INHIBIDORES DE RAS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica el beneficio de la prioridad de la solicitud de EE. UU. núm. 63/184,618, presentada el 5 de mayo de 2021, la cual se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia.

Antecedentes

La gran mayoría de los fármacos de molécula pequeña actúan uniéndose a una cavidad funcionalmente importante en una proteína diana, modulando así la actividad de dicha proteína. Por ejemplo, medicamentos para reducir el colesterol conocidos como estatinas se unen al sitio activo en la enzima de HMG-CoA reductasa, mediante lo cual se evita que la enzima se acople con sus sustratos. El hecho de que muchos de dichos pares que interactúan con el fármaco/diana son conocidos puede haber llevado al error de creer que podría descubrirse un modulador de molécula pequeña para la mayoría, si no todas, de las proteínas en caso de contar con cantidad de tiempo, esfuerzo y recursos razonables. Esto dista mucho de la realidad. Los cálculos actuales establecen que solamente aproximadamente 10 % de todas las proteínas humanas pueden ser tomadas como objetivos por moléculas pequeñas. Bojadzic y Buchwald, Curr Top Med Chem 18: 674-699 (2019). Actualmente, el otro 90 % se considera refractario o intratable hacia el descubrimiento anteriormente mencionado de fármacos de moléculas pequeñas. Dichas dianas se denominan comúnmente “no quimiomodulables”. Estas dianas no quimiomodulables incluyen un gran reservorio inexplorado de proteínas humanas importantes en términos médicos. Por lo tanto, existe un gran interés de descubrir nuevas modalidades moleculares capaces de modular la función de dichas dianas no tratables con fármaco.

Se ha establecido en la bibliografía que las proteínas Ras (K-Ras, H-Ras y N-Ras) tienen una función importante en varios cánceres humanos y, por lo tanto, son objetivos apropiados para la terapia anticancerosa. De hecho, las mutaciones en las proteínas Ras representan aproximadamente 30 % de todos los cánceres humanos en Estados Unidos, muchos de los cuales son fatales. La desregulación de proteínas Ras por mutaciones de activación, sobreexpresión o activación secuencia arriba es común en tumores humanos, y las mutaciones de activación en Ras se encuentran frecuentemente en cáncer humano. Por ejemplo, las mutaciones de activación en el codón 12 en las proteínas Ras funciona al inhibir las tasas de hidrólisis de GTP tanto intrínsecas como dependientes de la proteína activadora de GTPasa (GAP), lo que sesga significativamente la población de proteínas mutantes Ras al estado “encendido” (unido a GTP) (Ras(ON)), lo que lleva a una señalización de MAPK oncogénica. Cabe destacar que Ras presenta afinidad picomolar por GTP, lo que permite que Ras se active incluso en presencia de concentraciones bajas de este nucleótido. Las mutaciones en los codones 13 (por ejemplo, G13D) y 61 (por ejemplo, Q61K) de Ras también son responsables de

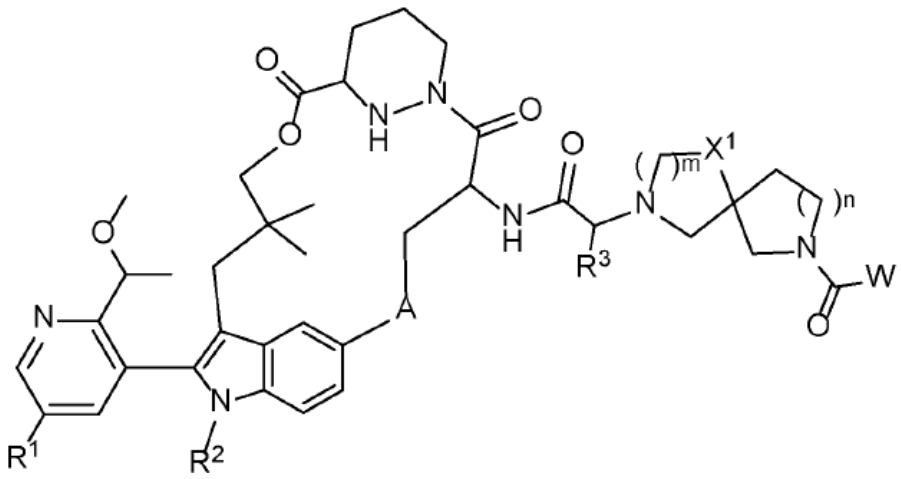
la actividad oncogénica en algunos cánceres.

Pese a los esfuerzos de descubrimiento de fármaco extensivo contra Ras durante las últimas décadas, todavía no se aprueba un fármaco que se dirige directamente a Ras. Se necesitan esfuerzos adicionales para descubrir medicinas adicionales para cánceres impulsados por varias mutaciones de Ras.

Resumen

En la presente se proporcionan inhibidores de Ras. El enfoque descrito en la presente implica la formulación de un complejo, o conjugado, de tres componentes de alta afinidad entre un ligando sintético y dos proteínas intracelulares que no interactúan en condiciones fisiológicas normales: la proteína diana de interés (por ejemplo, Ras) y una chaperona citosólica expresada ampliamente (proteína presentador) en la célula (por ejemplo, ciclofilina A). Más específicamente, en algunas modalidades, los inhibidores de Ras descritos en la presente inducen una nueva cavidad de unión en Ras al impulsar la formación de un complejo, o conjugado, triple de alta afinidad entre la proteína Ras y la chaperona citosólica expresada ampliamente, ciclofilina A (CYPA). Sin estar ligados a ninguna teoría, los inventores creen que una forma en que los compuestos de la invención y los complejos o conjugados que forman efectúan el efecto inhibidor sobre Ras es mediante la oclusión estérica del sitio de interacción entre Ras y las moléculas efectoras situadas secuencia abajo, tales como RAF y PI3K, necesarios para propagar la señal oncogénica.

De este modo, en algunas modalidades, la invención presenta un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable de este, de Fórmula estructural I:



Fórmula I

en donde A es heterocicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

W es un grupo reticulante que comprende una aziridina, un epóxido, una carbodiimida, una oxazolina, una tiazolina, una cloroetil urea, una cloroetil tiourea, un carbamato de cloroetilo, un tiocarbamato de cloroetilo, una trifluorometilcetona, un ácido borónico, un éster borónico, una

N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), un iso-EEDQ u otro derivado de EEDQ, un oxazolio o un glical;

X^1 es CH_2 u O;

m es 1 o 2;

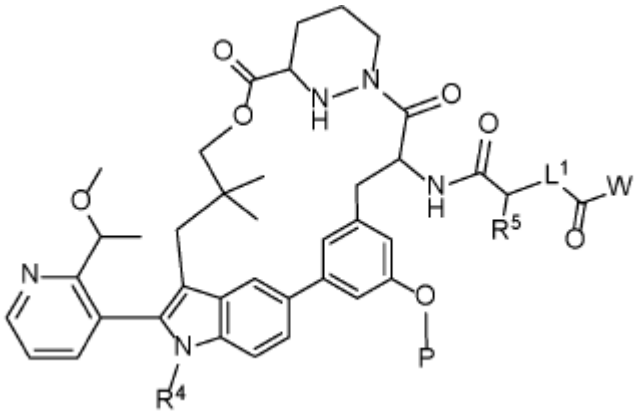
n es 0 o 1;

R^1 es hidrógeno o heterocicloalquilo de 3 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

R^2 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido; y

R^3 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, la invención también presenta un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, de Fórmula estructural III:



Fórmula III

en donde P es -(CO)R^9, -(PO)$(OH)_2$, o -Si$(R^{10})_3$;

W es un grupo reticulante que comprende una aziridina, un epóxido, una carbodiimida, una oxazolina, una tiazolina, una cloroetil urea, una cloroetil tiourea, un carbamato de cloroetilo, un tiocarbamato de cloroetilo, una trifluorometilcetona, un ácido borónico, un éster borónico, una N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), un iso-EEDQ u otro derivado de EEDQ, un oxazolio o un glical:

L^1 es heterocicloalquileno de 3 a 9 miembros opcionalmente sustituido o heteroalquileno C_2-C_4 opcionalmente sustituido;

R^4 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido;

R^5 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido;

R^9 es alquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido; y cada R^{10} es, independientemente, alquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, la invención también presenta un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, seleccionado de la Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3, Tabla 4, Tabla 5 o Tabla 6.

También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula I o de Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3, Tabla 4, Tabla 5 o Tabla 6 o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

También se proporciona un método para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, donde el método comprende administrarle al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona un método para tratar un trastorno relacionado con la proteína Ras en un sujeto que lo necesita, donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

También se proporciona un método para inhibir una proteína Ras en una célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Se contempla de forma específica que cualquier limitación mencionada con respecto a una modalidad de la invención puede aplicarse a cualquier otra modalidad de la invención. Asimismo, cualquier compuesto o composición de la invención se puede utilizar en cualquier método de la invención y cualquier método de la invención se puede utilizar para producir o utilizar cualquier compuesto o composición de la invención.

Definiciones y términos químicos

En esta solicitud, a menos que quede claro lo contrario del contexto, (i) el término “un/a” significa “un/a o más”; (ii) el término “o” se usa para significar “y/o”, a menos que se indique explícitamente que se refiere solo a alternativas o que las alternativas son mutuamente excluyentes, pese a que la invención admite una definición que se refiere solo a alternativas e “y/o”; (iii) se entiende que los términos “que comprende” y “que incluye” abarcan componentes o pasos detallados ya sea presentados en sí mismos o juntos con uno o más componentes o pasos adicionales; y (iv) en los casos en que se proporcionan intervalos, se incluyen los puntos finales.

En el presente documento, el término "aproximadamente" se utiliza para indicar que un valor incluye la desviación estándar del error del dispositivo o método utilizado para determinar el valor. En ciertas modalidades, el término "aproximadamente" se refiere a un rango de valores que se encuentran dentro del 25 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, o menos en cualquier dirección (mayor o menor que) de un valor declarado, a menos que se indique lo contrario o sea evidente por el contexto (por ejemplo, cuando dicho número exceda el 100 % de un valor posible).

Como se usa en la presente, el término “adyacente” en el contexto de describir átomos adyacentes se refiere a átomos bivalentes que se conectan directamente por un enlace

covalente.

Un "compuesto de la presente invención" y términos similares utilizados en el presente documento, ya sea que se indiquen explícitamente o no, se refieren a inhibidores de Ras descritos en el presente documento, incluidos compuestos de Fórmula I, Fórmula III o subfórmula de estos, y compuestos de la Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3, Tabla 4, Tabla 5 o Tabla 6, así como sales (por ejemplo, sales farmacéuticamente aceptables), solvatos, hidratos, estereoisómeros (incluidos atropisómeros) y tautómeros de estos.

El término “tipo salvaje” se refiere a una entidad que tiene una estructura o actividad tal como se encuentra en la naturaleza en un estado o contexto "normal" (en contraste con mutante, enfermo, alterado, etc.). Los expertos en la técnica apreciarán que los genes de tipo salvaje y los polipéptidos suelen existir en múltiples formas diferentes (por ejemplo, alelos).

Los expertos en la técnica apreciarán que ciertos compuestos descritos en el presente documento pueden existir en una o más formas isoméricas (por ejemplo, estereoisómeros, isómeros geométricos, atropisómeros, tautómeros) o isotópicas (por ejemplo, en las que uno o más átomos han sido sustituidos por un isótopo diferente del átomo, como el hidrógeno sustituido por deuterio) diferentes. A menos que se indique lo contrario o resulte evidente a partir del contexto, puede entenderse que una estructura ilustrada representa cualquiera de dichas formas isoméricas o isotópicas, de forma individual o combinada.

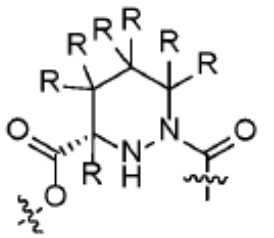
Los compuestos descritos en la presente pueden ser asimétricos (por ejemplo, con uno o más estereocentros). Se incluyen todos los estereoisómeros, por ejemplo, enantiómeros y diastereómeros, a menos que se indique lo contrario. Los compuestos de la presente invención que contienen átomos de carbono sustituidos asimétricamente se pueden aislar en formas ópticamente activas o racémicas. Se conocen en la técnica métodos sobre cómo preparar formas activas desde el punto de vista óptico con materiales de partida activos desde el punto de vista óptico, tal como mediante resolución de mezclas racémicas o mediante síntesis estereoselectiva. Muchos isómeros geométricos de olefinas, enlaces dobles C=N y similares también pueden estar presentes en los compuestos descritos en el presente documento, y todos esos isómeros estables se contemplan en la presente invención. Se describen los isómeros geométricos cis y trans de los compuestos de la presente invención y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas.

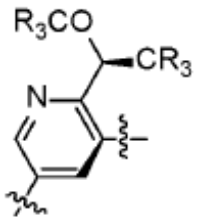
En algunas modalidades, uno o más compuestos ilustrados en la presente pueden existir en formas tautoméricas distintas. Como resultará evidente a partir del contexto, a menos que se excluya explícitamente, las referencias a dichos compuestos abarcan todas estas formas tautoméricas. En algunas modalidades, las formas tautoméricas se producen a partir del intercambio de un enlace simple por un enlace doble adyacente y de la migración simultánea de un protón. En determinadas modalidades, una forma tautomérica puede ser un tautómero prototrópico, que es una protonación isomérica con la misma fórmula empírica y carga total como forma de referencia. Ejemplos de restos con formas tautoméricas prototrópicas son pares cetona-

enol, pares amida-ácido imídico, pares lactama-lactima, pares amida-ácido imídico, pares enamina-imina y formas anulares donde un protón puede ocupar dos o más posiciones de un sistema heterocíclico, tal como 1H-imidazol y 3H-imidazol, 1H-1,2,4-triazol, 2H-1,2,4-triazol y 4H-1,2,4-triazol, 1H-isoindol y 2H-isoindol, y 1H-pirazol y 2H-pirazol. En algunas modalidades, las formas tautómeras pueden estar en equilibrio o encerradas estéricamente en una forma mediante una sustitución apropiada. En determinadas modalidades, las formas tautoméricas resultan de la interconversión de acetal.

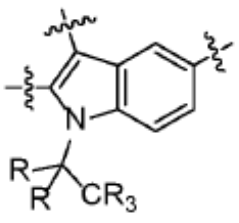
A menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en la presente también pretenden incluir compuestos que difieren solo en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Los isótopos ejemplares que pueden incorporarse a los compuestos de la presente invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro y yodo, tales como ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{13}N, ^{15}N, ^{15}O, ^{17}O, ^{18}O,^{32}P, ^{33}P, ^{35}S, ^{18}F, ^{36}CI, ^{123}I y ^{125}I. Los compuestos marcados isotópicamente (por ejemplo, los marcados con ^{3}H y ^{14}C) pueden ser útiles en ensayos de distribución de tejidos de compuestos o sustratos. Los isótopos tritiados (es decir, ^{3}H) y carbono 14 (es decir, ^{14}C) son útiles por su facilidad de preparación y detección. Además, la sustitución con isótopos más pesados como el deuterio (es decir, ^{2}H) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, mayor semivida in vivo o requisitos de dosificación reducidos). En algunas modalidades, uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan con ^{2}H o ^{3}H, o uno o más átomos de carbono se reemplazan con carbono enriquecido con ^{13}C o ^{14}C. Los isótopos emisores de positrones como ^{15}O, ^{13}N, ^{11}C y ^{18}F son útiles en estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor de sustrato. Las preparaciones de compuestos marcados isotópicamente son conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, los compuestos marcados isotópicamente pueden prepararse generalmente de acuerdo con procedimientos análogos a los descritos para los compuestos de la presente invención que se describen en la presente, sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente por un reactivo no marcado isotópicamente.

Los ejemplos no limitativos de restos que pueden contener una o más sustituciones de deuterio en compuestos de la presente invención, donde cualquier posición “R” puede ser deuterio (D), incluido

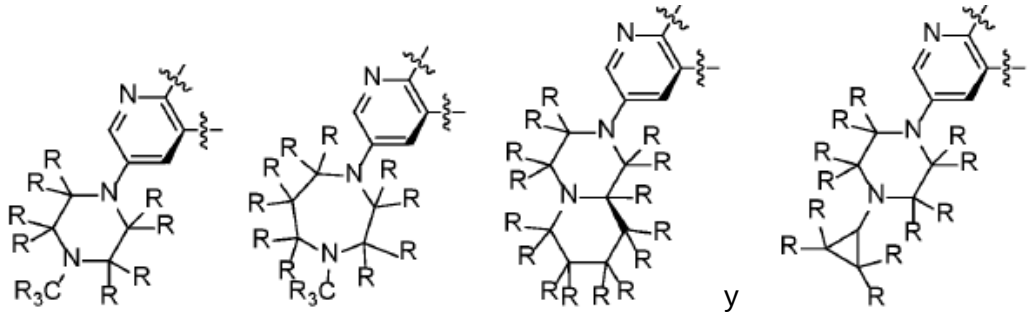




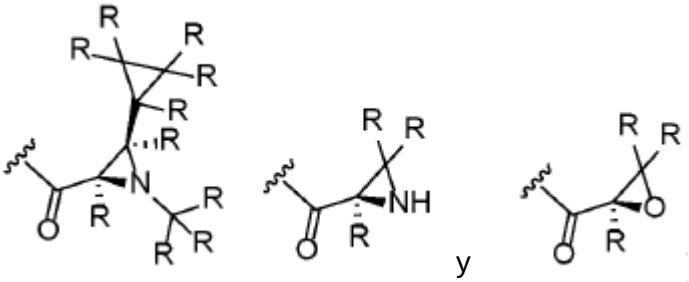
y



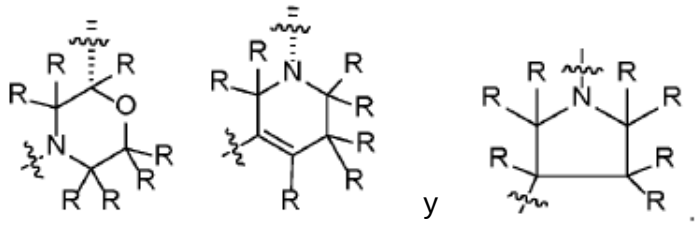
Ejemplos adicionales incluyen restos tales como



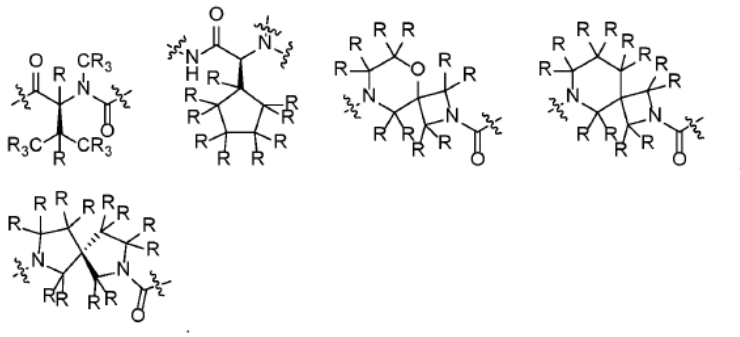
y deuteración de restos de tipo R^1 similares, en donde la definición de R^1 se encuentra en la presente (por ejemplo, en compuestos de Fórmula I, Ia y V). También se contempla la deuteración de restos dentro del sustituyente W en compuestos de la presente invención, cuando W se define en el presente documento (véanse, por ejemplo, las fórmulas genéricas I-III y subfórmulas de las mismas, así como ejemplos específicos de W descritos en el presente documento, tales como



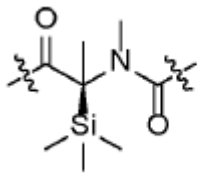
). Asimismo, también se contempla la deuteración de posiciones disponibles en cualquier resto A de los compuestos de las Fórmulas aquí descritas, tales como



Además, la sustitución de deuterio también puede tener lugar en los compuestos de la presente invención en la posición del enlazador, tal como



En otra modalidad, también se contempla la sustitución por sililación, por ejemplo, en el enlazador de la siguiente manera:



Como se conoce en la técnica, muchas entidades químicas pueden adoptar una variedad de formas sólidas diferentes tales como, por ejemplo, formas amorfas o formas cristalinas (por ejemplo, polimorfos, hidratos, solvatos). En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en cualquiera de dichas formas, incluso en cualquier forma sólida. En algunas modalidades, los compuestos descritos o representados en el presente documento pueden proporcionarse o utilizarse en forma de hidrato o solvato.

En diversas partes de la presente memoria descriptiva, los sustituyentes de los compuestos de la presente descripción se describen en grupos o intervalos. Se pretende específicamente que la presente invención incluya todas y cada una de las subcombinaciones individuales de los miembros de dichos grupos e intervalos. Por ejemplo, el término “alquilo C_1-C_6” se pretende que describa individualmente metilo, etilo, alquilo C_3, alquilo C_4, alquilo C_5, y alquilo C_6. Además, cuando un compuesto incluye una pluralidad de posiciones en las que los sustituyentes se divulgan en grupos o intervalos, a menos que se indique lo contrario, la presente invención pretende cubrir compuestos individuales y grupos de compuestos (por ejemplo, géneros y subgéneros) que contienen todas y cada una de las subcombinaciones individuales de miembros en cada posición.

Se pretende que la expresión "X opcionalmente sustituido” (p. ej., "alquilo opcionalmente sustituido”) sea equivalente a "X, en donde X está opcionalmente sustituido” (p. ej., "alquilo, en donde dicho alquilo está opcionalmente sustituido”). No se pretende hacer referencia a que el elemento “X” (por ejemplo, alquilo) en sí sea opcional. Como se describe en la presente, ciertos compuestos de interés pueden contener uno o más restos “opcionalmente sustituidos”. En general, el término “sustituido”, ya sea precedido por el término “opcionalmente” o no, significa que uno o más hidrógenos del resto designado se reemplazan con un sustituyente adecuado, por ejemplo, cualquiera de los sustituyentes o grupos descritos en la presente. A menos que se indique lo contrario, un grupo “opcionalmente sustituido” puede tener un sustituyente adecuado en cada posición sustituible del grupo y cuando más de una posición en cualquier estructura pueda ser sustituida con más de un sustituyente seleccionado de un grupo específico, el sustituyente puede ser el mismo o diferente en cada posición. Por ejemplo, en la expresión “C_1-

C_6-alquilo-C_2-C_9-heteroarilo opcionalmente sustituido", la porción alquilo, la porción heteroarilo o ambas pueden estar opcionalmente sustituidas. Las combinaciones de sustituyentes previstas por la presente invención son preferentemente aquellas que dan lugar a la formación de compuestos estables o químicamente viables. El término "estable", como se utiliza en la presente, se refiere a compuestos que no se modifican sustancialmente cuando se someten a condiciones que permiten su producción, detección y, en determinadas modalidades, su recuperación, purificación y uso para uno o más de los fines divulgados en la presente.

