo 7	0,023	>5	>5
Ejemplo 8	0,019	>5	>5
Ejemplo 9	0,436	>5	>5
Ejemplo 10	0,078	0,876	>5
Ejemplo 11	0,002	>10	1,374
Ejemplo 12	0,033	3,098	0,360
Ejemplo 13	0,006	0,328	0,036
Ejemplo 14	0,001	>10	0,007
Ejemplo 16	0,011	0,743	0,237
Ejemplo 18	0,006	>10	>10
Ejemplo 19	0,166	3,339	0,653
Ejemplo 20	0,025	>10	0,119
Ejemplo 21	0,020	0,231	0,222
Ejemplo 22	0,012	>10	0,152

Ejemplo 27

Ensayo NanoBit de KRAS G12C-BRAF

Este ensayo mide la capacidad de los compuestos evaluados en la interrupción del

complejo KRAS G12C-BRAF a nivel celular, se estableció el ensayo celular NanoBit en células de mamíferos HEK293 (ATCC).

Las células HEK293 se cultivaron y mantuvieron usando medio DMEM (Thermo Fisher Scientific) con 10 % de suero bovino fetal y 1 % de penicilina/estreptomicina. Tanto KRAS G12C como BRAF RBD se clonaron en los vectores de NanoBit (sistema de vectores BiBit, Promega) con las orientaciones SmBit-KRAS G12C y BRAF RBD-LgBit, respectivamente, y se cotransfectaron en células HEK293. Luego, las células se seleccionaron con 100 µg/ml de higromicina B (10687010, Thermo Fisher) y blasticidina (5 µg/ml) durante 4 semanas para obtener el grupo de células estables.

El día del ensayo, 75 nl de solución de compuesto se presentó en una placa de ensayo de 384 cavidades como una dilución de 3 veces de 16 puntos empezando desde una concentración final de 30 µM en DMSO. Luego, las células se sembraron a 10.000 células/25µl/cavidad en una placa de 384 cavidades. Después de 3 horas de incubación, se agregó 6µl de volumen de sustrato de células vivas Nano-Glo® (Promega) en cada cavidad. Luminiscencia de monitor usando modelo ultra384 en Envision a 20 minutos. Los compuestos que facilitaron la interrupción del complejo KRAS G12C-BRAF RBD se identificaron como aquellos que producen una disminución de luminiscencia con respecto a las cavidades de control de DMSO.

Tabla 5. Actividad de los ejemplos y compuestos de la presente invención en ensayo NanoBit de KRAS G12C-BRAF

Ejemplo	IC ₅₀ (µM)
A168	0,205
Ejemplo 1	0,081
Ejemplo 2	0,018
Ejemplo 3	0,036
Ejemplo 4	0,219
Ejemplo 5	0,106
Ejemplo 6	0,029
Ejemplo 7	0,335
Ejemplo 8	0,054
Ejemplo 9	0,418
Ejemplo 10	0,12

Ejemplo 11	0,012
Ejemplo 12	0,067
Ejemplo 13	0,220
Ejemplo 14	0,036
Ejemplo 16	0,209
Ejemplo 18	0,240
Ejemplo 19	0,075
Ejemplo 20	0,084
Ejemplo 21	0,085
Ejemplo 22	0,036

Ejemplo 28

Ensayo de interacción de KRAS-BRAF con CYPA (500 nM)

En este ejemplo, TR-FRET también se usó para medir el compuesto o la interrupción dependiente del compuesto CYPA del complejo KRAS G12C-BRAF. Este protocolo también se usó para medir la interrupción de KRAS G12D o KRAS G12V que se une a BRAF mediante un compuesto de la invención, respectivamente. En un amortiguador de ensayo que contiene 25mM de HEPES PH=7,4 ácido (4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetansulfónico, Thermo, 15630080), 0,002 % de Tween20, 0,1 % de BSA, 100 mM de NaCl, 5 mM de MgCl₂, 10 µM de GMPPNP (guanosina 5'-[β,γ-imido]trifosfato sal de trisodio hidrato, Sigma, G0635), CYPA sin etiquetar, proteínas 6His-KRAS cargadas con GMPPNP y GST-BRAF^{RBD} se mezclaron en una cavidad de una placa de ensayo de 384 cavidades a concentraciones finales de 50 nM, 6,25 nM y 1nM, respectivamente. El compuesto estaba presente en cavidades de placa como en una serie de dilución de 3 veces de 16 puntos empezando a una concentración final de 10 µM e incubado durante 3 horas. Luego, se agregó una mezcla de MAb Anti-6His-XL665 (Cisbio, 61HISXLB) y criptato de Mab anti-GST-TB (Cisbio, 61GSTTLB) a una concentración final de 6,67 nM y 0,21 nM, respectivamente, y la placa se incubó durante 1,5 horas adicionales. La señal de TR-FRET se leyó en un lector de microplacas PHERstar FSX (Ex320 nm, Em 665/615 nm). Los compuestos que facilitan la interrupción del complejo KRAS-BRAF se identificaron como aquellos que producen una disminución en la relación TR-FRET con respecto a las cavidades de control de DMSO.