Los sustituyentes monovalentes adecuados en un átomo de carbón sustituible de un grupo "opcionalmente sustituido" pueden ser, independientemente, deuterio; halógeno; $-(CH_2)_{0-4}R°$; $-(CH_2)_{0-4}OR°$; $-O(CH_2)_{0-4}R°$; $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR°$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR°)_2$; $-(CH_2)_{0-4}SR°$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, que puede sustituirse por R°; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ que puede sustituirse por R°; -CH=CHPh, que puede sustituirse por R°; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$-piridilo que puede sustituirse por R°; heterocicloalquilo saturado o insaturado de 4 a 8 miembros (por ejemplo, piridilo); cicloalquilo saturado o insaturado de 3 a 8 miembros (por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo); $-NO_2$; -CN; $-N_3$; $-(CH_2)_{0-4}N(R°)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R°)C(O)R°$-; $-N(R°)C(S)R°$; $-(CH_2)_{0-4}N(R°)C(O)NR°_2$; $-N(R°)C(S)NR°_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R°)C(O)OR°$; $-N(R°)N(R°)C(O)R°$; $-N(R°)N(R°)C(O)NR°_2$; $-N(R°)N(R°)C(O)OR°$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)R°$; $-C(S)R°$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR°$; $-(CH_2)_{0-4}$-C(O)-$N(R°)_2$; $-(CH_2)_{0-4}$-C(O)-N(R°)-$S(O)_2$-R°; $-C(NCN)NR°_2$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR°$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OsiR°_3$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R°$; $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR°$; $-SC(S)SR°$; $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R°$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR°_2$; $-C(S)NR°_2$; $-C(S)SR°$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR°_2$; $-C(O)N(OR°)R°$; $-C(O)C(O)R°$; $-C(O)CH_2C(O)R°$; $-C(NOR°)R°$; $-(CH_2)_{0-4}SSR°$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R°$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR°$; $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R°$; $-S(O)_2NR°_2$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)R°$; $-N(R°)S(O)_2NR°_2$; $-N(R°)S(O)_2R°$; $-N(OR°)R°$; $-C(NOR°)NR°_2$; $-C(NH)NR°_2$; $-P(O)_2R°$; $-P(O)R°_2$; $-P(O)(OR°)_2$; $-OP(O)R°_2$; $-OP(O)(OR°)_2$; $-OP(O)(OR°)R°$, $-SiR°_3$; -(alquileno C_1-C_4 lineal o ramificado); $O-N(R°)_2$; o -(alquileno C_1-C_4 lineal o ramificado)$C(O)O-N(R°)_2$, en donde cada R° puede estar sustituido como se define a continuación y es independientemente hidrógeno, $-C_1$-C_6 alifático, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, $-CH_2$-(anillo heteroarilo de 5 a 6 miembros), o un anillo de 3 a 6 miembros saturado, parcialmente insaturado o arilo que tiene de 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, o, no obstante la definición anterior, dos apariciones independientes de R°, junto con su(s) átomo(s) intermedio(s), forman un anillo mono o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o arílico de 3 a 12 miembros con 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre, que puede estar sustituido como se define a continuación.

Los sustituyentes monovalentes adecuados en R° (o el anillo formado por dos apariciones independientes de R° junto con sus átomos intermedios) pueden ser, independientemente, halógenos, $-(CH_2)_{0-2}R•$, -(haloR•), $-(CH_2)_{0-2}OH$, $-(CH_2)_{0-2}OR•$, $-(CH_2)_{0-2}CH(OR•)_2$; -O(haloR•), -CN, $-N_3$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)R•$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR•$, $-(CH_2)_{0-2}SR•$, $-(CH_2)_{0-2}SH$, $-(CH_2)_{0-2}NH_2$, $-(CH_2)_{0-2}NHR•$, $-(CH_2)_{0-2}NR•_2$, $-NO_2$, $-SiR•_3$, $-OSiR•_3$, $-C(O)SR•$, -(alquileno C_{1-4} lineal o ramificado)C(O)OR•, o -SSR• en donde cada R• no está sustituido o, cuando va precedido de

"halo", está sustituido únicamente con uno o más halógenos, y se selecciona independientemente entre C_1-C_4 alifático, -CH_2Ph, -$O(CH_2)_{0-1}$Ph, o un anillo de 5 a 6 miembros saturado, parcialmente insaturado o arilo con 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre. Los sustituyentes divalentes adecuados en un átomo de carbono saturado de R° incluyen =O y =S.

Los sustituyentes divalentes adecuados en un átomo de carbono saturado de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen lo siguiente: =O, =S, =NNR*$_2$, =NNHC(O)R*, =NNHC(O)OR*, =NNHS(O)$_2$R*, =NR*, =NOR*, -O(C(R*$_2$))$_{2-3}$O-, o -S(C(R*$_2$))$_{2-3}$S-, en donde cada ocurrencia independiente de R* se selecciona entre hidrógeno, C_1-C_6 alifático que puede estar sustituido como se define a continuación, o un anillo no sustituido de 5 a 6 miembros saturado, parcialmente insaturado o arilo que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre. Los sustituyentes divalentes adecuados que están unidos a carbonos sustituibles vecinos de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen: -O(CR*$_2$)$_{2-3}$O-, en donde cada aparición independiente de R* se selecciona de hidrógeno, alifático de C_1-C_6 que puede estar sustituido como se define a continuación, o un anillo no sustituido 5 a 6 miembros saturado, parcialmente insaturado o arilo que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

Los sustituyentes adecuados en el grupo alifático de R* incluyen halógeno, -R•, -(haloR•), -OH, -OR•, -O(haloR•), -CN, -C(O)OH, -C(O)OR•, -NH_2, -NHR•, -NR•$_2$, o -NO_2, en donde cada R• no está sustituido o, cuando va precedido de "halo", está sustituido únicamente por uno o más halógenos, y es independientemente C_1-C_4 alifático, -CH_2Ph, -$O(CH_2)_{0-1}$Ph, o un anillo de 5 a 6 miembros saturado, parcialmente insaturado o arilo con 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre.

Los sustituyentes adecuados en un nitrógeno sustituible de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen -R†, -NR$^\dagger_2$, -C(O)R†, -C(O)OR†, -C(O)C(O)R†, -C(O)CH_2C(O)R†, -S(O)$_2$R†, -S(O)$_2$NR$^\dagger_2$, -C(S)NR$^\dagger_2$, -C(NH)NR$^\dagger_2$, o -N(R†)S(O)$_2$R†; en donde cada R† es independientemente hidrógeno, C_1-C_6 alifático que puede estar sustituido como se define a continuación, -OPh no sustituido, o un anillo no sustituido de 3 a 6 miembros saturado, parcialmente insaturado o arilo con 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre, o, no obstante la definición anterior, dos apariciones independientes de R†, consideradas conjuntamente con su(s) átomo(s) intermedio(s) forman un anillo monocíclico o bicíclico no sustituido de 3 a 12 miembros saturado, parcialmente insaturado o arilo, con 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre.

Los sustituyentes adecuados en un grupo alifático de R† son independientemente halógeno, -R•, -(haloR•), -OH, -OR•, -O(haloR•), -CN, -C(O)OH, -C(O)OR•, -NH_2, -NHR•, -NR•$_2$, o -NO_2, en donde cada R• no está sustituido o, cuando va precedido de "halo", está sustituido únicamente con uno o más halógenos, y es independientemente C_1-C_4 alifático, -CH_2Ph, -$O(CH_2)_{0-1}$Ph, o un anillo de 5 a 6 miembros saturado, parcialmente insaturado o arilo con 0-4

heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre. Los sustituyentes divalentes adecuados en un átomo de carbono saturado de $R^{\dagger}$ incluyen =O y =S.

El término "acetilo", como se usa en la presente, se refiere al grupo $-C(O)CH_3$.

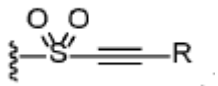
El término “alcoxi”, como se usa en la presente, se refiere a un grupo $-O-C_1-C_{20}$ alquilo, en donde el grupo alcoxi está unido al resto del compuesto a través de un átomo de oxígeno.

El término “alquilo”, como se usa en la presente, se refiere a un grupo hidrocarburo monovalente lineal o ramificado que contiene de 1 a 20 (p. ej., de 1 a 10 o de 1 a 6) carbonos. En algunas modalidades, un grupo alquilo no está ramificado (es decir, es lineal); en algunas modalidades, un grupo alquilo está ramificado. Los grupos alquilo se ejemplifican por, entre otros, metilo, etilo, n-propilo e iso-propilo, n-, sec-, iso- y terc-butilo y neopentilo.

El término “alquileno”, como se usa en la presente, representa un grupo hidrocarburo divalente saturado derivado de un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada mediante la remoción de dos átomos de hidrógeno, y se ejemplifica mediante metileno, etileno, isopropileno, y similares. El término “alquileno C_x-C_y” representa grupos alquileno que tienen entre x e y carbonos. Ejemplos de valores para x son 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y ejemplos de valores para y son 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18 o 20 (por ejemplo, alquileno C_1-C_6, C_1-C_{10}, C_2-C_{20}, C_2-C_6, C_2-C_{10} o C_2-C_{20}). En algunas modalidades, el alquileno puede estar sustituido adicionalmente con 1, 2, 3 o 4 grupos sustituyentes, como se define en la presente.

El término “alquenilo”, como se usa en la presente, representa grupos de cadena lineal o ramificada monovalentes de, a menos que se indique de otro modo, 2 a 20 carbonos (por ejemplo, de 2 a 6 o de 2 a 10 carbonos) que contienen uno o más enlaces dobles carbono-carbono y se ejemplifica mediante etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 2-metil-1-propenilo, 1-butenilo y 2-butenilo. Los alquenilos incluyen isómeros cis y trans. El término “alquenileno”, como se usa en la presente, representa grupos divalentes de cadena lineal o ramificada de, a menos que se indique de otro modo, 2 a 20 carbonos (p. ej., de 2 a 6 o de 2 a 10 carbonos) que contienen uno o más enlaces dobles carbono-carbono.

El término “alquinilo”, tal como se usa en la presente, representa grupos monovalentes de cadena lineal o ramificada de 2 a 20 átomos de carbono (por ejemplo, de 2 a 4, de 2 a 6 o de 2 a 10 carbonos) que contienen un triple enlace carbono-carbono y se ejemplifica mediante etinilo y 1-propinilo.

El término "alquinilsulfona", como se usa en la presente, representa un grupo que comprende la estructura  en donde R es cualquier sustituyente químicamente factible descrito en la presente.

El término "amino", como se usa en la presente, representa $-N(R^{\dagger})_2$, por ejemplo, $-NH_2$ y $-N(CH_3)_2$.

El término “aminoalquilo”, como se usa en la presente, representa un resto alquilo

sustituido en uno o más átomos de carbono con uno o más restos de amino.

El término “aminoácido”, como se describe en la presente, se refiere a una molécula con una cadena lateral, un grupo amino y un grupo ácido (p. ej., -CO_2H o SO_3H), en donde el aminoácido se une al grupo molecular original mediante la cadena lateral, grupo amino o grupo ácido (p. ej., la cadena lateral). Tal como se utiliza en la presente, el término “aminoácido” en su sentido más amplio, se refiere a cualquier compuesto o sustancia que se pueda incorporar a una cadena de polipéptidos, p. ej., mediante la formación de uno o más enlaces peptídicos. En algunas modalidades, un aminoácido tiene la estructura general H_2N-C(H)(R)-COOH. En algunas modalidades, un aminoácido es un aminoácido de origen natural. En algunas modalidades, un aminoácido es un aminoácido sintético; en algunas modalidades, un aminoácido es un D-aminoácido; en algunas modalidades, un aminoácido es un L-aminoácido. "Aminoácido estándar" se refiere a cualquiera de los veinte L-aminoácidos estándar que se encuentran comúnmente en péptidos de origen natural. Ejemplos de aminoácidos incluyen alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, hidroxinorvalina opcionalmente sustituida, isoleucina, leucina, lisina, metionina, norvalina, ornitina, fenilalanina, prolina, pirrolisina, selenocisteína, serina, taurina, treonina, triptófano, tirosina y valina.

El término "arilo", tal como se usa en la presente, representa un sistema de anillos monocíclico, bicíclico o multicíclico monovalente formado por átomos de carbono, en donde el anillo unido al grupo colgante es aromático. Los ejemplos de grupos arilo son fenil, naftilo, fenantrenilo y antracenilo. Un anillo arilo puede estar unido a su grupo colgante en cualquier heteroátomo o átomo de anillo de carbono que da lugar a una estructura estable y cualquiera de los átomos del anillo puede estar opcionalmente sustituido a menos que se especifique otra cosa.

El término "C_0", tal como se utiliza en el presente documento, representa un enlace. Por ejemplo, parte del término -N(C(O)-(C_0-C_5 alquileno-H)- incluye -N(C(O)-(C_0 alquileno-H)-, que también está representado por -N(C(O)-H)-.

Los términos “carbocíclico” y “carbociclilo”, como se usan en la presente, se refieren a una estructura de anillo monocíclica, bicíclica o tricíclica monovalente, opcionalmente sustituida de 3 a 12 miembros, que puede estar unida por puentes, fusionada o espirocíclica, en la que todos los anillos están formados por átomos de carbono y al menos un anillo no es aromático. Las estructuras carbocíclicas incluyen grupos cicloalquilo, cicloalquenilo y cicloalquinilo. Ejemplos de grupos carbociclilo son ciclohexilo, ciclohexenilo, ciclooctinilo, 1,2-dihidronaftilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo, fluorenilo, indenilo, indanilo, decalinilo y similares. Un anillo carbocíclico puede estar unido a su grupo colgante en cualquier átomo del anillo que da lugar a una estructura estable y cualquiera de los átomos del anillo puede estar opcionalmente sustituido a menos que se especifique otra cosa.

El término "carbonilo", tal como se usa en la presente, representa un grupo C(O), que también puede estar representado como C=O.

El término "carboxilo", como se usa en la presente, significa -CO_2H, (C=O)(OH), COOH o C(O)OH o sus homólogos no protonados.

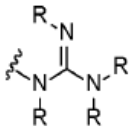
El término “ciano”, como se usa en la presente, representa un grupo -CN.

El término “cicloalquilo”, como se usa en la presente, representa un grupo hidrocarburo cíclico saturado monovalente, que puede estar unido por puentes, fusionado o espirocíclico que tiene de tres a ocho carbonos del anillo, a menos que se especifique lo contrario, y está ejemplificado por ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y cicloheptilo.

El término “cicloalquenilo”, como se usa en la presente, representa un grupo hidrocarburo cíclico saturado monovalente, no aromático, que puede estar unido por puentes, fusionado o espirocíclico que tiene tres a ocho carbonos del anillo, a menos que se especifique lo contrario, y que contiene uno o más enlaces dobles carbono-carbono.

El término “diastereómero”, como se usa en la presente, se refiere a estereoisómeros que no son imágenes espectrales entre sí y no pueden superponerse entre sí.

El término "enantiómero", como se usa en la presente, significa cada forma ópticamente activa individual de un compuesto de la invención, que tiene una pureza óptica o un exceso enantiomérico (según se determina mediante métodos estándar en la técnica) de al menos el 80 % (es decir, al menos 90 % de un enantiómero y como máximo 10 % del otro enantiómero), preferiblemente al menos 90 % y más preferiblemente al menos 98 %.

El término “guanidinilo” hace referencia a un grupo que tiene la estructura:  , en donde cada R es, independientemente, cualquier sustituyente químicamente factible descrito en la presente.

El término “guanidinoalquil alquilo”, como se usa en la presente, representa un resto alquilo sustituido en uno o más átomos de carbono con uno o más restos de guanidinilo.

El término “haloacetilo”, como se usa en la presente, hace referencia a un grupo acetilo en donde al menos uno de los hidrógenos puede remplazarse con un halógeno.

El término “haloalquilo”, como se usa en la presente, representa un resto alquilo sustituido en uno o más átomos de carbono con uno o más de los mismos restos de halógeno diferentes.

El término “halógeno”, como se usa en la presente, representa un halógeno seleccionado de bromo, cloro, yodo o flúor.

El término “heteroalquilo”, como se usa en la presente, se refiere a un grupo “alquilo”, como se define en la presente, en donde al menos un átomo de carbono se reemplazó con un heteroátomo (p. ej., un átomo O, N o S). El heteroátomo puede aparecer en el medio o al final del radical.

El término "heteroarilo", tal como se usa en la presente, representa una estructura de anillo monovalente, monocíclico o policíclico que contiene al menos un anillo completamente

aromático: es decir, contienen 4n+2 electrones pi dentro del sistema de anillos monocíclico o policíclico y contiene al menos un anillo heteroátomo seleccionado entre N, O o S en ese anillo aromático. Ejemplos de grupos heteroarilo no sustituidos tienen de 1 a 12 (por ejemplo, 1 a 11, 1 a 10, 1 a 9, 2 a 12, 2 a 11, 2 a 10 o 2 a 9) carbonos. El término “heteroarilo” incluye grupos bicíclilcos, tricíclicos y tetracíclicos donde cualquiera de los anillos heteroaromáticos anteriores se fusionan con uno o más anillos arilo o carbocíclico, p. ej., un anillo fenilo o un anillo ciclohexano. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, entre otros, piridilo, pirazolilo, benzooxazolilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, imidazolilo, tiazolilo, quinolinilo, tetrahidroquinolinilo y 4-azaindolilo. Un anillo heteroarilo puede estar unido a su grupo colgante en cualquier átomo del anillo que da lugar a una estructura estable y cualquiera de los átomos del anillo puede estar opcionalmente sustituido a menos que se especifique otra cosa. En alguna modalidad, el heteroarilo está sustituido con 1, 2, 3 o 4 grupos sustituyentes.

El término “heterocicloalquilo”, como se usa en la presente, representa un sistema de anillo monocíclico, bicíclico o policíclico monovalente, que puede estar unido por puente, fusionado o espirocíclico, en donde al menos un anillo no es aromático y en donde el anillo no aromático contiene uno, dos, tres o cuatro heteroátomos que se seleccionan independientemente del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. El anillo de 5 miembros tiene de cero a dos enlaces dobles, y los anillos de 6 y 7 miembros tienen de cero a tres enlaces dobles. Ejemplos de grupos heterocicloalquilo no sustituidos tienen de 1 a 12 (p. ej., 1 a 11, 1 a 10, 1 a 9, 2 a 12, 2 a 11, 2 a 10 o 2 a 9) carbonos. El término "heterocicloalquilo" también representa un compuesto heterocíclico que tiene una estructura multicíclica con puente en la que uno o más carbonos o heteroátomos unen dos miembros no adyacentes de un anillo monocíclico, por ejemplo, un grupo quinuclidinilo. El término "heterocicloalquilo" incluye grupos bicíclicos, tricíclicos y tetracíclicos en los que cualquiera de los anillos heterocíclicos anteriores está fusionado con uno o más anillos aromáticos, carbocíclicos, heteroaromáticos o heterocíclicos, por ejemplo, un anillo de arilo, un anillo de ciclohexano, un anillo de ciclohexeno, un anillo de ciclopentano, un anillo de ciclopenteno, un anillo de piridina o un anillo de pirrolidina. Ejemplos de grupos heterocicloalquilo son pirrolidinilo, piperidinilo, 1,2,3,4-tetrahidroquinolinilo, decahidroquinolinilo, dihidropirrolopiridina y decahidronaftiridinilo. Un anillo heterocicloalquilo puede unirse a su grupo colgante en cualquier átomo del anillo que dé como resultado una estructura estable y cualquiera de los átomos del anillo puede estar opcionalmente sustituido a menos que se especifique lo contrario.

El término "hidroxi", como se usa en la presente, representa un grupo -OH.

El término "hidroxialquilo", como se usa en la presente, representa un resto alquilo sustituido en uno o más átomos de carbono con uno o más restos -OH.

El término "isómero”, como se usa en la presente, se refiere a cualquier tautómero, estereoisómero, atropisómero, enantiómero o diastereómero de cualquier compuesto de la invención. Se reconoce que los compuestos de la invención pueden tener uno o más centros

quirales o enlaces dobles y, por lo tanto, existen como estereoisómeros, tales como isómeros de enlace doble (es decir, isómeros geométricos E/Z) o diastereómeros (por ejemplo, enantiómeros (+) o (-)) o isómeros cis/trans). De acuerdo con la invención, las estructuras químicas ilustradas en la presente y, por lo tanto, los compuestos de la invención, comprenden todos los estereoisómeros correspondientes, es decir, tanto la forma estereoméricamente pura (p. ej., geométricamente pura, enantioméricamente pura o diastereoméricamente pura) como mezclas enantioméricas y estereoisoméricas, p. ej., racematos. Las mezclas enantioméricas y estereoisoméricas de compuestos de la invención normalmente se pueden resolver en los enantiómeros o estereoisómeros que los componen mediante métodos bien conocidos en la técnica, tales como cromatografía de gases en fase quiral, cromatografía líquida de alta resolución en fase quiral, cristalización del compuesto como un complejo de sal quiral, o cristalizar el compuesto en un disolvente quiral. También es posible obtener los enantiómeros y estereoisómeros de intermedios, reactivos y catalizadores estereoméricamente o enantioméricamente puros mediante métodos sintéticos asimétricos conocidos.

Como se usa en la presente, el término "enlazador" se refiere a un resto orgánico divalente que conecta un primer resto (por ejemplo, un resto macrocíclico) con un segundo resto (por ejemplo, un grupo reticulante). En algunas modalidades, el enlazador da como resultado un compuesto capaz de alcanzar un IC50 de 2 uM o menos en el protocolo de ensayo de interrupción Ras-RAF proporcionado en los ejemplos siguientes, y proporcionado aquí:

El propósito de este ensayo bioquímico es medir la capacidad de los compuestos de prueba para facilitar la formación de complejos ternarios entre una isoforma Ras cargada de nucleótidos y la ciclofilina A; el complejo ternario resultante interrumpe la unión a una construcción $BRAF^{RBD}$, inhibiendo la señalización de Ras a través de un efector RAF.

En un tampón de ensayo que contiene 25 mM de HEPES, pH 7,3, 0,002 % de Tween20, 0,1 % de BSA, 100 mM de NaCl y 5 mM de $MgCl_2$, la ciclofilina A sin marcado, His6-K-Ras-GMPPNP (u otra variante de Ras) y GST-$BRAF^{RBD}$ se combinan en una placa de ensayo de 384 pocillos a concentraciones finales de 25 µM, 12,5 nM y 50 nM, respectivamente. El compuesto está presente en pocillos de placa como una serie de dilución de 10 puntos 3 veces que comienza a una concentración final de 30 µM. Después de la incubación a 25 °C durante 3 horas, una mezcla de anti-His Eu-W1024 y anti-GST aloficocianina se agrega luego a los pocillos de ensayo de muestra a concentraciones finales de 10 nM y 50 nM, respectivamente, y la reacción se incuba durante 1,5 horas adicionales. La señal TR-FRET se lee en un lector de microplacas (Ex 320 nm, Em 665/615 nm). Los compuestos que facilitan la alteración del complejo Ras:RAF se identifican como aquellos que provocan una reducción de la relación TR-FRET con respecto a los pocillos de control con DMSO.

En algunas modalidades, el enlazador comprende 20 o menos átomos lineales. En algunas modalidades, el enlazador comprende 15 o menos átomos lineales. En algunas modalidades, el enlazador comprende 10 o menos átomos lineales. En algunas modalidades, el

enlazador tiene un peso molecular menor que 500 g/mol. En algunas modalidades, el enlazador tiene un peso molecular menor que 400 g/mol. En algunas modalidades, el enlazador tiene un peso molecular menor que 300 g/mol. En algunas modalidades, el enlazador tiene un peso molecular menor que 200 g/mol. En algunas modalidades, el enlazador tiene un peso molecular menor que 100 g/mol. En algunas modalidades, el enlazador tiene un peso molecular menor que 50 g/mol.

Como se usa en la presente, un "resto orgánico monovalente" es menor que 500 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 400 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 300 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 200 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 100 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 50 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 25 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 20 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 15 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 10 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 1 kDa. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" es menor que 500 g/mol. En algunas modalidades, un "resto orgánico monovalente" varía entre 500 g/mol y 500 kDa.

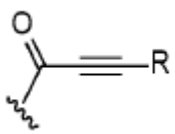
El término "estereoisómero", como se usa en la presente, se refiere a todas las posibles formas isoméricas y conformacionales diferentes que puede poseer un compuesto (por ejemplo, un compuesto de cualquier fórmula descrita en la presente), en particular todas las posibles formas isoméricas estereoquímica y conformacionalmente, todos los diastereómeros, enantiómeros o conformadores de la estructura molecular básica, incluidos los atropisómeros. Algunos compuestos de la presente invención pueden existir en distintas formas tautoméricas, las cuales están incluidas en el alcance de la presente invención.

El término “sulfonilo”, como se usa en la presente, representa un grupo -$S(O)_2$-.

El término “tiocarbonilo”, como se usa en la presente, hace referencia a un grupo -C(S)-.

El término "vinil cetona”, como se usa en la presente, se refiere a un grupo que comprende un grupo carbonilo conectado directamente a un enlace doble carbono-carbono.

El término "vinil sulfona”, como se usa en la presente, se refiere a un grupo que comprende un grupo sulfonilo conectado directamente a un enlace doble carbono-carbono.

El término “inona”, como se usa en la presente, se refiere a un grupo que comprende la estructura  , en donde R es cualquier sustituyente químicamente factible descrito en la presente.

Los expertos en la técnica, al leer la presente invención, sabrán que pueden

proporcionarse o utilizarse determinados compuestos descritos en la presente en cualquiera de una variedad de formas como, por ejemplo, formas de sal, formas protegidas, formas profármacos, formas de éster, formas isoméricas (por ejemplo, isómeros ópticos o estructurales), formas isotópicas, etc. En algunas modalidades, la referencia a un compuesto particular puede relacionarse con una forma específica de ese compuesto. En algunas modalidades, la referencia a un compuesto particular puede relacionarse a ese compuesto en cualquier forma. En algunas modalidades, por ejemplo, se puede considerar que una preparación de un único estereoisómero de un compuesto es una forma diferente del compuesto que una mezcla racémica del compuesto; se puede considerar que una sal particular de un compuesto es una forma diferente de otra forma de sal del compuesto; una preparación que contiene un isómero conformacional ((Z) o (E)) de un enlace doble puede considerarse una forma diferente de una que contiene el otro isómero conformacional ((E) o (Z)) del enlace doble; una preparación en la que uno o más átomos son un isótopo diferente al presente en una preparación de referencia puede considerarse una forma diferente.

Descripción detallada

Compuestos

En la presente se proporcionan inhibidores de Ras. El enfoque descrito en la presente implica la formación de un complejo o conjugado de tres componentes de alta afinidad entre un ligando sintético y dos proteínas intracelulares que no interactúan en condiciones fisiológicas normales: la proteína diana de interés (por ejemplo, Ras) y una chaperona citosólica (proteína presentadora) ampliamente expresada en la célula (p. ej., ciclofilina A). Más específicamente, en algunas modalidades, los inhibidores de Ras descritos en la presente inducen una nueva cavidad de unión en Ras al impulsar la formación de un complejo, o conjugado, triple de alta afinidad entre la proteína Ras y la chaperona citosólica expresada ampliamente, ciclofilina A (CYPA). Sin estar ligados a ninguna teoría, los inventores creen que una forma en que los compuestos de la invención y los complejos o conjugados que forman efectúan el efecto inhibidor sobre Ras es mediante la oclusión estérica del sitio de interacción entre Ras y las moléculas efectoras secuencia abajo, tales como RAF, que son necesarias para la propagación de la señal oncogénica.

Sin estar ligados a ninguna teoría, los inventores postulan que las interacciones covalentes y no covalentes de un compuesto de la presente invención con Ras y la proteína chaperona (p. ej., ciclofilina A) pueden contribuir a la inhibición de la actividad de Ras. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención forma un aducto covalente con una cadena lateral de una proteína Ras (p. ej., la cadena lateral $-CH_2-COOH$ o $-CH_2-COO-$ del ácido aspártico en la posición 12 o 13 de un mutante proteína Ras). También pueden formarse aductos covalentes con otras cadenas laterales de Ras. Además o alternativamente, pueden estar en juego interacciones no covalentes: por ejemplo, interacciones de van der Waals, hidrófobas,

hidrófilas y de enlaces de hidrógeno, y combinaciones de estas, pueden contribuir a la capacidad de los compuestos de la presente invención para formar complejos y actuar como inhibidores de Ras. Por ende, una variedad de proteínas Ras pueden inhibirse como compuestos de la presente invención (p. ej., K-Ras, N-Ras, H-Ras, y mutantes de estos en las posiciones 12, 13 y 61, como G12C, G12D, G12V, G12S, G13C, G13D, y Q61L, y otros descritos en la presente).

Los métodos para determinar la formación de aductos covalentes son conocidos en la técnica. Un método para determinar la formación de aductos covalentes es realizar un ensayo de "reticulación", como el que se describe en los Ejemplos y a continuación:

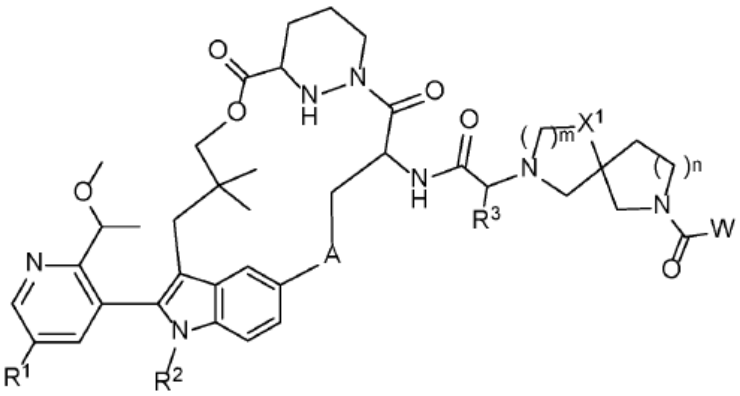
Nota: el siguiente protocolo describe un procedimiento para monitorizar la reticulación de K-Ras G12C (GMP-PNP) a un compuesto de la invención. Este protocolo también puede ejecutarse sustituyendo otras proteínas o nucleótidos de Ras, como K-Ras G12D.

El propósito de este ensayo bioquímico es medir la capacidad de los compuestos de prueba para etiquetar covalentemente las isoformas K-Ras cargadas con *nucleótidos*. En un tampón de ensayo que contiene 12,5 mM de HEPES, pH 7,4, 75 mM de NaCl, 1 mM de $MgCl_2$, 1 mM de BME, 5 µM de ciclofilina A y 2 µM de compuesto de prueba, se diluye 10 veces una solución de 5 µM de K-Ras cargada con GMP-PNP (1-169) G12C para obtener una concentración final de 0,5 µM; con un volumen de muestra final de 100 µL.

La muestra se incuba a 25 °C durante un período de hasta 24 horas antes de inactivarla mediante la adición de 10 µl de ácido fórmico al 5 %. Las muestras inactivadas se centrifugan a 15 000 rpm durante 15 minutos en una centrifugadora de sobremesa antes de inyectar una alícuota de 10 µL en una columna C4 de fase inversa y eluir en el espectrómetro de masas con un gradiente creciente de acetonitrilo en la fase móvil. El análisis de los datos brutos se puede llevar a cabo utilizando el software Waters MassLynx MS, con el % de unión calculado a partir de los picos de proteínas deconvolucionadas para K-Ras marcadas y no marcadas.

En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención inhiben más potentemente K-Ras G12D frente a otros mutantes K-Ras o $K\text{-}Ras^{WT}$. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención inhiben más potentemente K-Ras G12D frente a los compuestos conocidos en la técnica. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención reticulan K-Ras G12D en mayor grado frente a otros mutantes K-Ras. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención reticulan K-Ras G12D en mayor grado frente a los compuestos conocidos en la técnica.

Por consiguiente, en la presente se proporciona un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, con la estructura de Fórmula I:



Fórmula I

en donde A es heterocicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

W es un grupo reticulante que comprende una aziridina, un epóxido, una carbodiimida, una oxazolina, una tiazolina, una cloroetil urea, una cloroetil tiourea, un carbamato de cloroetilo, un tiocarbamato de cloroetilo, una trifluorometilcetona, un ácido borónico, un éster borónico, una N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), un iso-EEDQ u otro derivado de EEDQ, un oxazolio o un glical:

X^1 es CH_2 u O;

m es 1 o 2;

n es 0 o 1;

R^1 es hidrógeno o heterocicloalquilo de 3 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

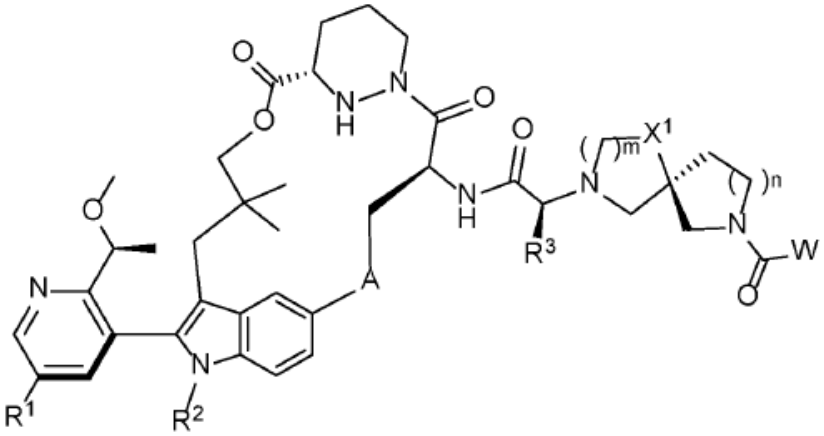
R^2 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido; y

R^3 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, W es un grupo de reticulación que comprende una aziridina o un epóxido.

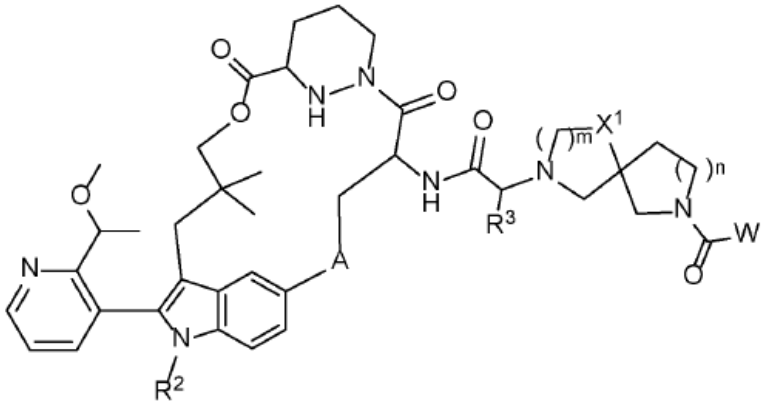
En algunas modalidades, A es tiazol opcionalmente sustituido, oxazol opcionalmente sustituido, morfolino opcionalmente sustituido, pirrolidinilo opcionalmente sustituido, piperidinilo opcionalmente sustituido o fenilo opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de Fórmula Ia, o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



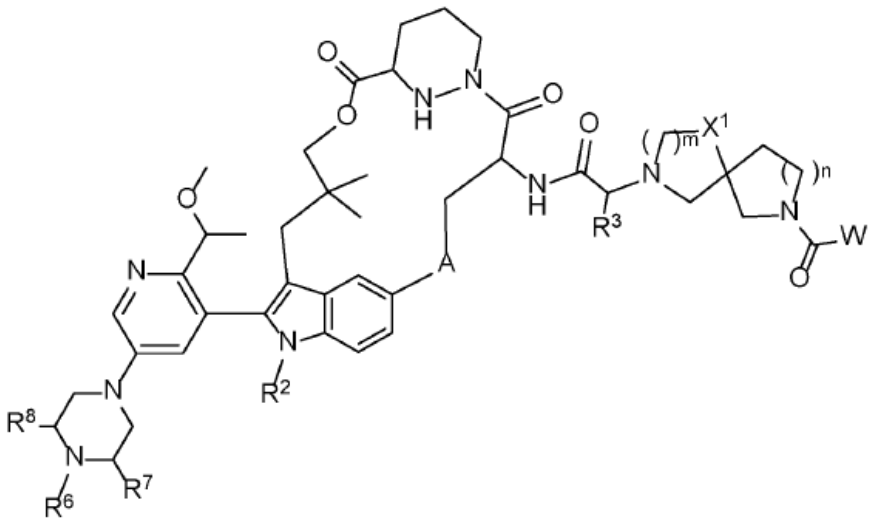
Fórmula Ia.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de la Fórmula II-1, o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



Fórmula II-1.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de la Fórmula II- 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



Fórmula II-2.

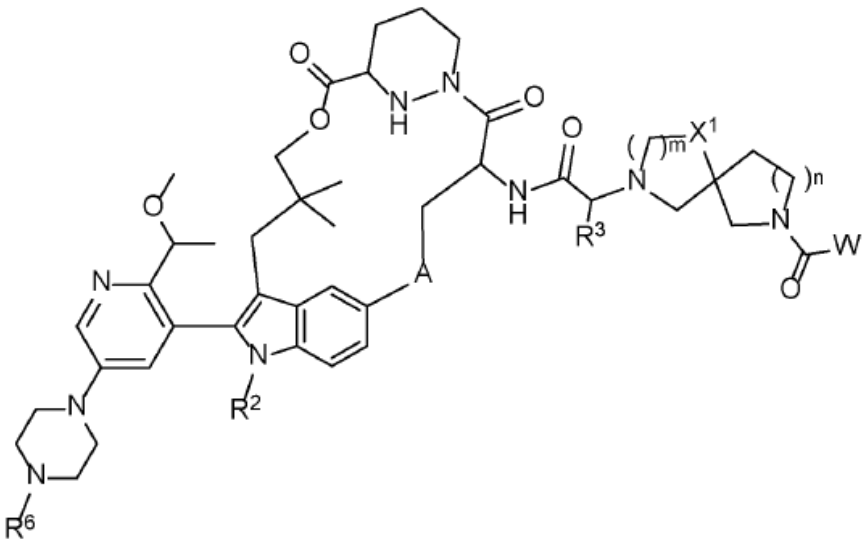
en donde R^6, R^7, y R^8 se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilo

de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido; o

R^6 y R^7 se combinan con los átomos a los que están unidos para formar un cicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido o un heterocicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido; o

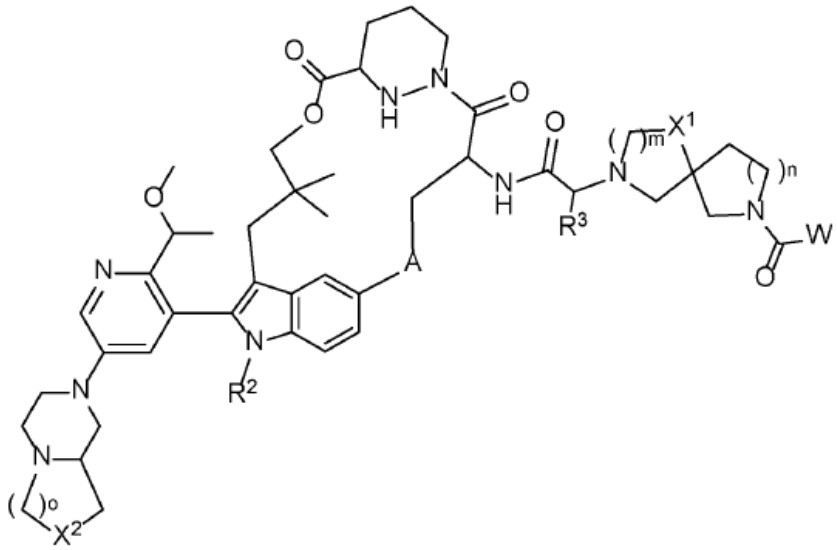
R^6 y R^8 se combinan con los átomos a los que están unidos para formar un cicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido o un heterocicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de la Fórmula II-3, o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



Fórmula II-3.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de la Fórmula II-4, o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



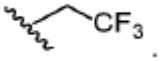
Fórmula II-4,

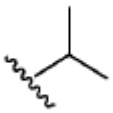
en donde X^2 es CH_2 u O; y

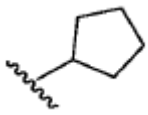
o es 1 o 2.

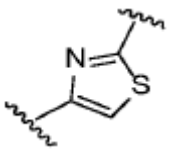
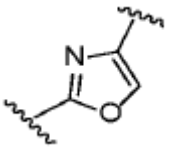
En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, X^2 es CH_2. En algunas modalidades, o es 1. En algunas modalidades, o es 2.

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, X^2 es O. En algunas modalidades, o es 1. En algunas modalidades, o es 2.

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, R^2 es:  o  .

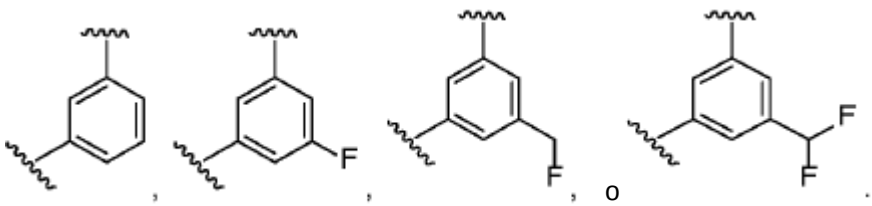
En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, R^3 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, R^3 es:  .

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, R^3 es o está opcionalmente sustituido con cicloalquilo de 3 a 6 miembros. En algunas modalidades, R^3 es:  .

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, A es heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, A es:  o  .

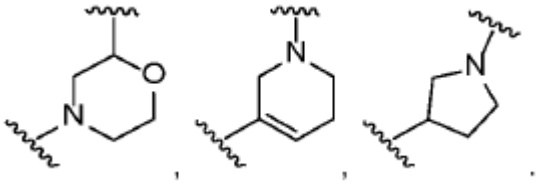
En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, A es fenilo opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, A es:

 .

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, A es heterocicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, A se

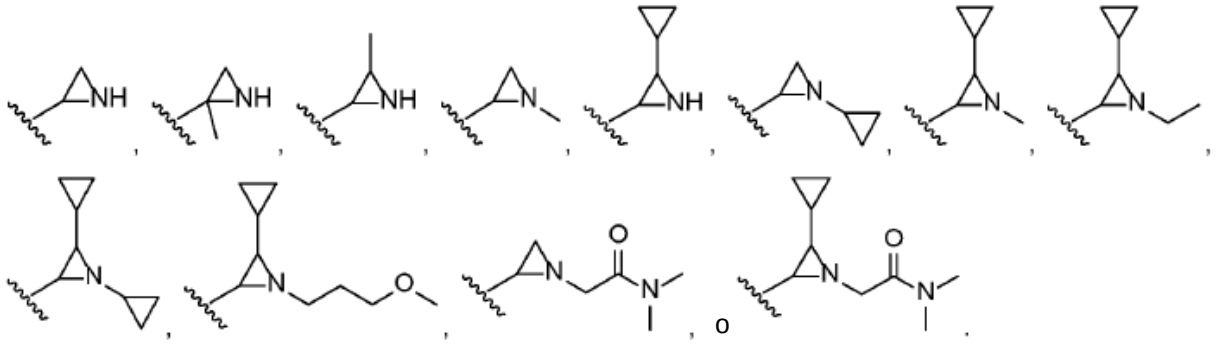
selecciona de los siguientes, o un estereoisómero de esta:



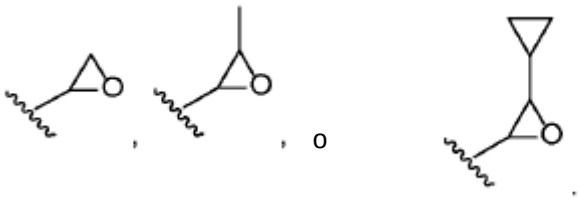
En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, m es 1. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, X^1 es CH_2. En algunas modalidades, X^1 es O. En algunas modalidades, m es 1, n es 1, y X^1 es CH_2. En algunas modalidades, m es 1, n es 1 y X^1 es O.

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, m es 2. En algunas modalidades, X^1 es CH_2. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 0. En algunas modalidades, m es 2, X^1 es CH_2, y n es 1. En algunas modalidades, m es 2 y X^1 es O. En algunas modalidades, m es 2, X^1 es O, y n es 1. En algunas modalidades, m es 2, X^1 es O, y n es 0.

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, W comprende una aziridina. En algunas modalidades, W comprende un resto ciclopropil-aziridinilo opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, W se selecciona entre los siguientes, o un estereoisómero de estos:

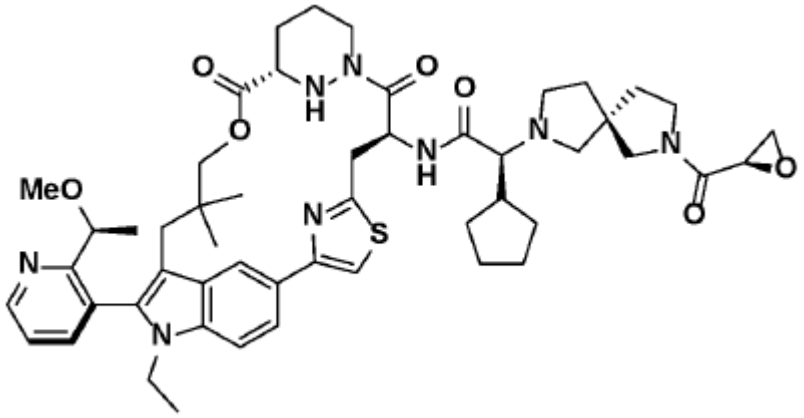
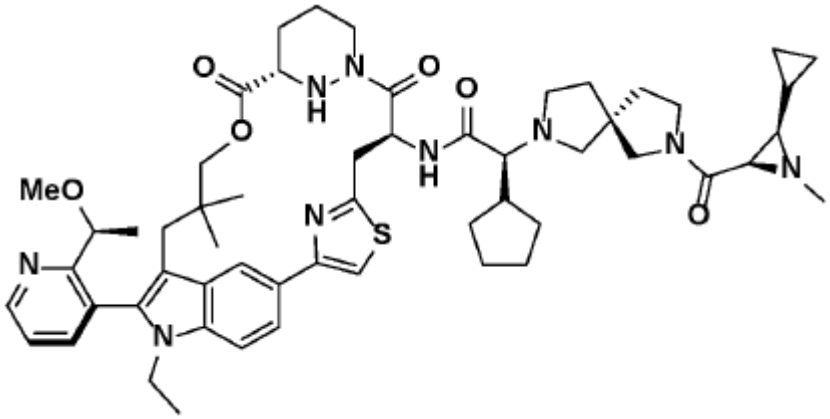
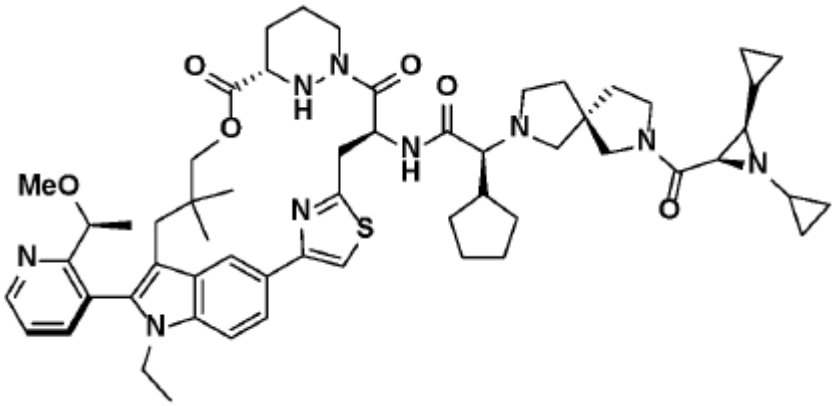