Tabla 6. Actividad de ejemplos y compuestos de la presente invención en ensayo de interacción de KRAS-BRAF con CYPA (500 nM)

Ejemplo	G12C IC₅₀ (μM)	G12D IC₅₀ (μM)	G12V IC₅₀ (μM)
A168	0,173	>10	3,618
Ejemplo 1	3,353	>10	>10
Ejemplo 2	1,788	>10	6,740
Ejemplo 3	0,099	>10	>10
Ejemplo 4	0,430	0,142	>10
Ejemplo 5	0,128	9,945	1,101
Ejemplo 6	0,021	>10	>10
Ejemplo 7	>10	>10	>10
Ejemplo 8	0,118	>10	>10
Ejemplo 9	0,819	3,015	1,979
Ejemplo 10	>10	1,911	1,485
Ejemplo 11	0,065	>10	>10
Ejemplo 12	0,063	1,466	0,484
Ejemplo 13	0,065	>10	>10
Ejemplo 14	1,665	4,296	1,884
Ejemplo 19	0,240	>10	2,252

Ejemplo 29

Ensayo de inhibición de pERK

Este ensayo mide la capacidad de compuestos de prueba al inhabilitar la fosforilación de ERK, la señalización corriente abajo de KRAS G12C en células NCI-H358, KRAS G12D en células AGS, y KRAS G12V en SW620. Las células NCI-H358 (ATCC-CRL5807), células AGS (ATCC-CRL-1739), células SW620 (ATCC-CCL-227) se cultivaron y mantuvieron mediante el uso de medio RPMI-1640 (Thermo Fisher Scientific) con 10 % de suero fetal bovino y 1 % de penicilina/estreptomicina. El día anterior a la adición de compuesto, las células se colocaron en placas de 96 cavidades tratadas con cultivo de

tejido (Corning-3699) a una densidad de 30.000 célula/cavidad, 20.000 célula/cavidad, 30.000 célula/cavidad para NCI-H358, AGS y SW620 respectivamente, y se unieron durante la noche. Luego, los compuestos diluidos se agregaron en una concentración final de 0,5 % de DMSO. Después de 4 horas de incubación, el medio se eliminó, se agregó 100 µl de 4 % de formaldehído, y las placas de ensayo se incubaron a temperatura ambiente durante 20 minutos. Luego, las placas se lavaron una vez con solución salina amortiguada con fosfato (PBS), y se permeabilizaron con 100 µl de metanol enfriado durante 10 minutos. Se bloqueó el anticuerpo no específico que se unía a las placas usando 50 µl de 1X BSA que bloquea el amortiguador (Thermo-37520, dilución de 10 veces mediante solución salina amortiguada con fosfato Tween (PBST) durante al menos 1 hora a temperatura ambiente.

La cantidad de fosfor-ERK se determinó usando un anticuerpo específico para forma fosforilada de ERK. El anticuerpo primario (pERK, CST-4370, Cell Signaling Technology) se diluyó 1:300 en amortiguador de bloqueo, con alícuotas de 50 µl en cada cavidad, y se incubó durante la noche a 4 °C. Las células se lavaron cinco veces durante 5 minutos con PBST. El anticuerpo secundario (IgG anti-conejo unido a HRP, CST-7074, Cell Signaling Technology) se diluyó 1:1000 en amortiguador de bloqueo, y se agregó 50 µl a cada cavidad y se incubó 1-2 horas a temperatura ambiente. Las células se lavaron 5 veces durante 5 minutos con PBST, se agregó 100µl de sustrato TMB ELISA (abcam-ab171523) y se agitó lentamente durante 20 minutos. Se agregó 50 µl de solución de detención (abcam-ab171529) y luego se leyó la señal (OD450) mediante EnVision.