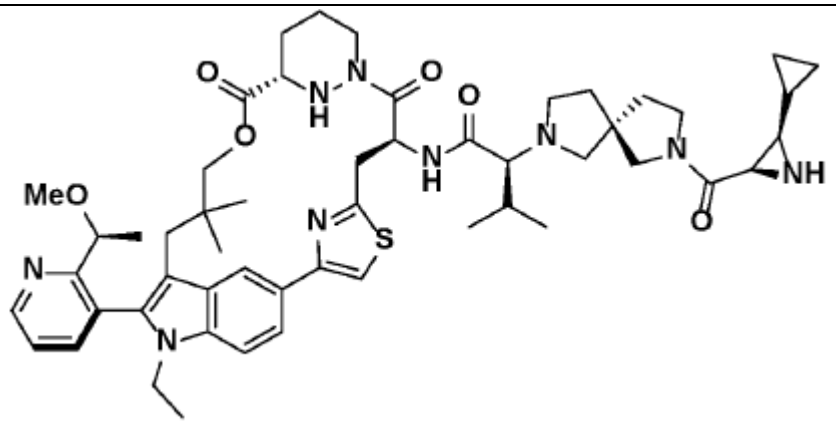
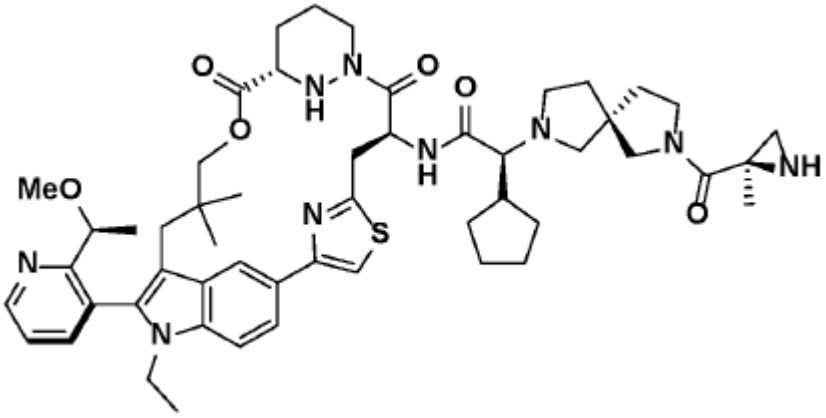
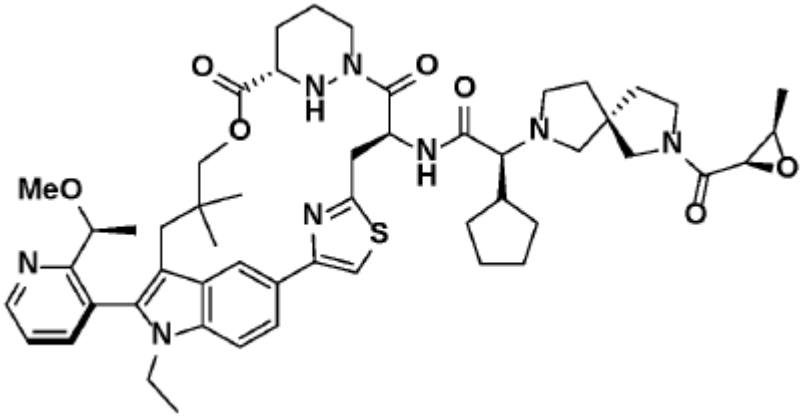
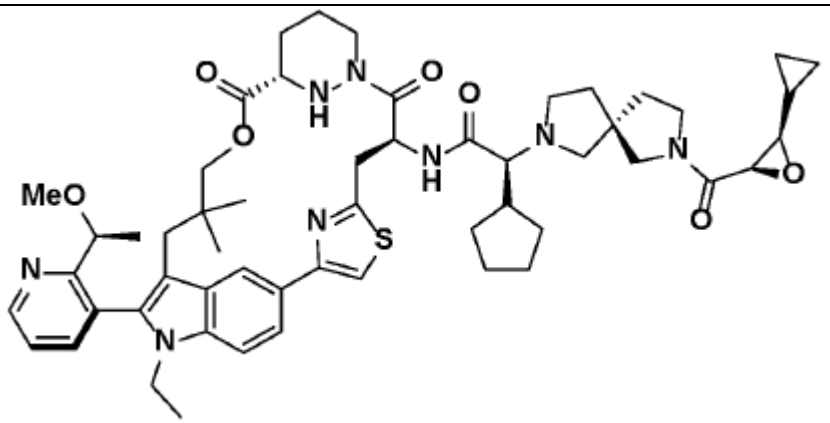
En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, W comprende un epóxido. En algunas modalidades, W se selecciona entre los siguientes, o un estereoisómero de estos:

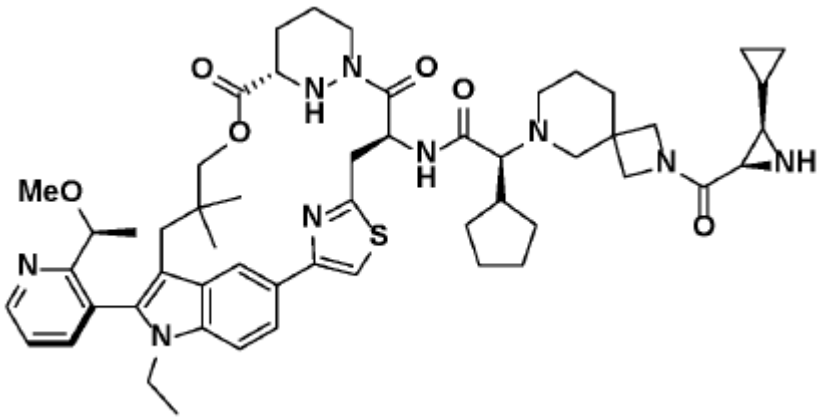
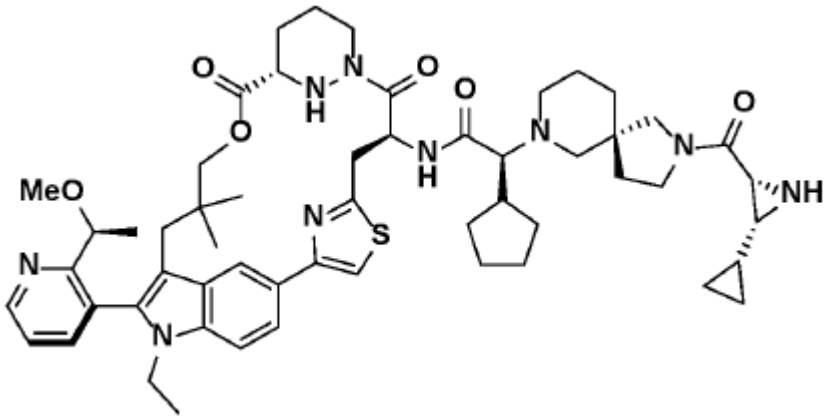
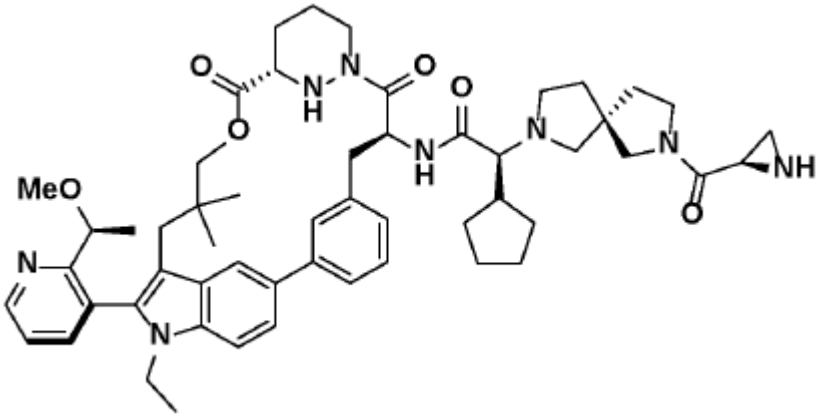
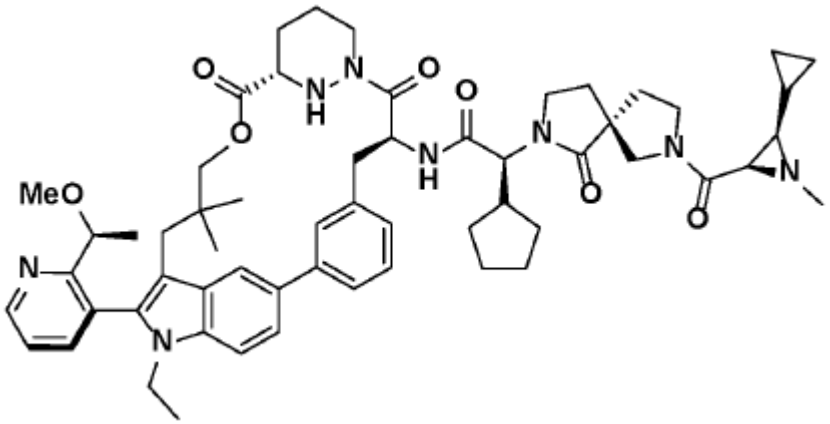


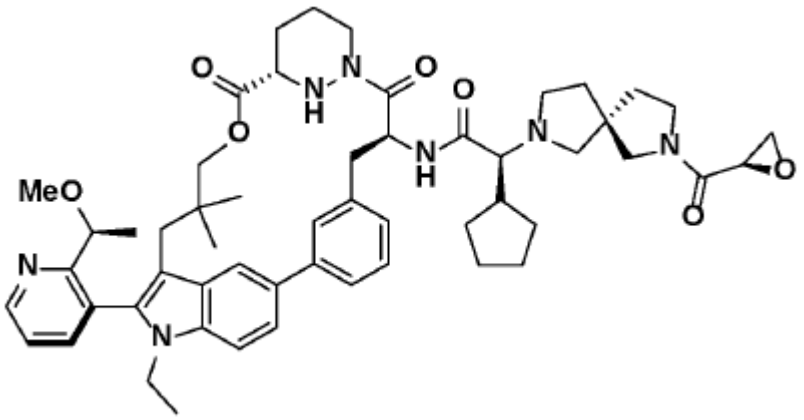
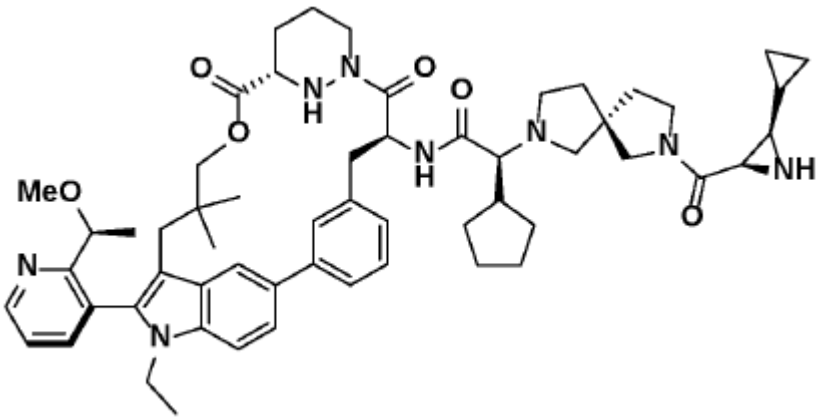
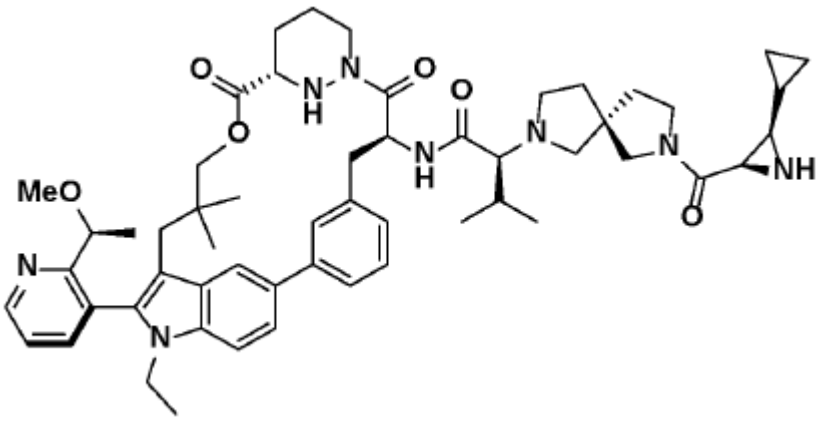
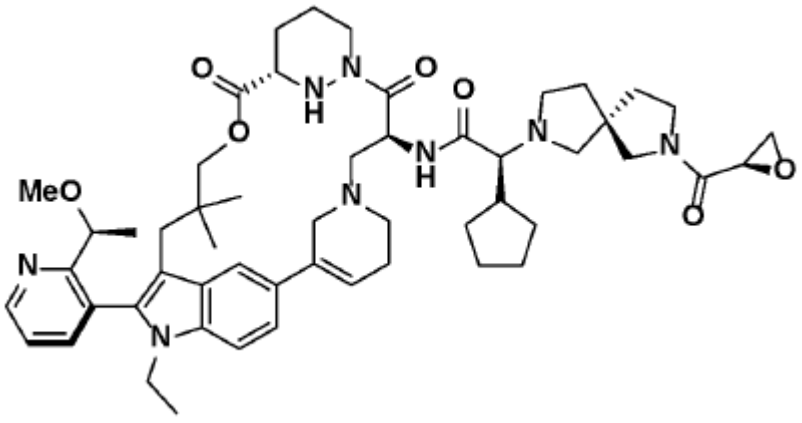
En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención se selecciona de la Tabla 1, o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención se selecciona de la Tabla 1, o una sal o atropisómero farmacéuticamente aceptable de este.

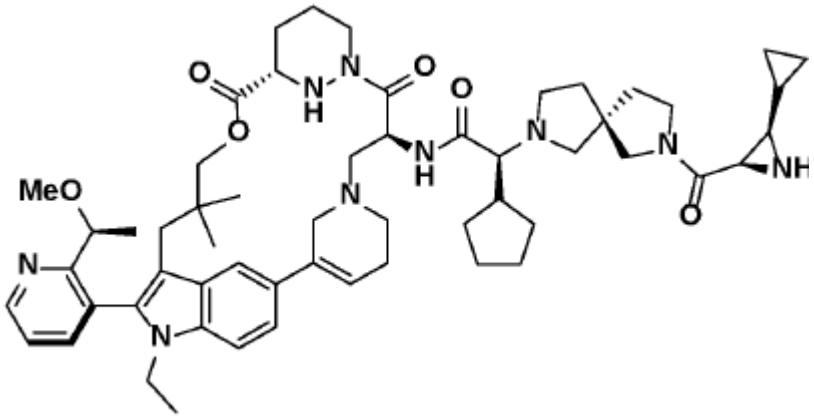
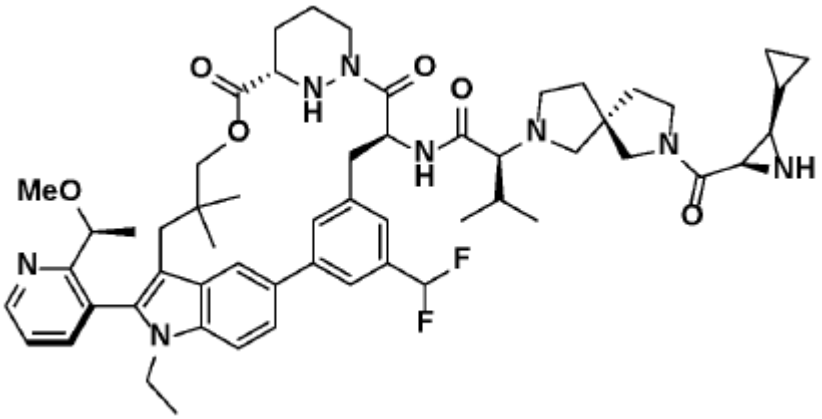
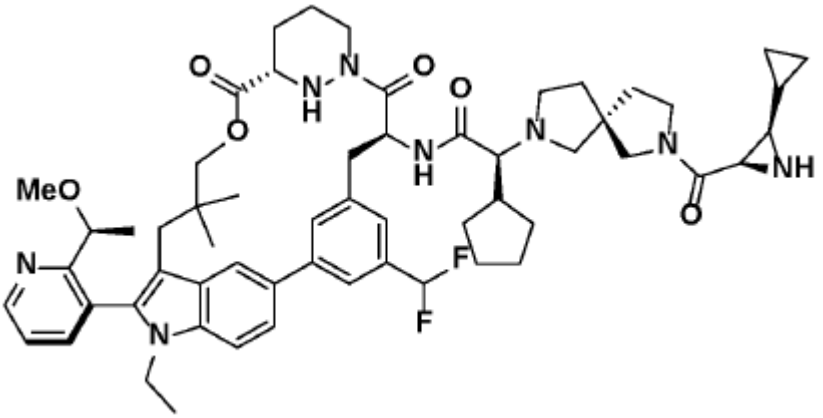
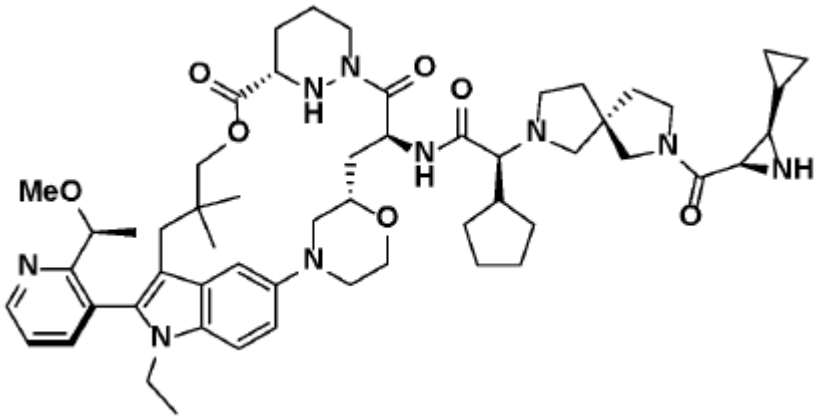
Tabla 1: Determinados compuestos de la presente invención

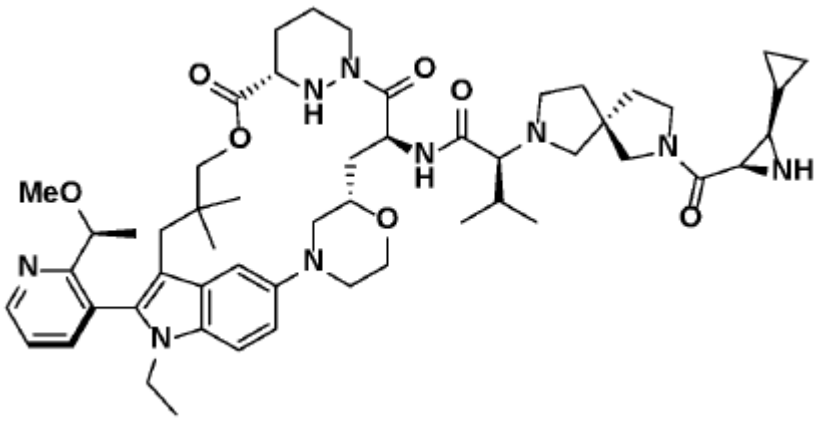
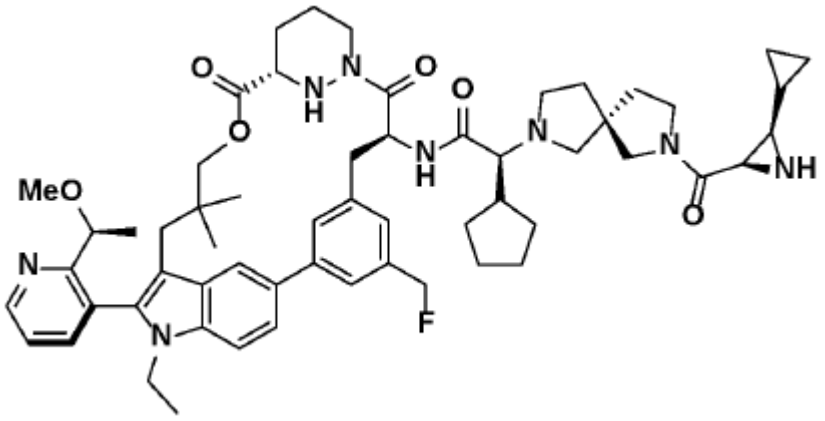
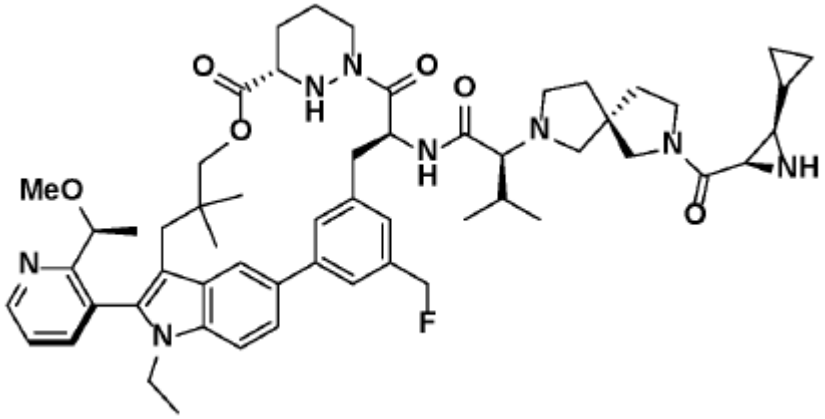
Ej. núm	Estructura
A1	
A2	
A3	

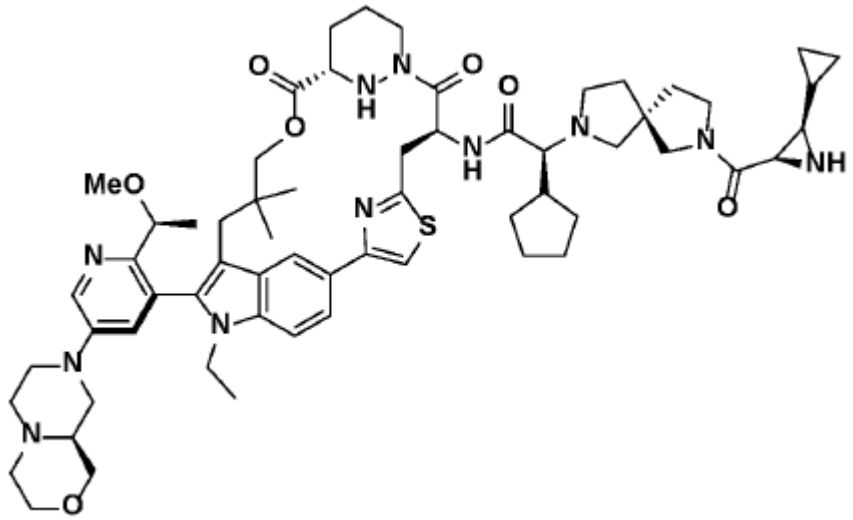
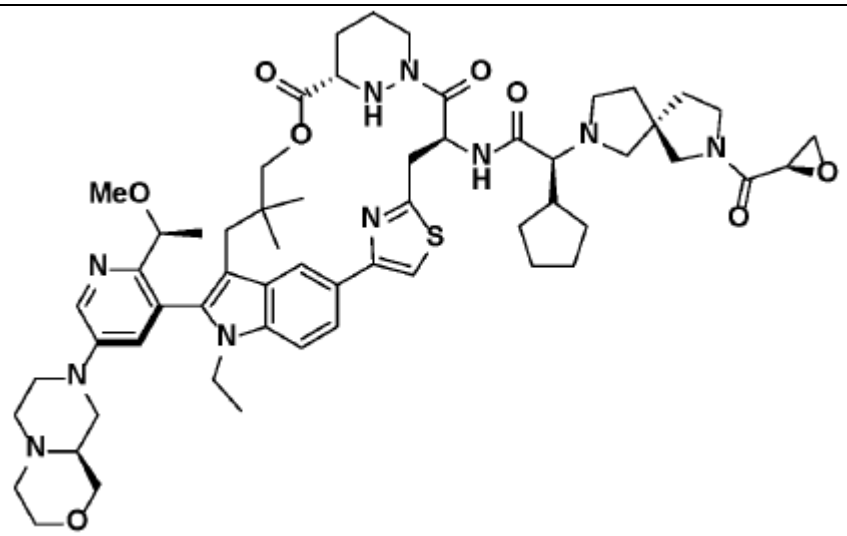
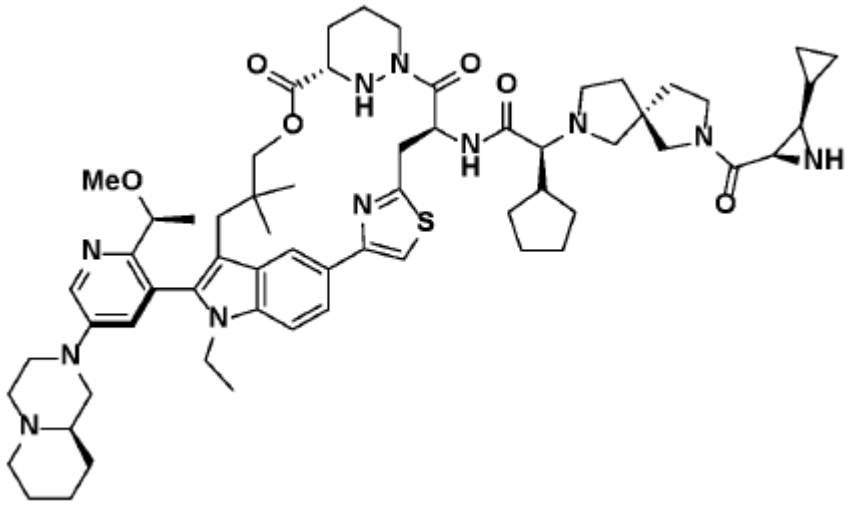
A4	
A5	
A6	
A7	

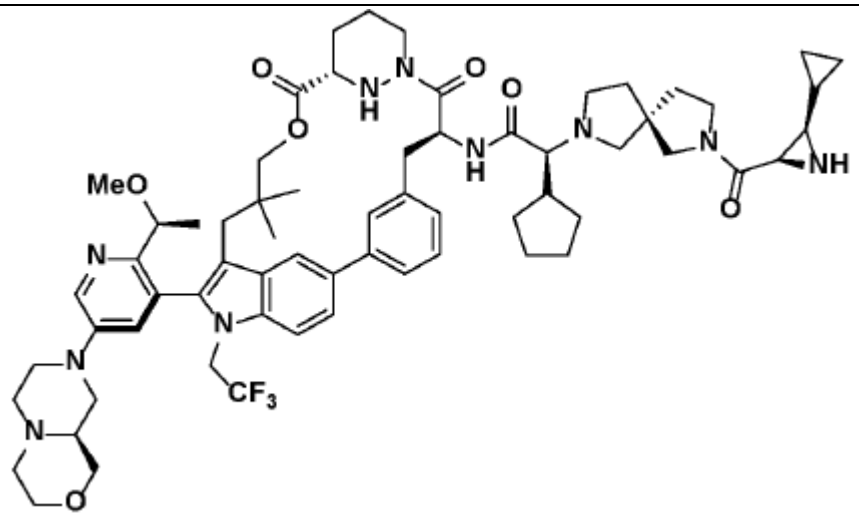
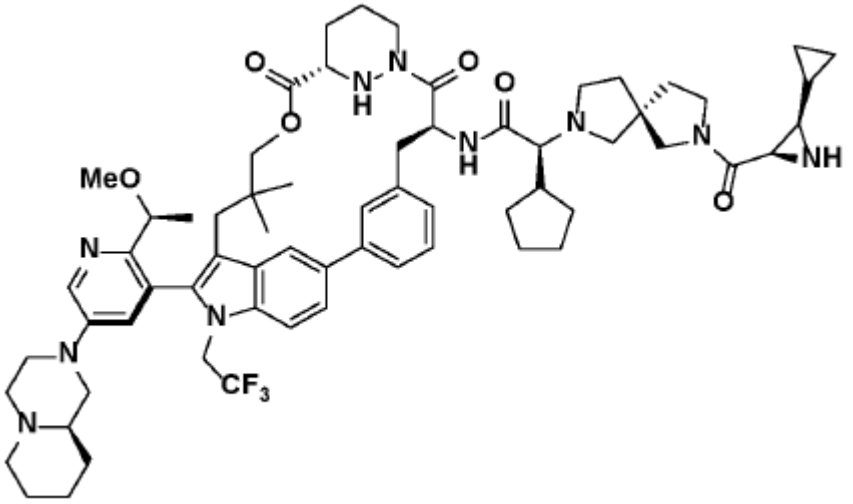
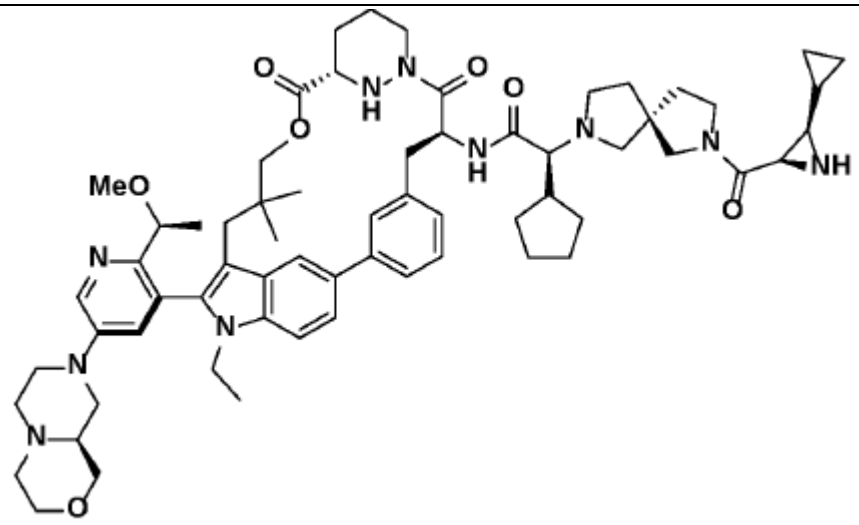
A8	
A9	
A10	
A11	

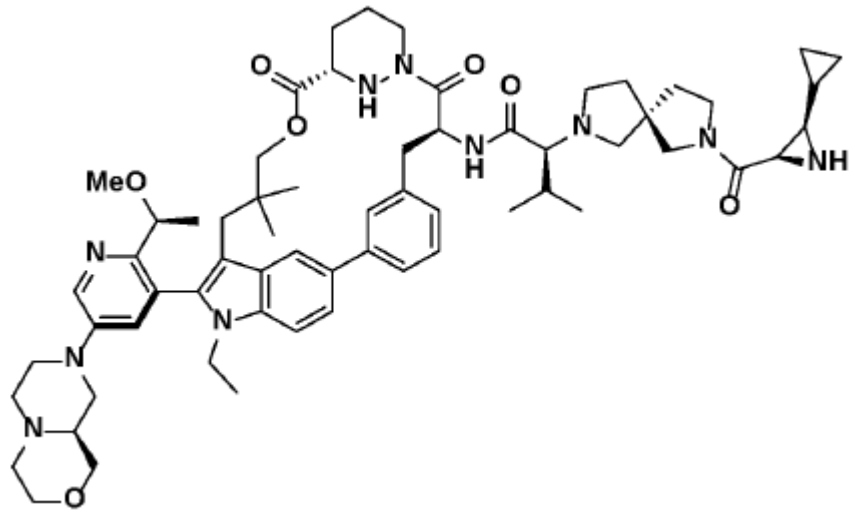
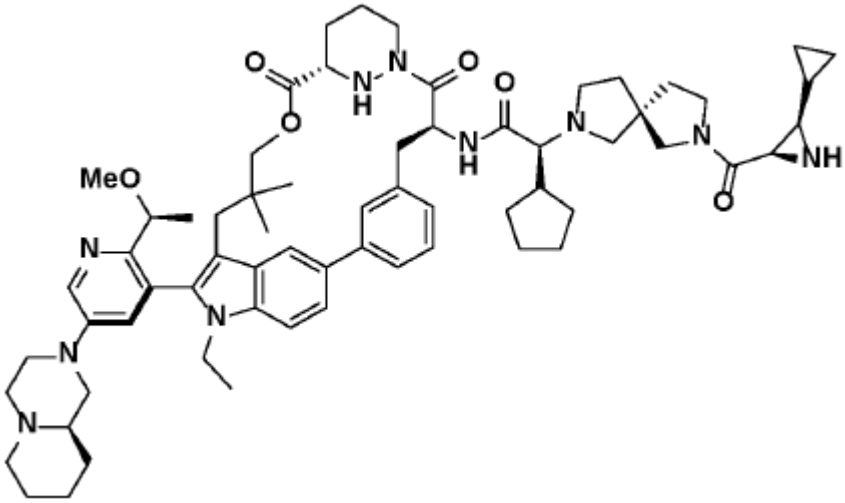
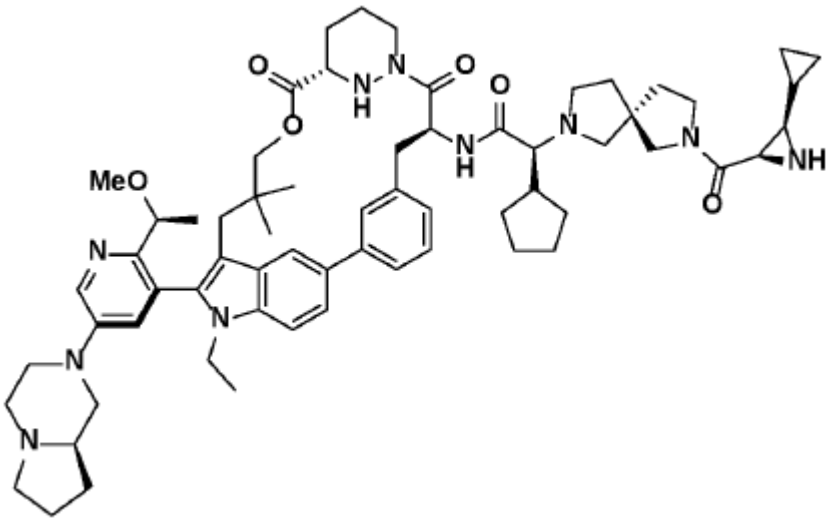
A12	
A13	
A14	
A15	

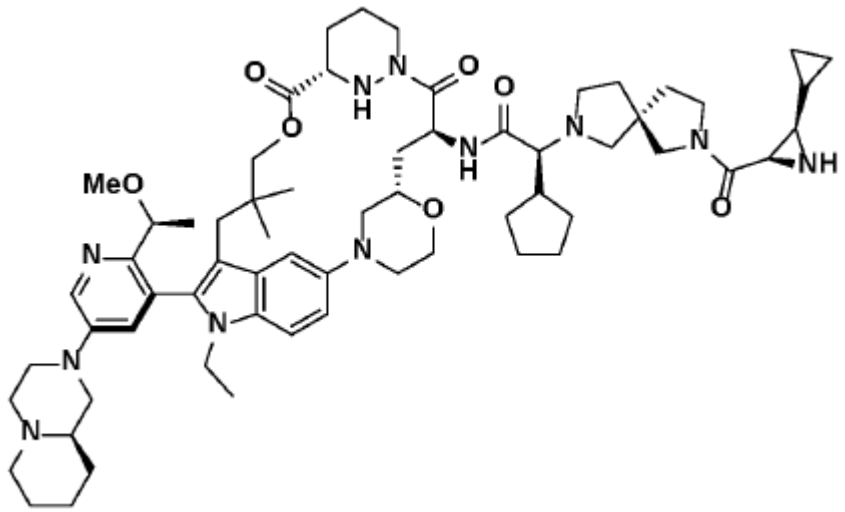
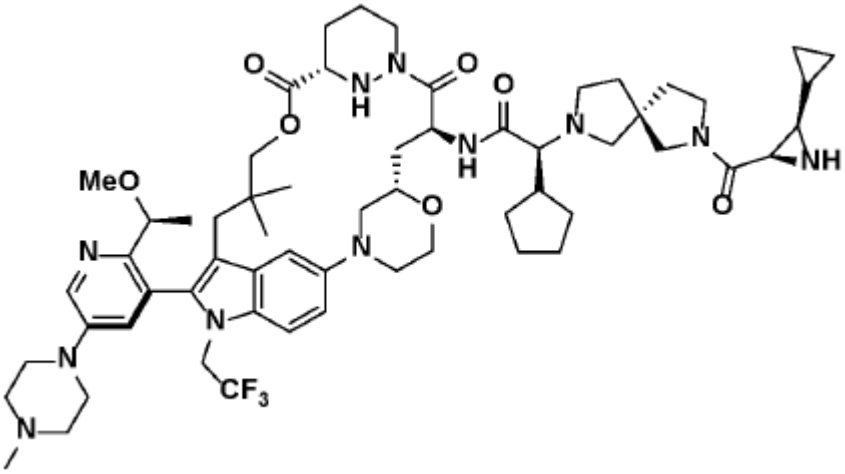
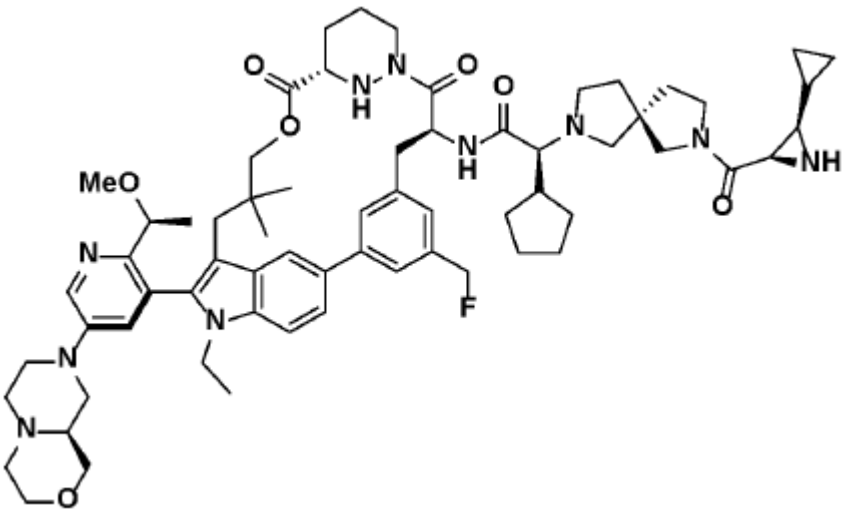
A16	
A17	
A18	
A19	

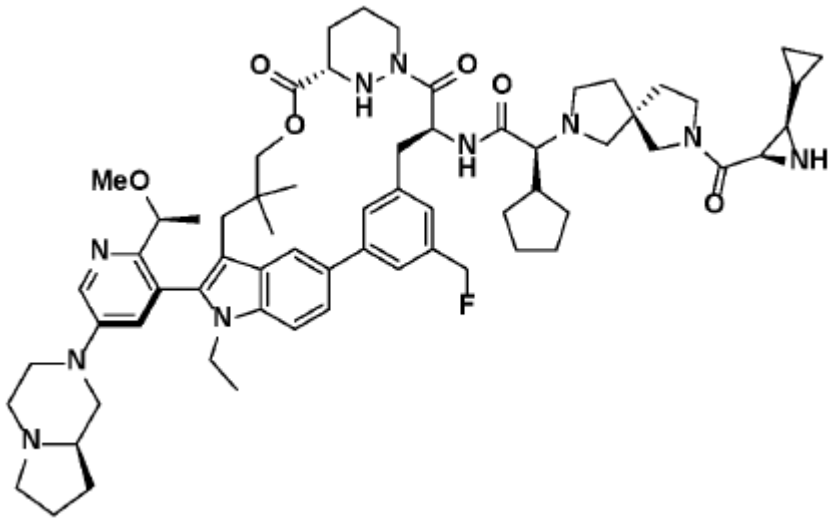
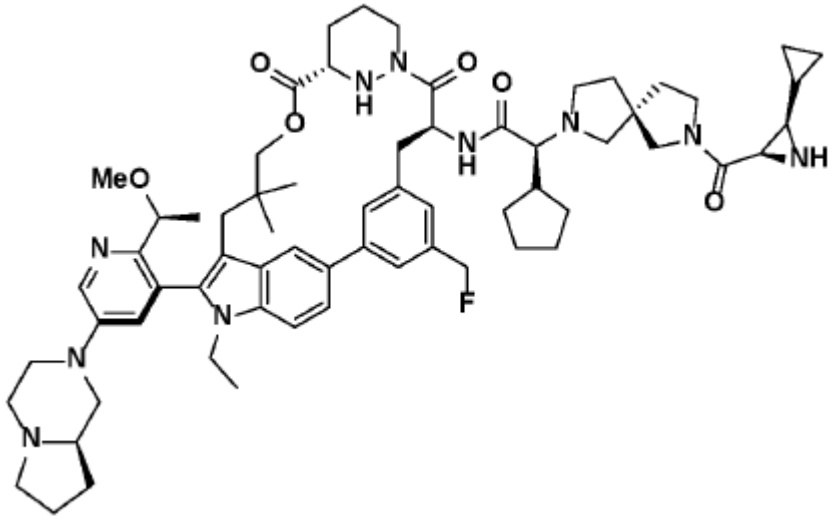
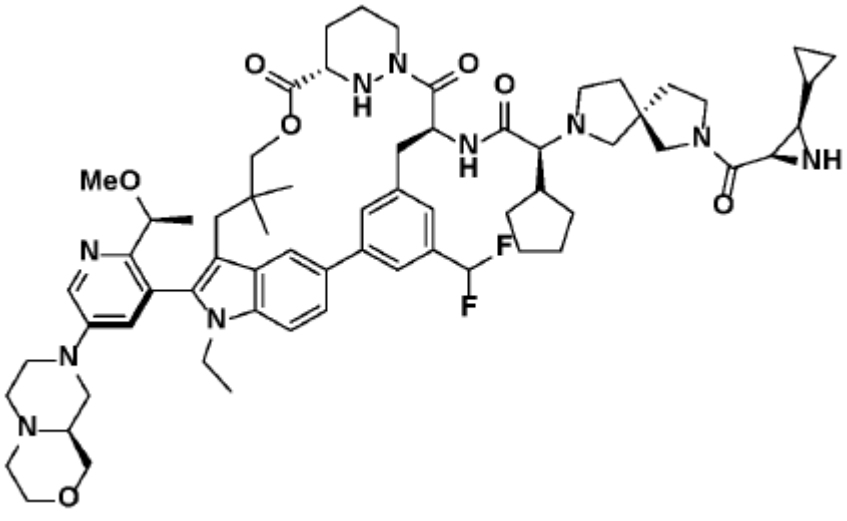
A20	
A21	
A22	

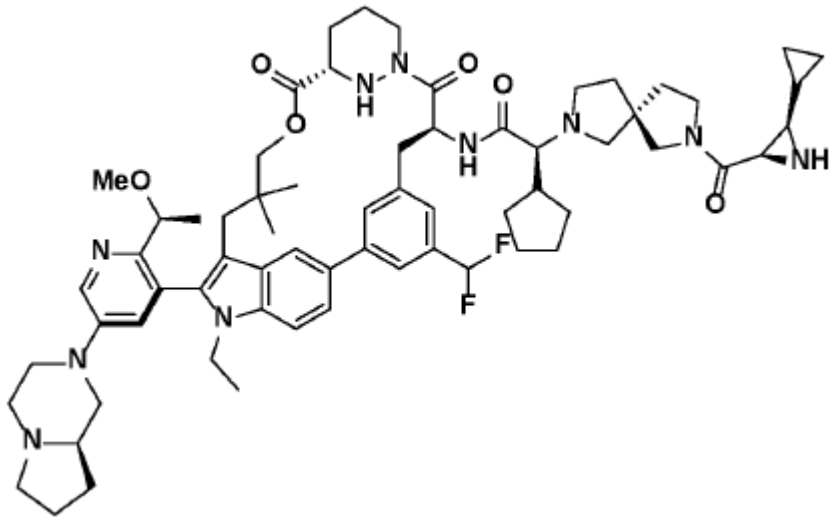
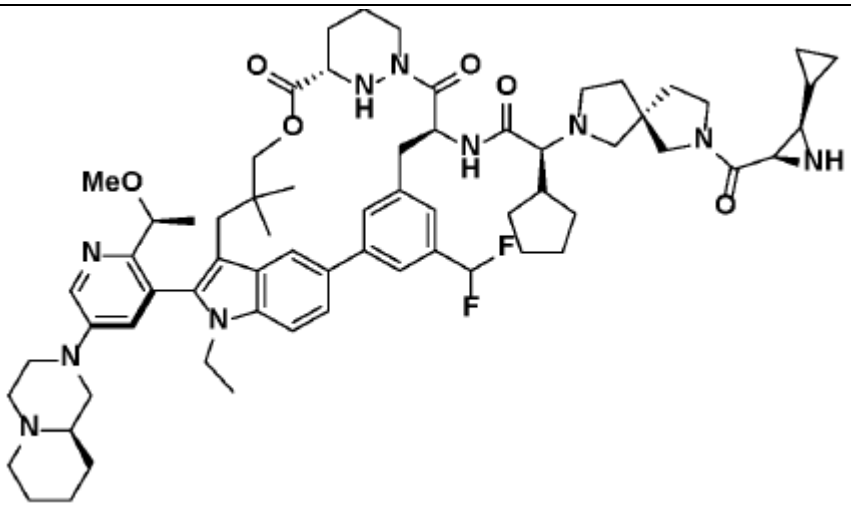
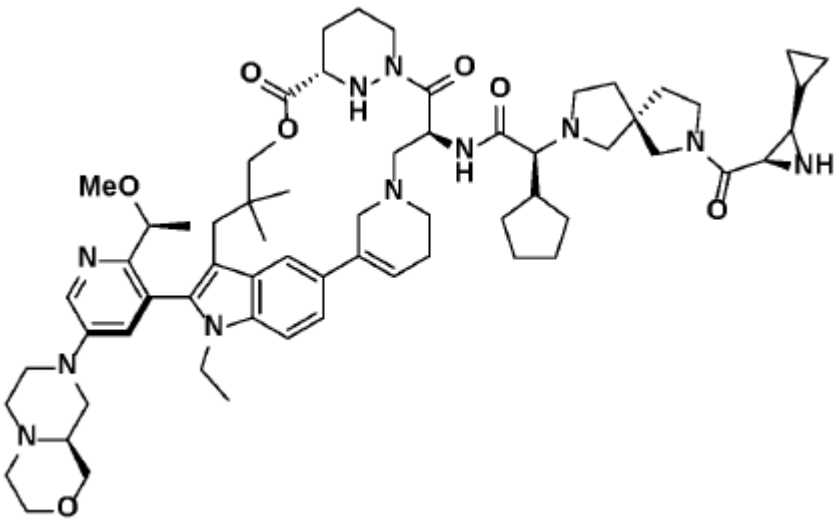
A23	
A24	
A25	