IC₅₀ se determinó al ajustar un modelo de respuesta de concentración sigmoideal de 4 parámetros.

Tabla 7. Actividad de los ejemplos y compuestos de la presente invención en ensayo de inhibición de KRAS pERK

Ejemplo	G12C IC₅₀ (µM)	G12D IC₅₀ (µM)	G12V IC₅₀ (µM)
A168	0,053	N.A.	0,176
Ejemplo 1	0,035	1,100	0,063
Ejemplo 2	0,013	N.A.	0,007
Ejemplo 3	0,007	0,378	0,009
Ejemplo 4	0,063	0,509	0,006
Ejemplo 5	0,058	0,145	<0,001

Ejemplo 6	0,002	N.A.	0,008
Ejemplo 7	1,102	N.A.	0,099
Ejemplo 8	0,005	>10	0,125
Ejemplo 9	0,292	1,766	0,498
Ejemplo 10	0,048	0,152	0,065
Ejemplo 11	0,011	3,768	0,187
Ejemplo 12	0,092	0,667	0,201
Ejemplo 13	0,045	1,809	0,056
Ejemplo 14	0,005	0,020	0,003
Ejemplo 15	0,020	>10	0,021
Ejemplo 16	0,021	>10	0,031
Ejemplo 18	0,051	>10	0,048
Ejemplo 19	0,221	>10	0,198
Ejemplo 20	0,093	2,512	0,096
Ejemplo 21	0,019	>10	0,076
Ejemplo 22	0,013	0,172	0,078

Ejemplo 30

Ensayo de viabilidad celular y líneas celulares mutantes de KRAS estables.

El objetivo del estudio fue determinar la potencia y eficacia de compuestos para proliferación celular mediante el uso del ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® (CTG) (Promega Corp., Madison, WI). Se clonaron 14 secuencias de variante de KRAS^{G12C} con mutaciones secundarias (V8A, V9Y, S17E, T58I, A59T, S65W, R68S, D69P, M72I, D92R, H95N, Y96D, Q99F, Q99W, Y96H y F156L) en el Miapaca-2. En total, se establecieron 14 líneas celulares mutantes de Miapaca-2 estables a través de infección por lentivirus. Para el ensayo de viabilidad celular, a las células se administraron compuestos en una respuesta a la dosis de 9 puntos mediante el uso de una serie de dilución en 4 veces a una dosis superior de 10µM. Las células mutantes de KRAS se mantuvieron en DMEM+10 % de FBS+2,5 % de suero de caballo HI+1 % de PS+ 1µg/ml de puromicina y se sembraron en placas de 96 cavidades a 800-1.500 células por

cavidad 24 h antes de la adición de compuesto y luego se incubaron con compuesto durante 3 d antes de ensayar la viabilidad (CellTiter-Glo, Promega). Los ensayos se llevaron a cabo en duplicados biológicos. Las curvas de regresión no lineal se ajustaron mediante el uso de Xfit. IC50 (IC50 absoluta) es la dosis a la cual la viabilidad estimada es 50 % con respecto a cavidades no tratadas. La tasa de inhibición del compuesto se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: $\% \text{ de inhibición} = 100 - 100 \times (\text{valor de luminiscencia-HPE}) / (\text{ZPE-HPE})$.

HPE: Valor de luminiscencia de las cavidades con solo medio

ZPE: Valor de luminiscencia de las cavidades con DMSO

Tabla 8. viabilidad celular (IC50 (μM)) en células mutantes con KRAS G12C y otras mutaciones

	G12C + V8A	G12C + V9Y	G12C + S17E	G12C + A59T	G12C + T58I	G12C + D60P	G12C + S65W	G12C + R68S	G12C + M72I	G12C + D92R	G12C + H95N	G12C + Y96D	G12C + Q99W	G12C + F156L
Ejemplo 11	0,001	0,003	0,003	0,032	0,003	0,097	0,003	0,022	0,001	0,002	0,003	0,006	0,003	0,003