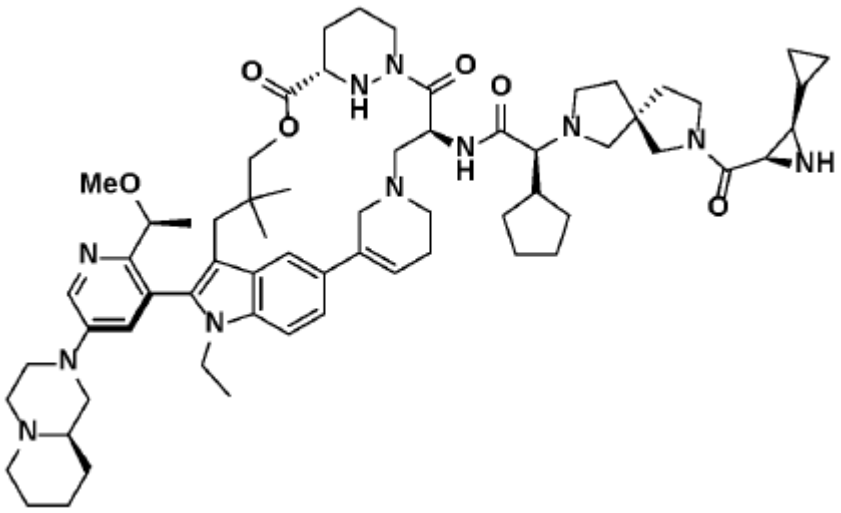
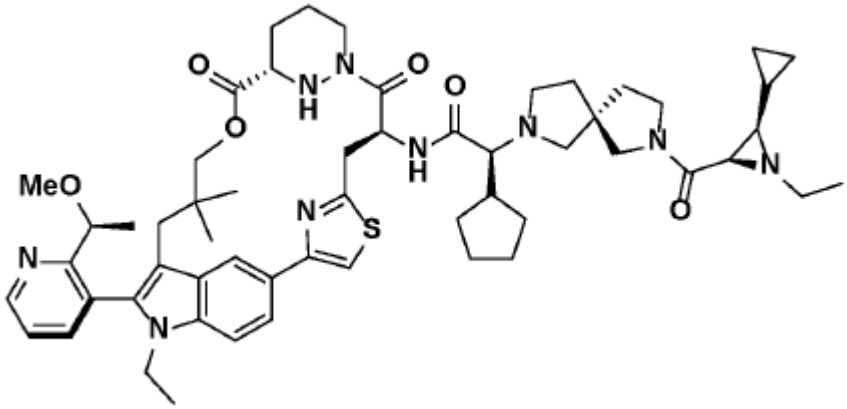
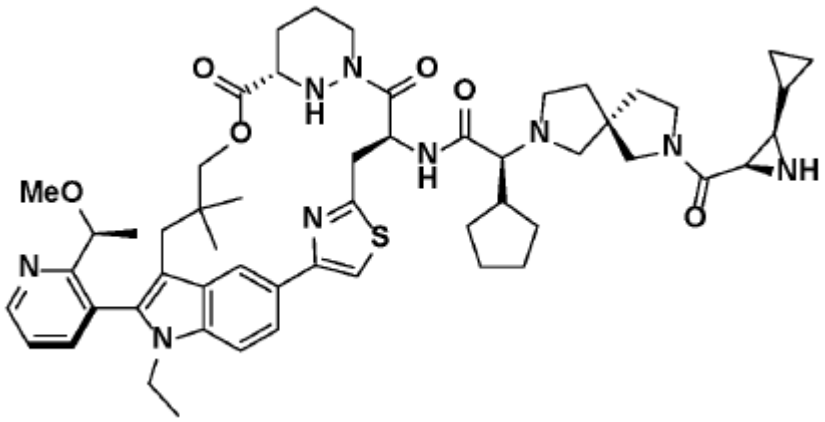
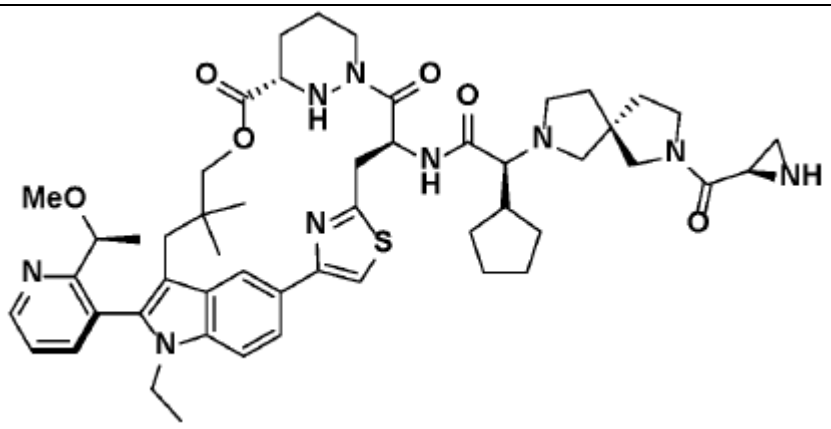
A26	
A27	
A28	

A29	
A30	
A31	

A32	
A33	
A34	

A35	
A36	
A37	

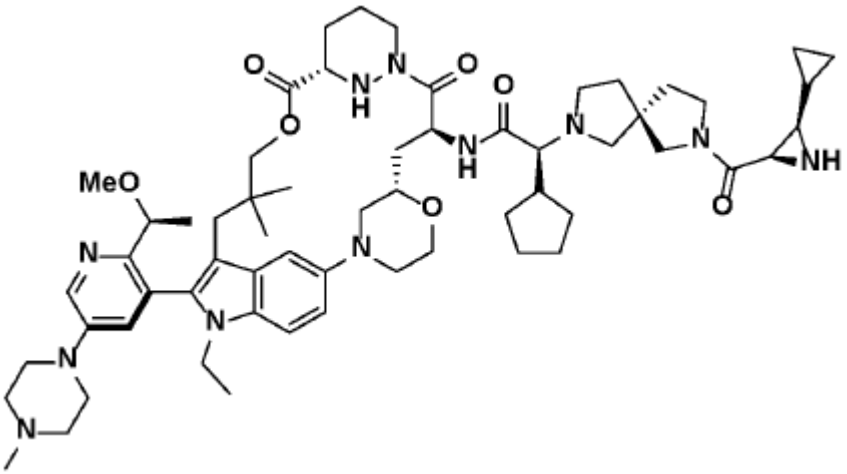
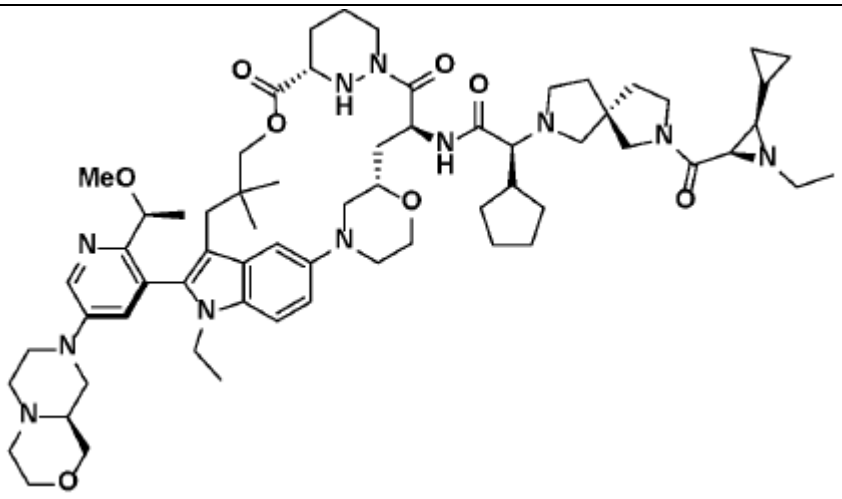
A38	
A39	
A40	

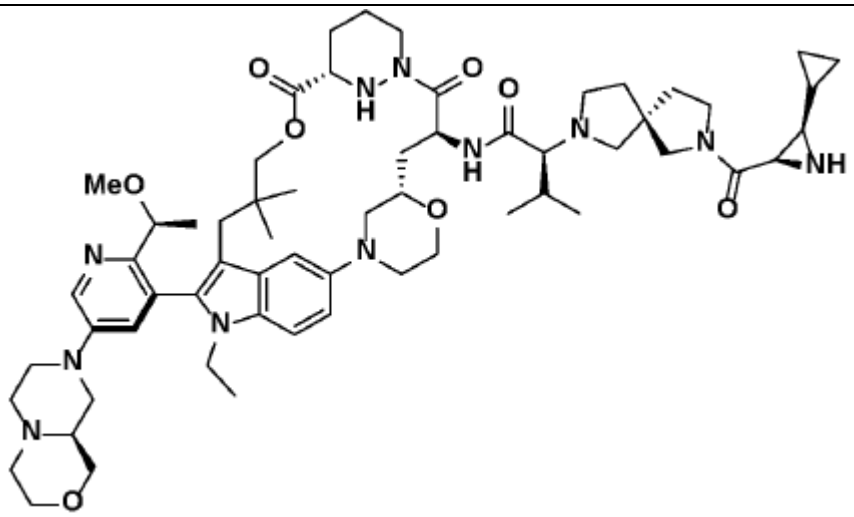
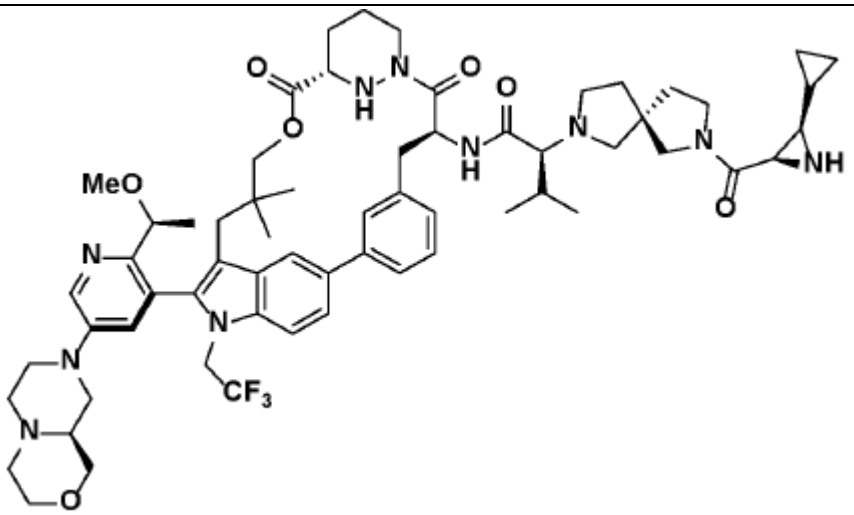
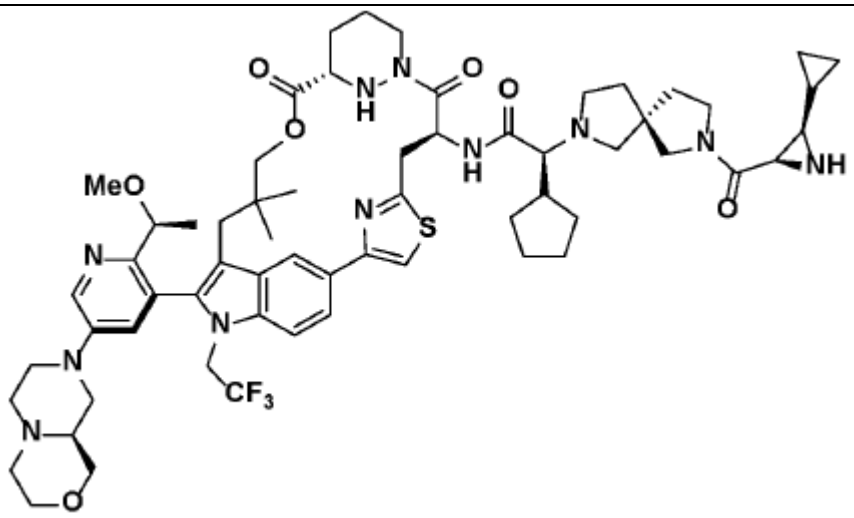
A41	
A42	
A43	
A44	

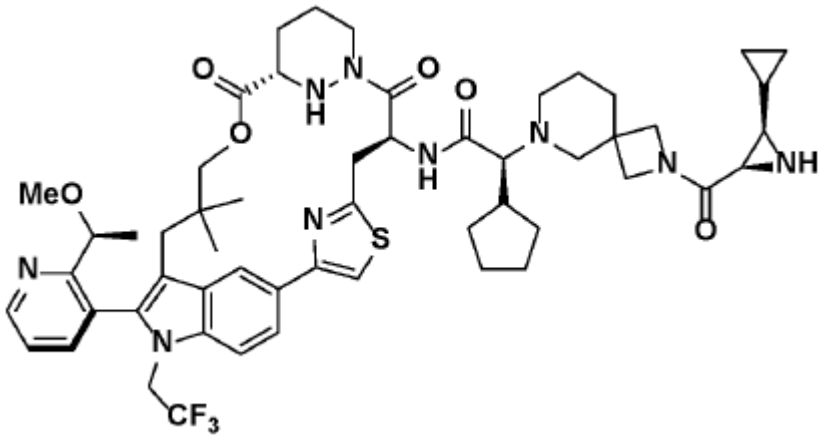
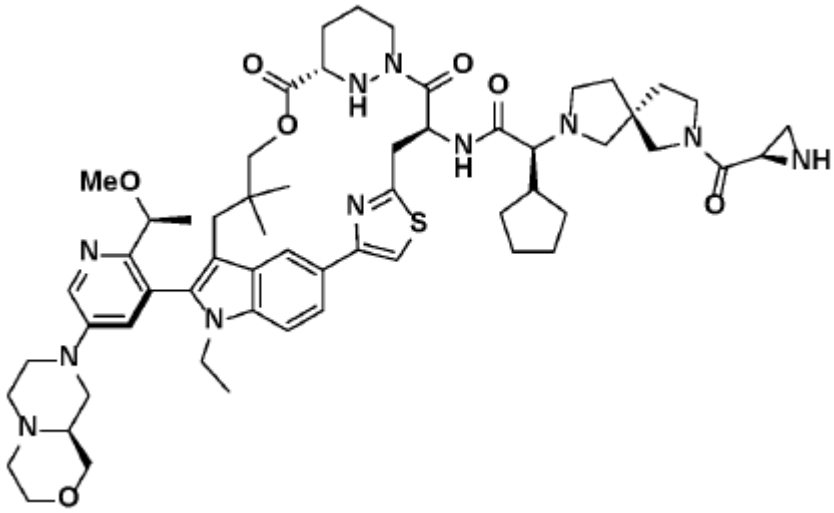
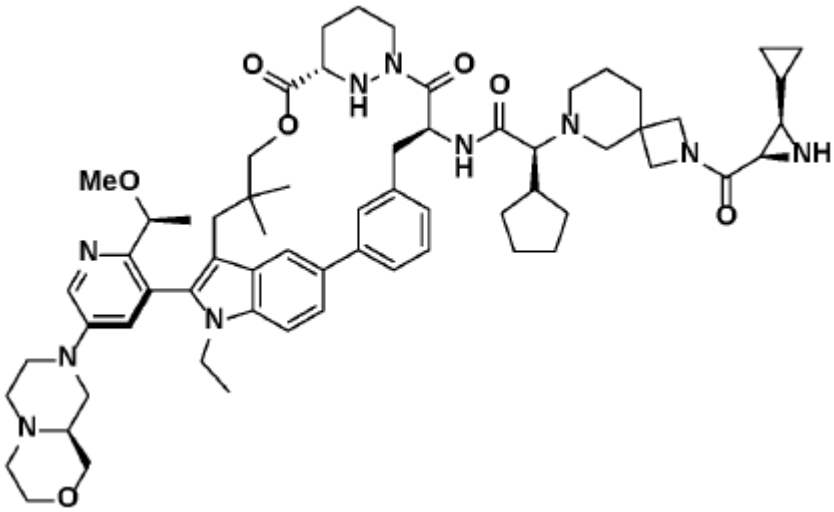
*Se supone la estereoquímica del carbono de aziridina.

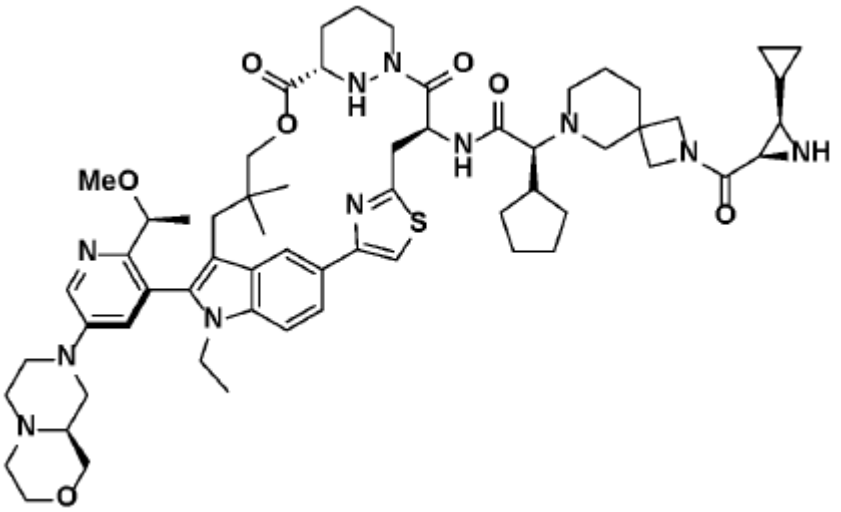
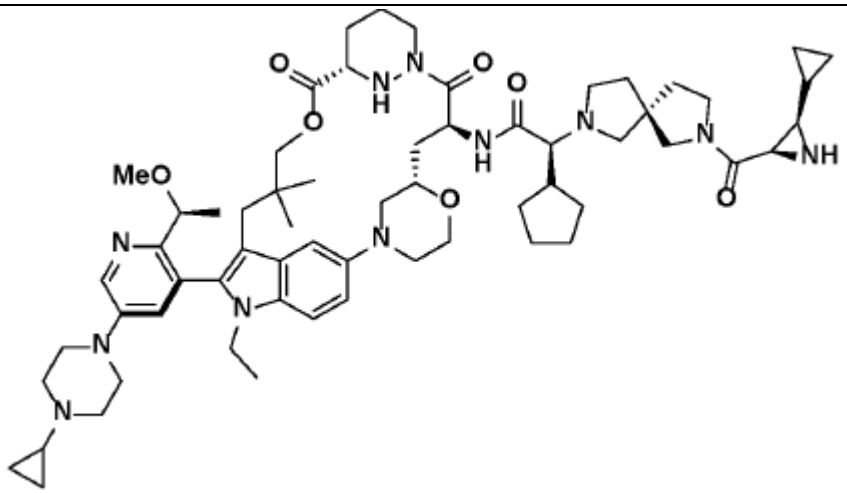
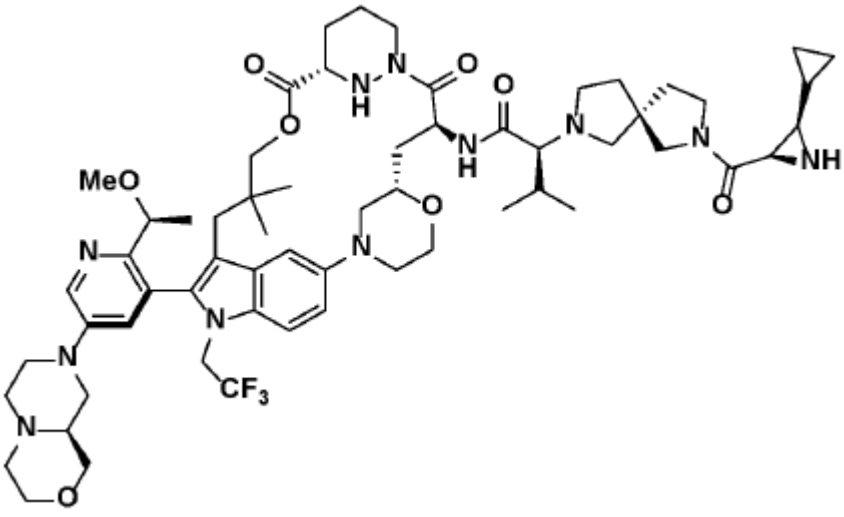
Cabe destacar que algunos compuestos se muestran con enlaces como planos o acuñados. En algunos casos, se determinó la estereoquímica relativa de los estereoisómeros; en algunos casos, se determinó la estereoquímica absoluta. En algunos casos, un único número de Ejemplo corresponde a una mezcla de estereoisómeros. Todos los estereoisómeros de los compuestos de la tabla anterior se contemplan por la presente invención. En modalidades particulares, se contempla un atropisómero de un compuesto de la tabla anterior. En algunas modalidades, se proporciona un compuesto de Tabla 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, se selecciona un compuesto de la presente invención de Tabla 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

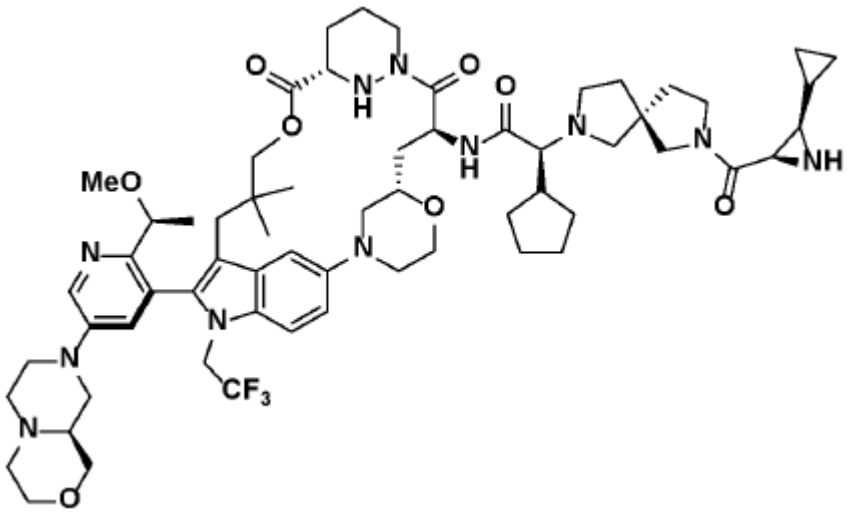
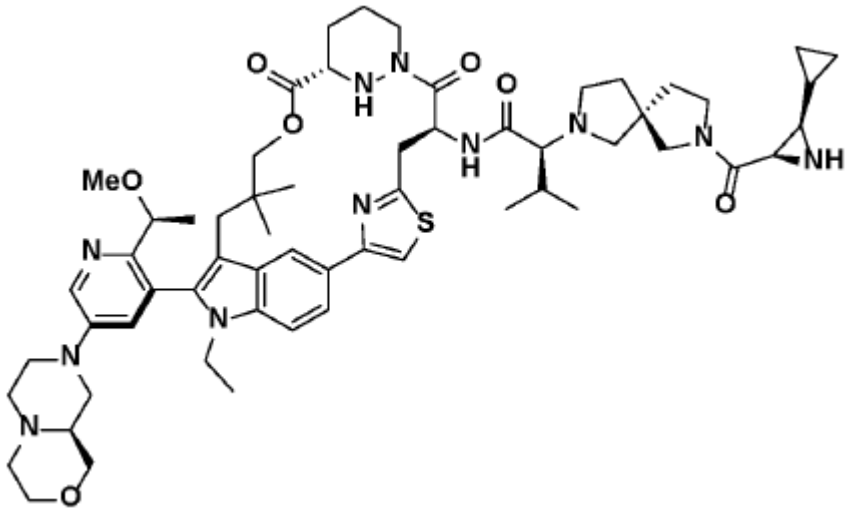
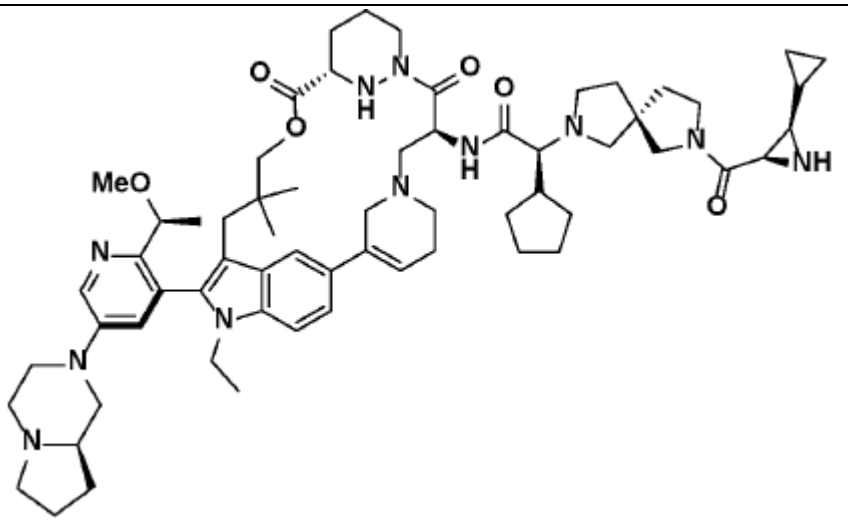
Tabla 2: Determinados compuestos de la presente invención

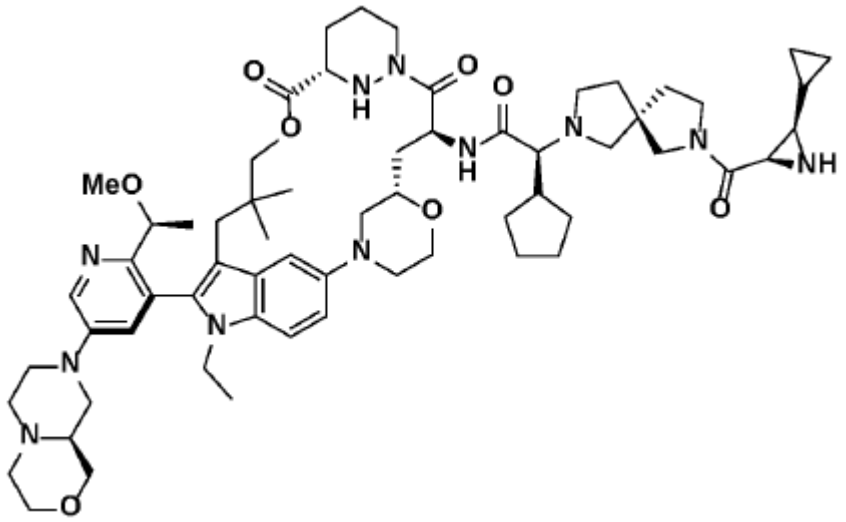
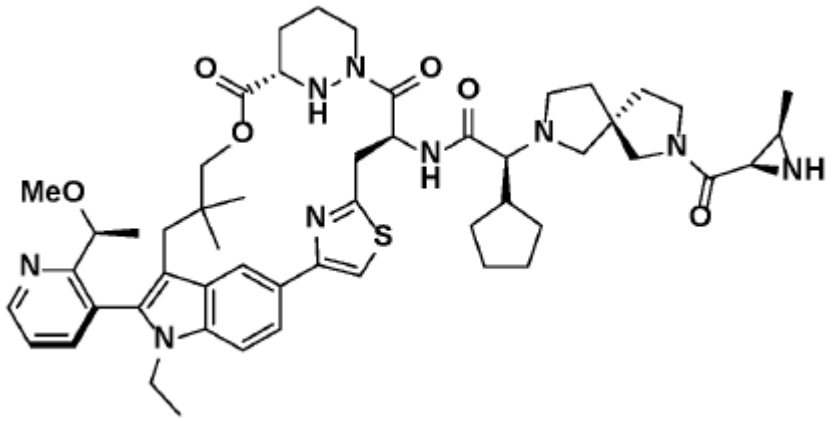
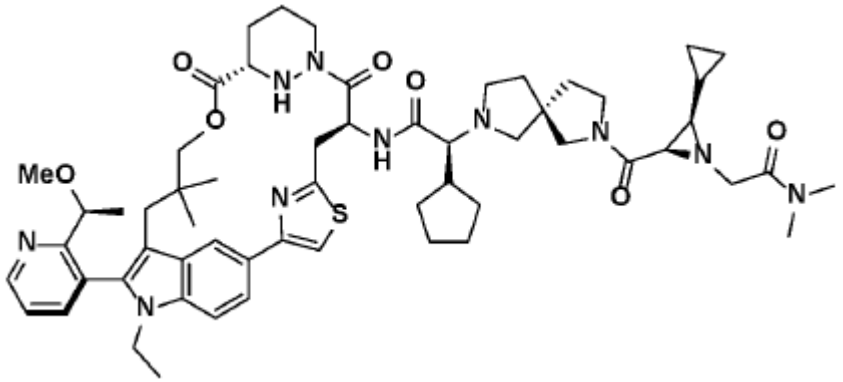
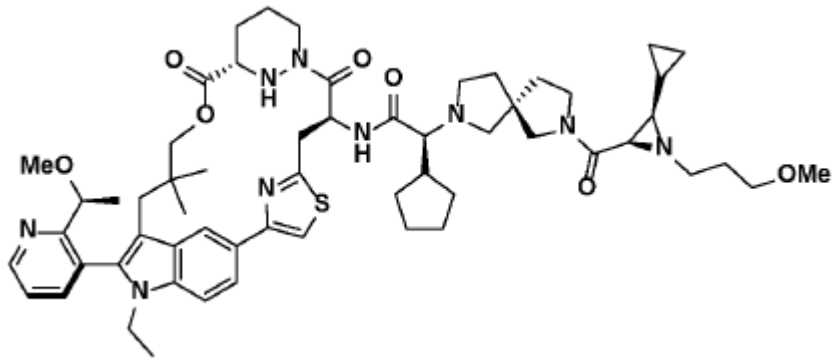
Ej. núm	Estructura
B1	
B2	

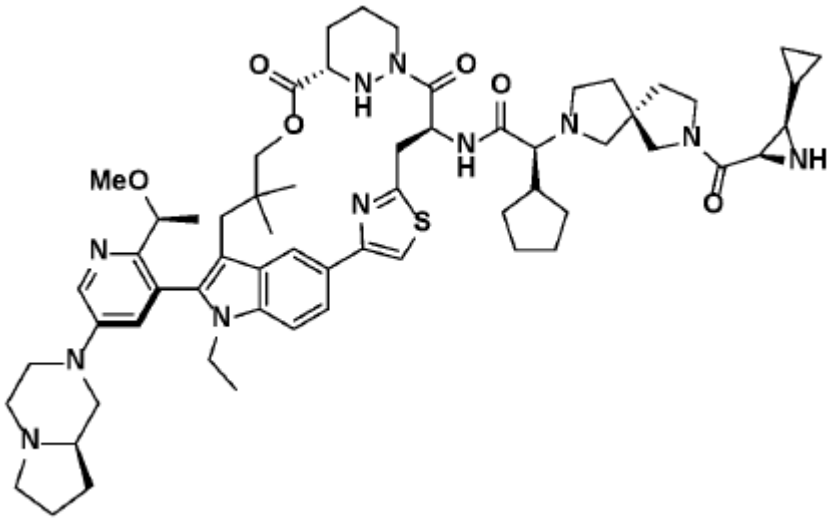
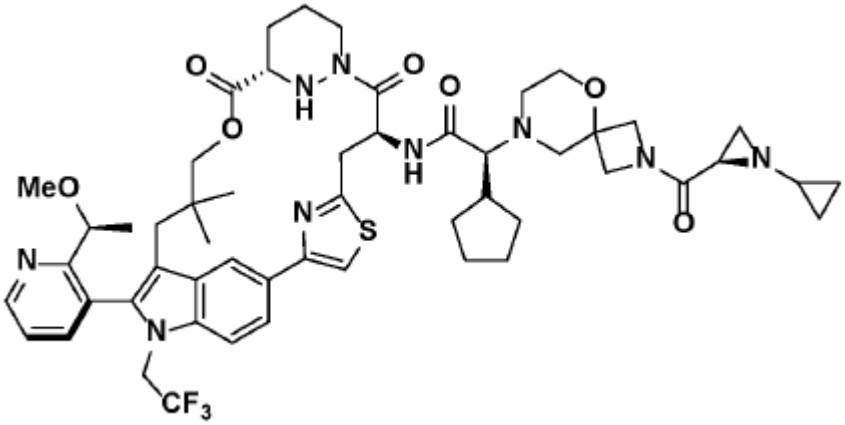
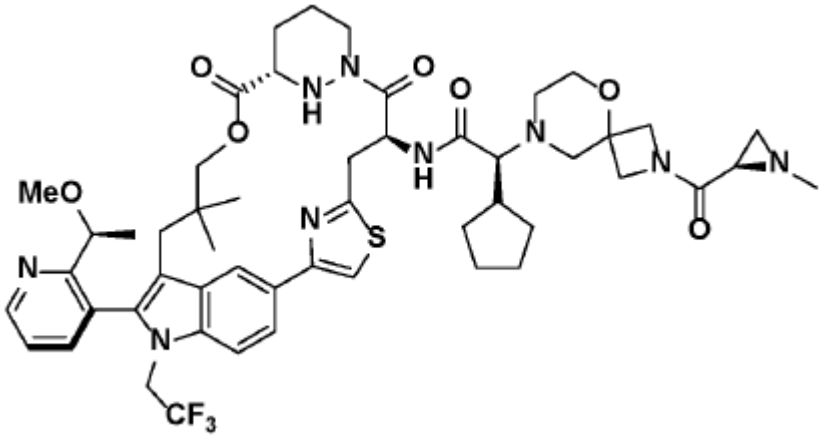
B3	
B4	
B5	

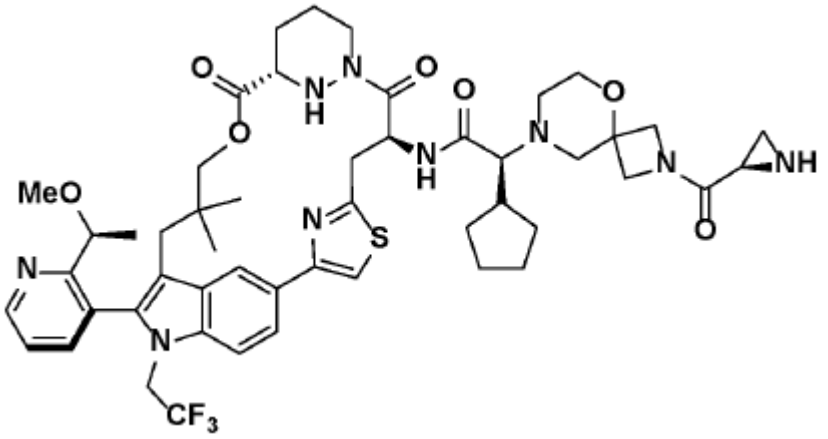
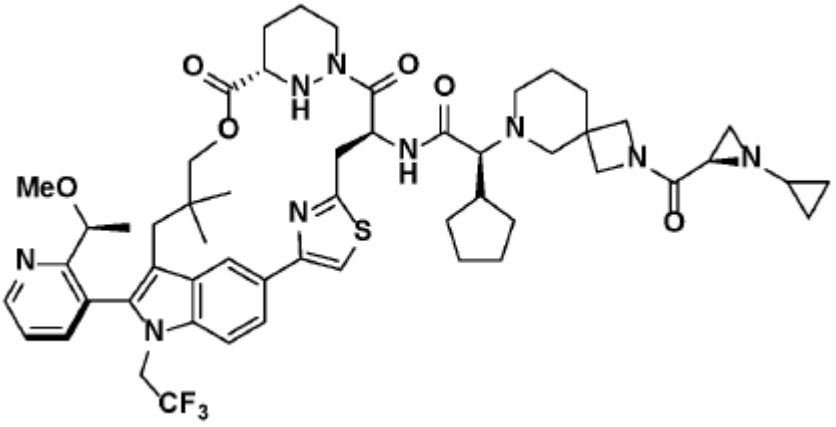
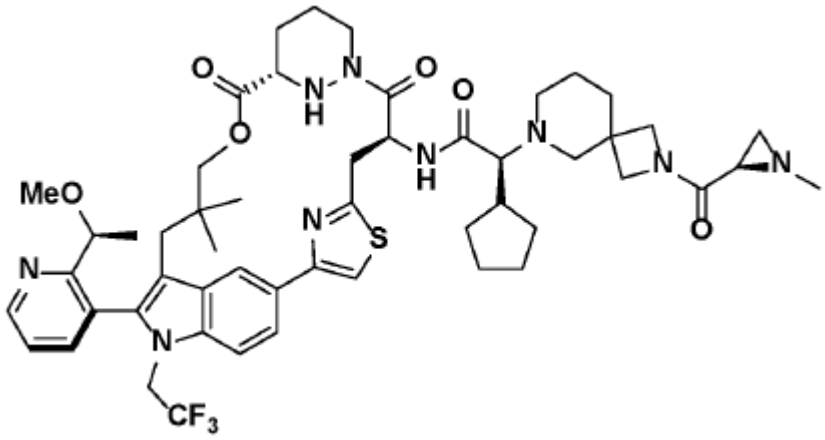
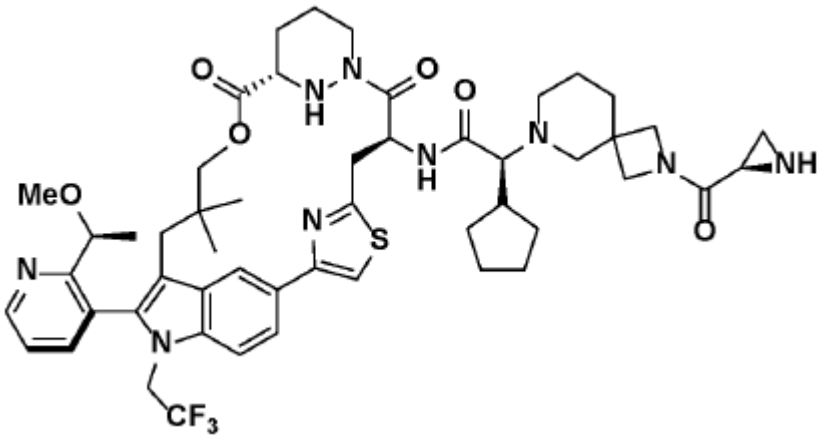
B6	
B7	
B8	

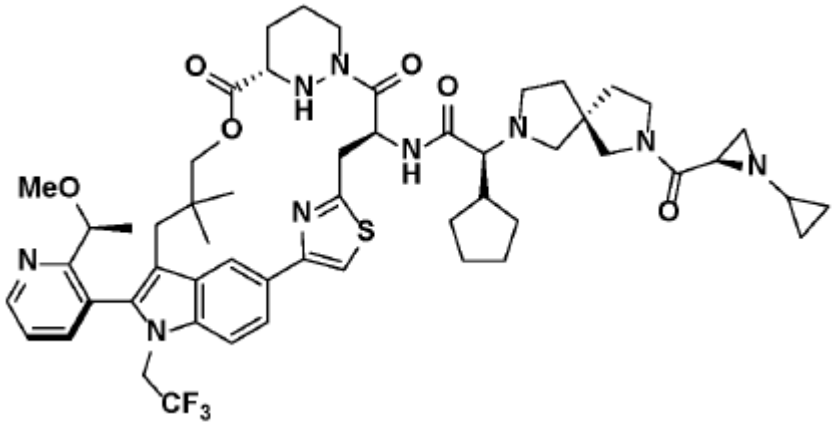
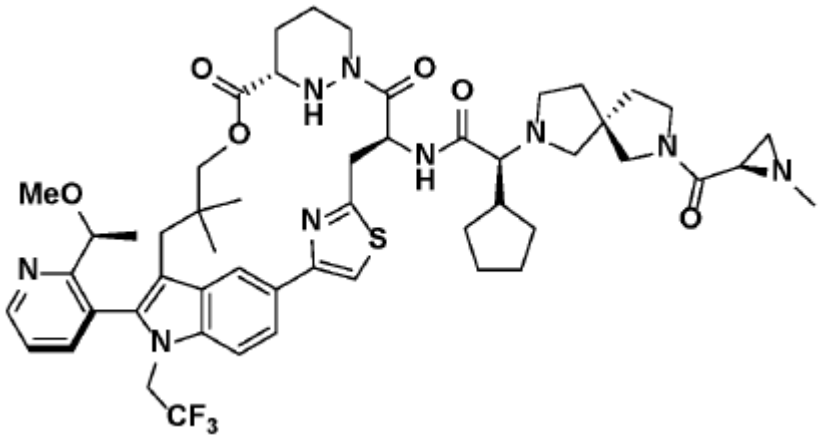
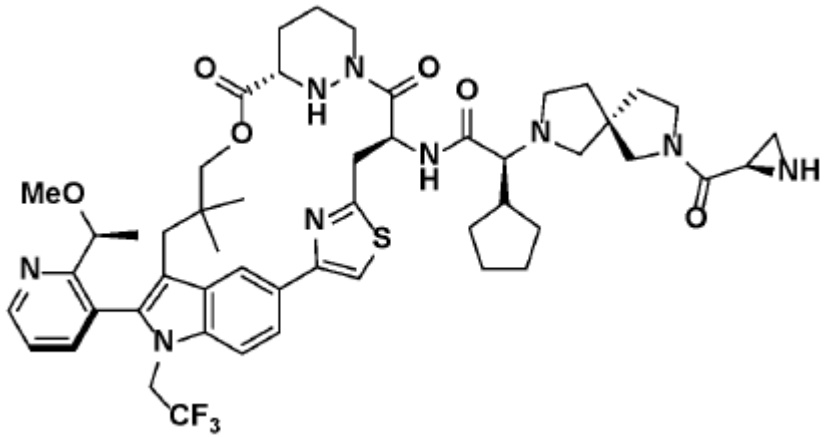
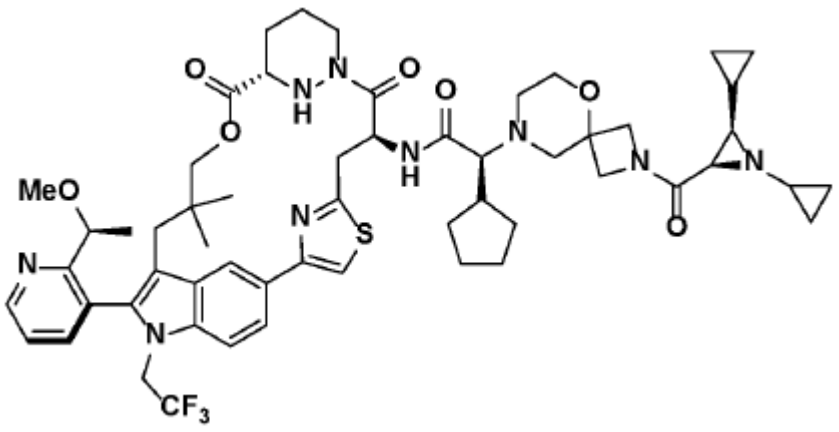
B9	
B10	
B11	

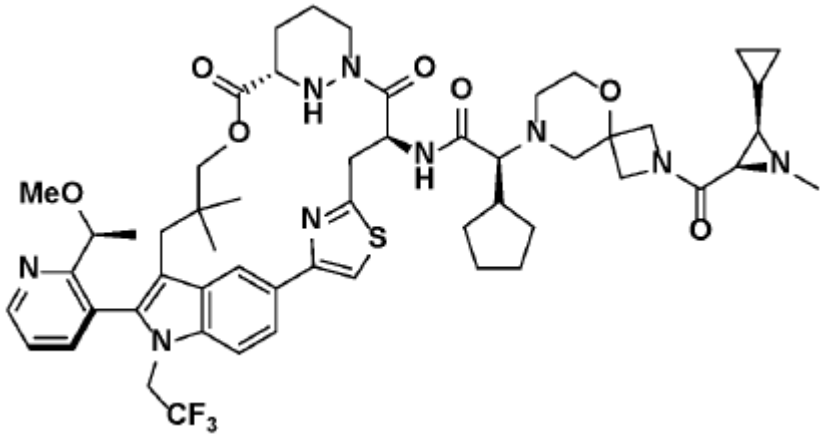
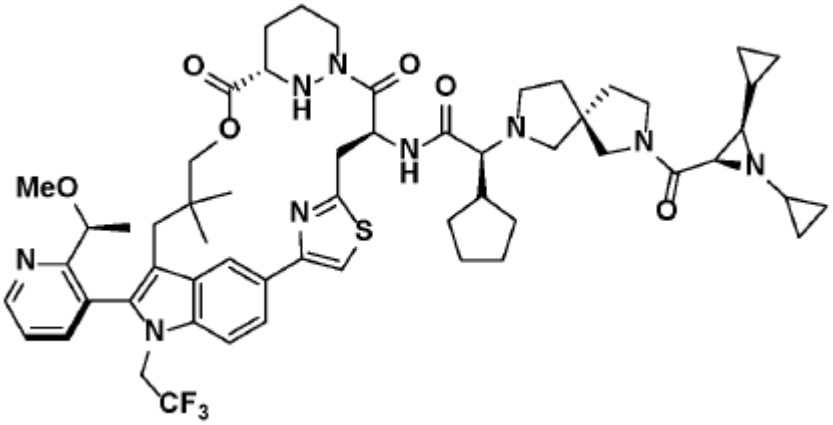
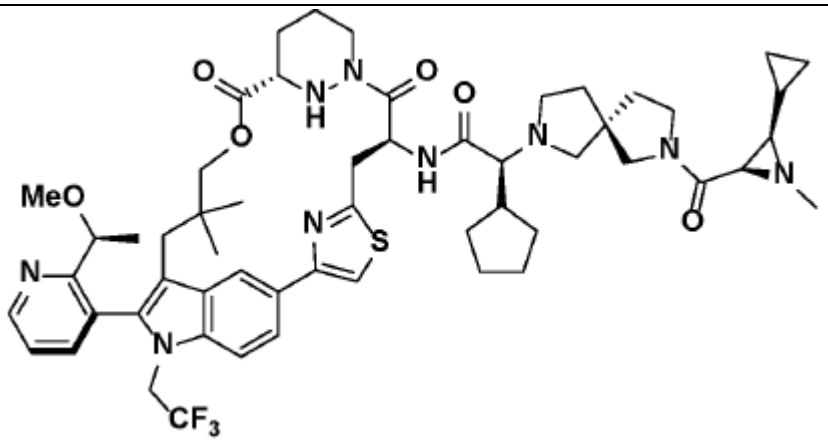
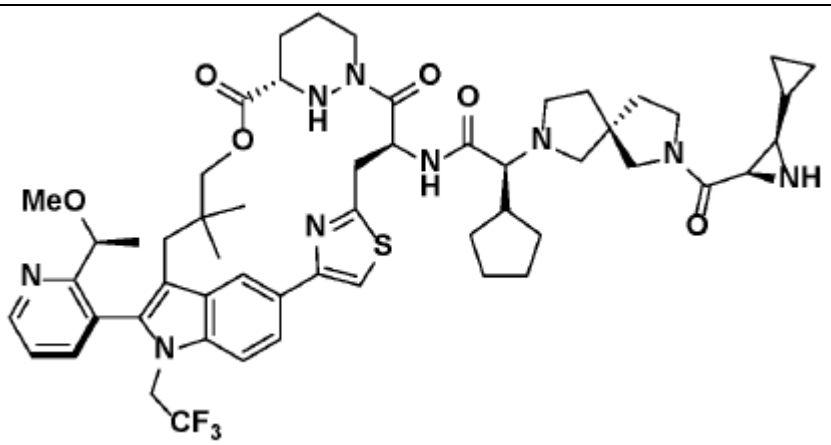
B12	
B13	
B14	

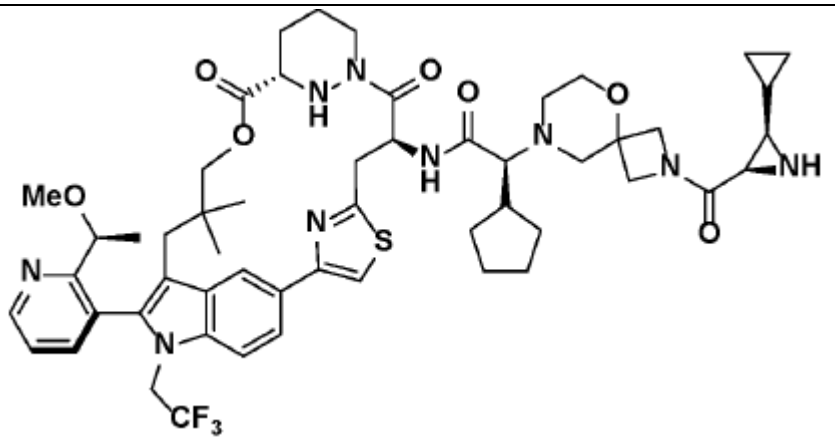
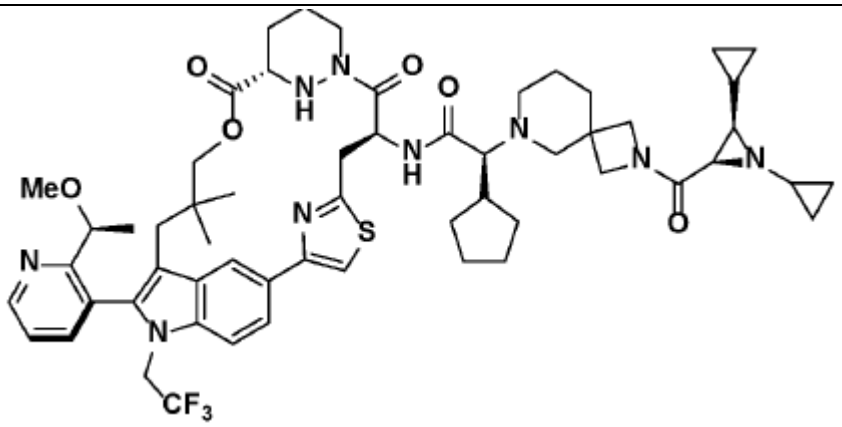
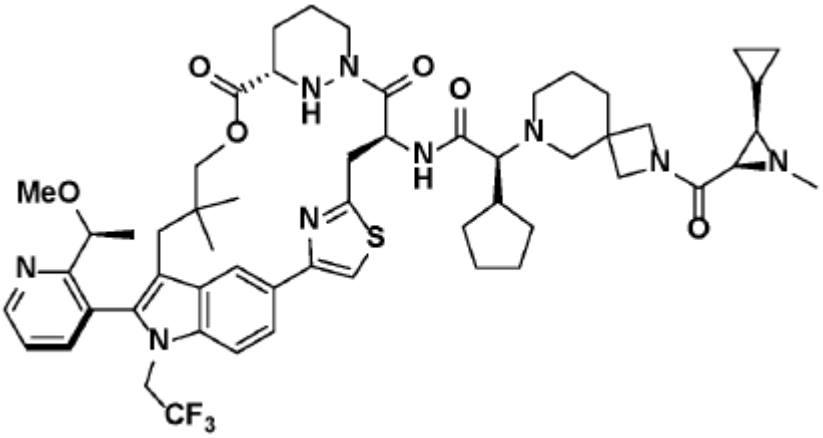
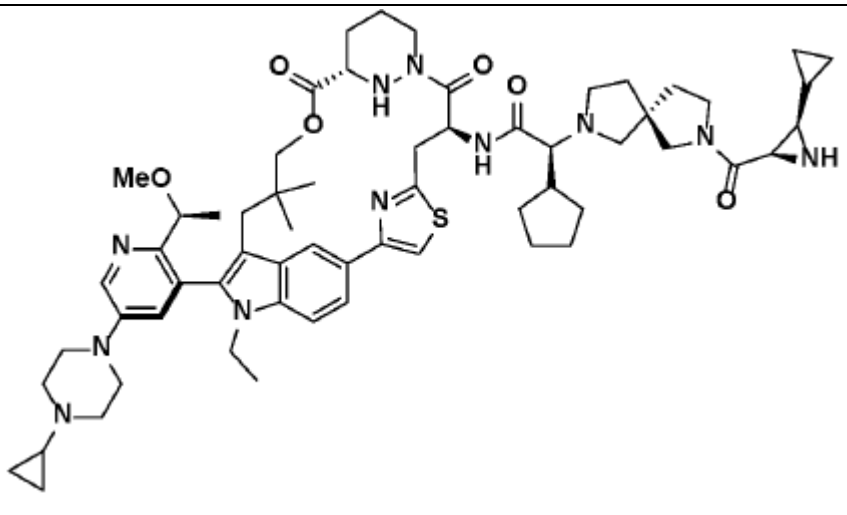
B15	
B16	
B17	
B18	

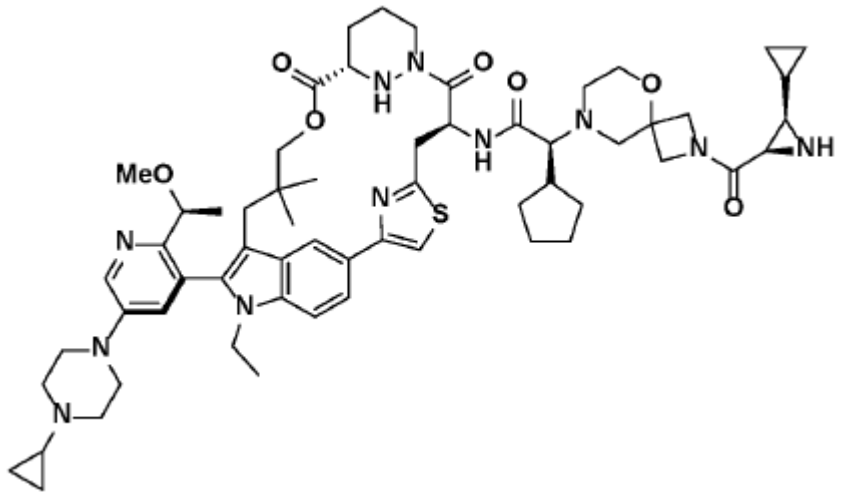
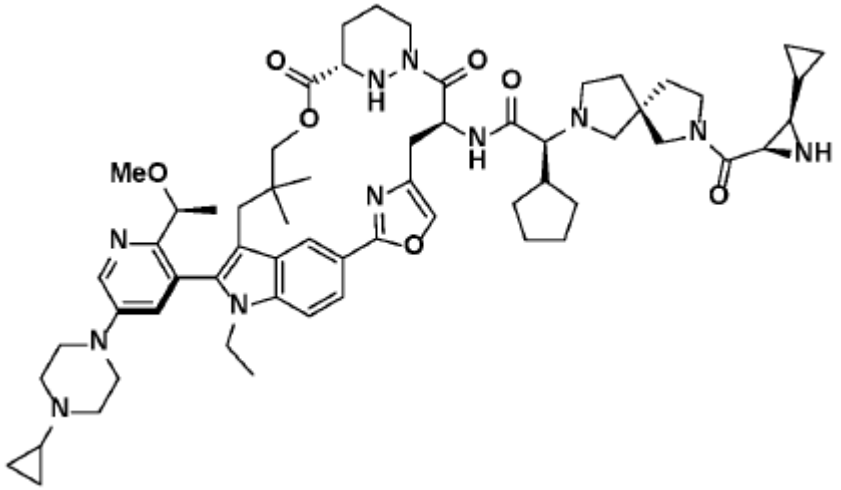
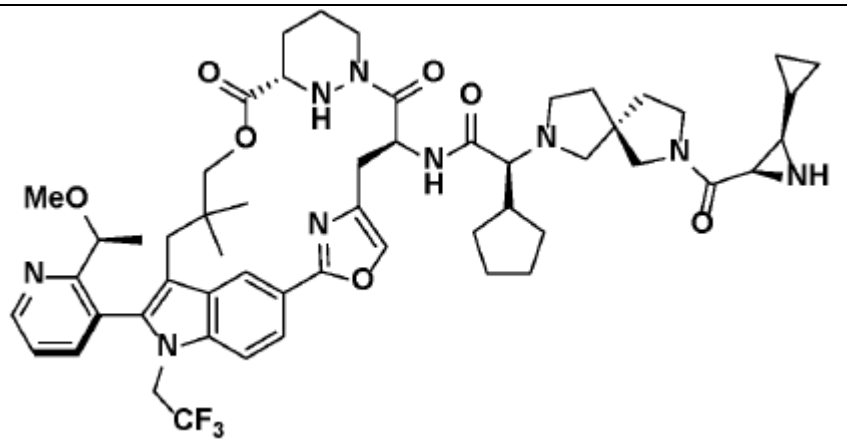
B19	
B20	
B21	

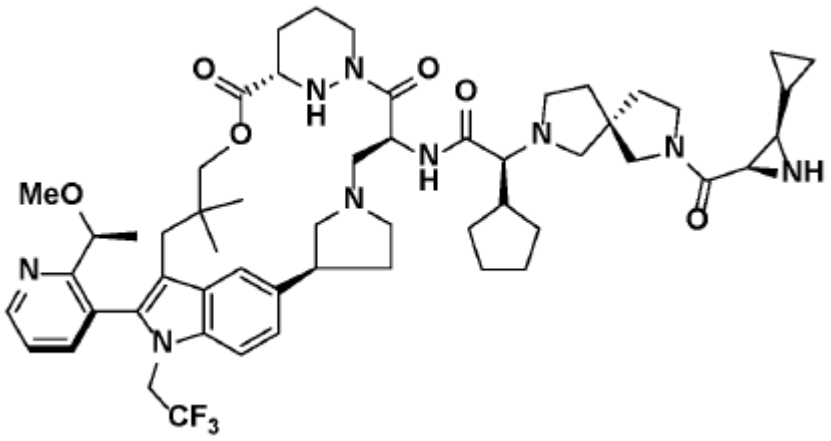
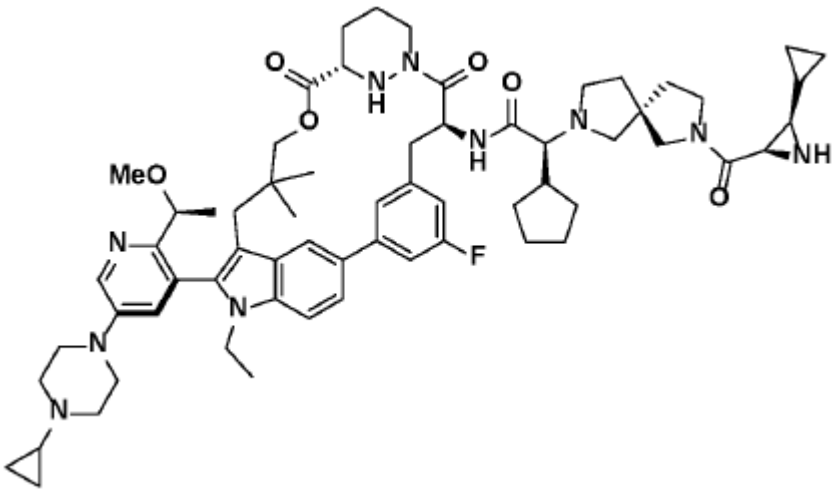
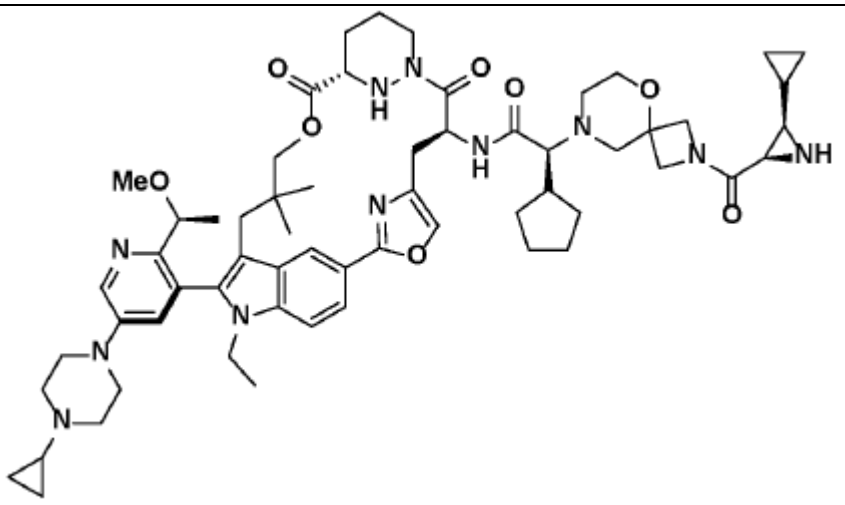
B22	
B23	
B24	
B25	

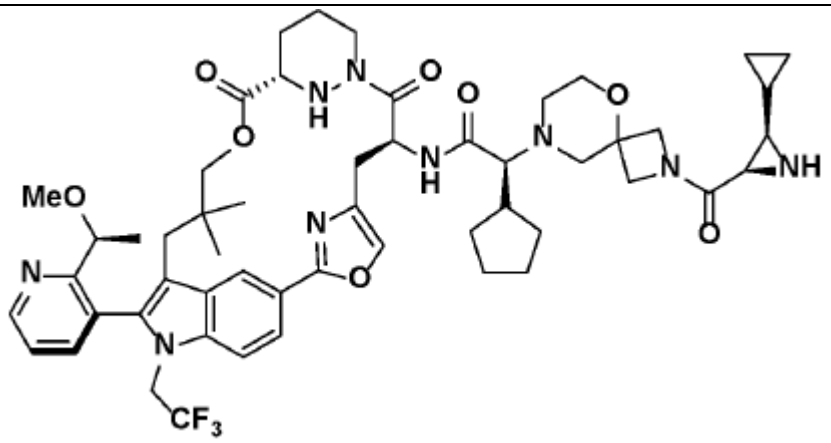
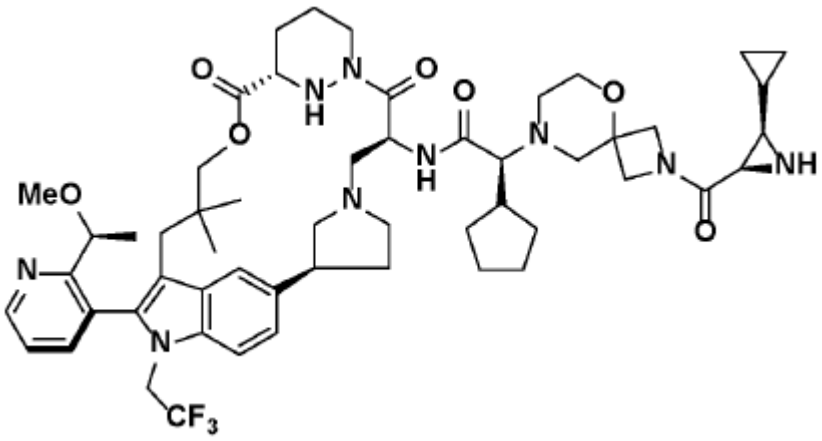
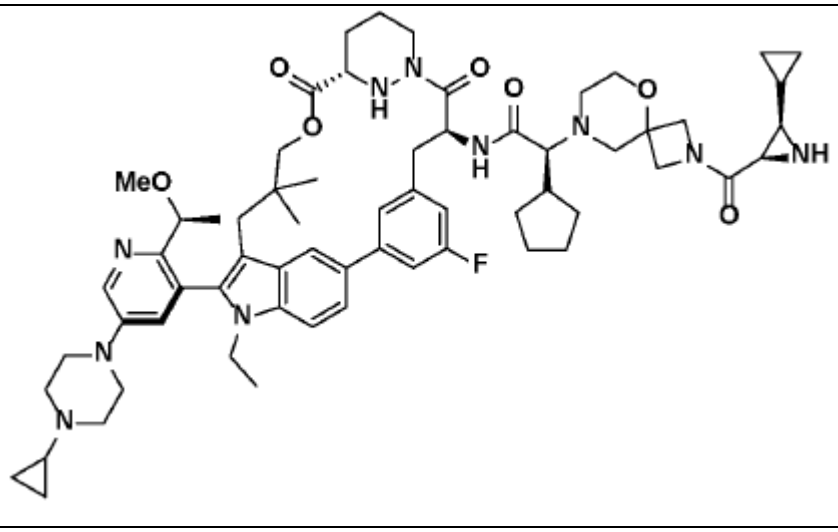
B26	
B27	
B28	
B29	

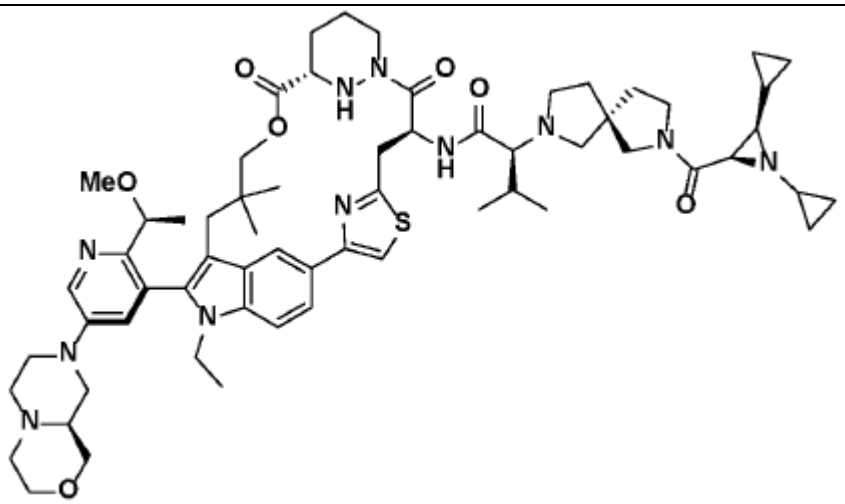
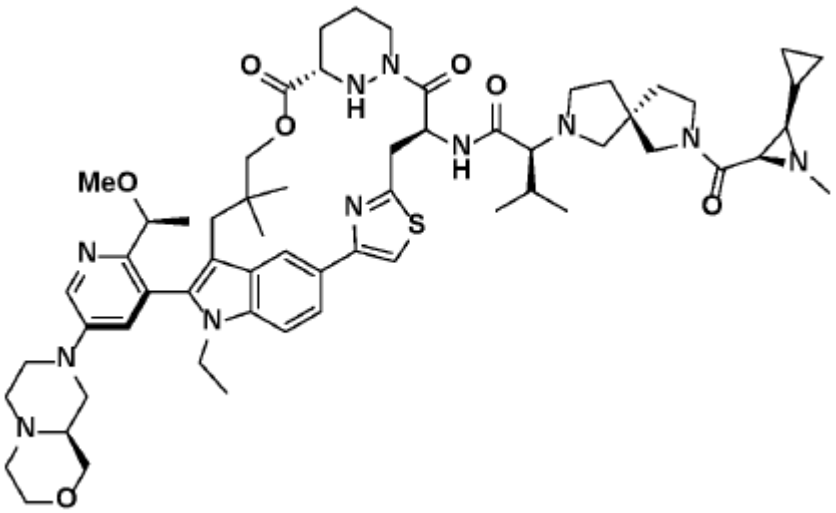
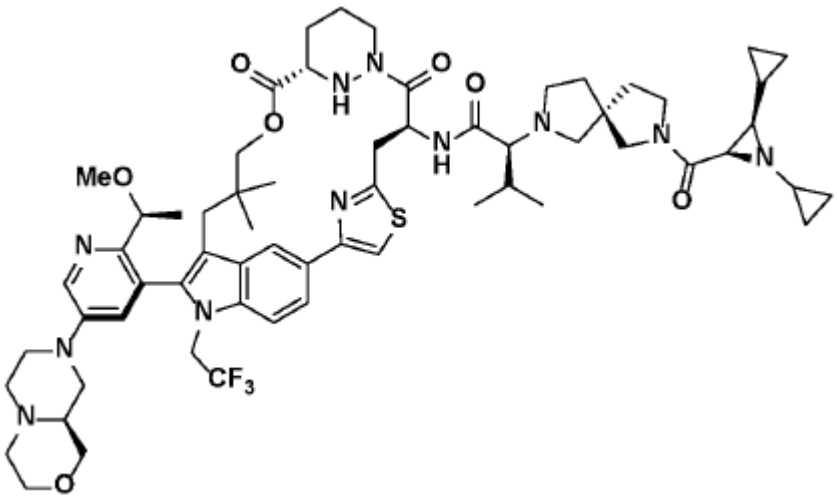
B30	
B31	
B32	
B33	

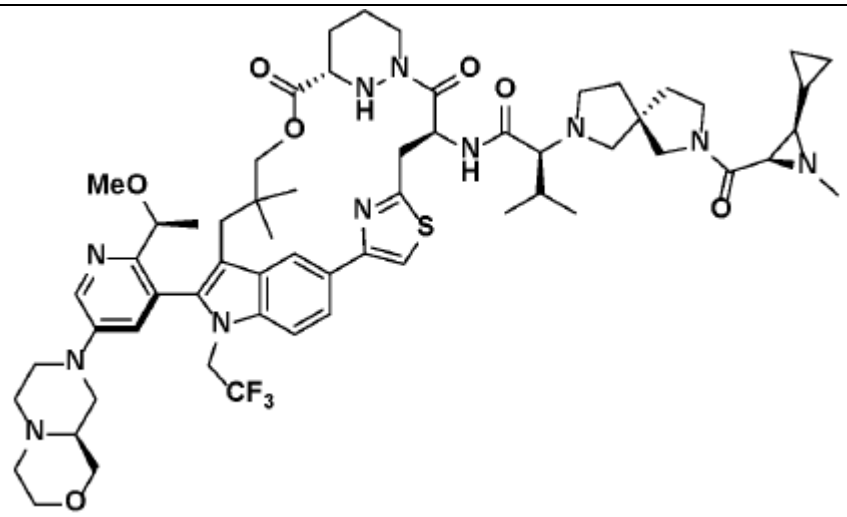
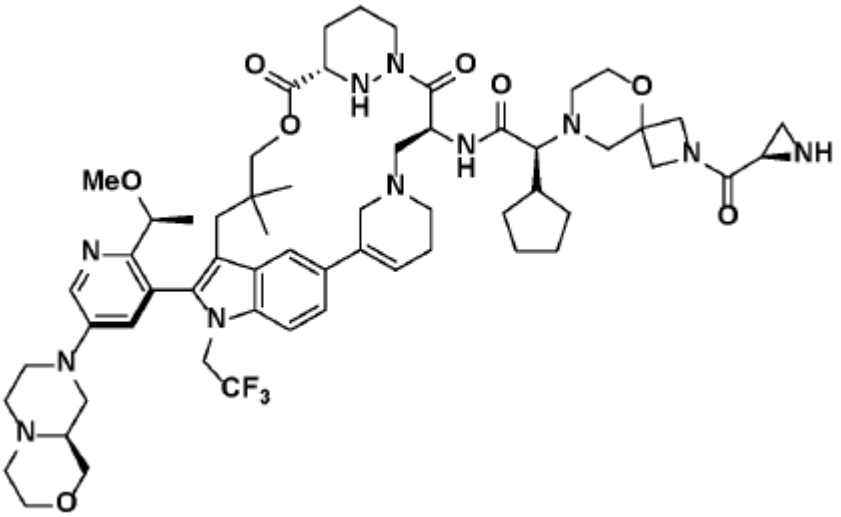
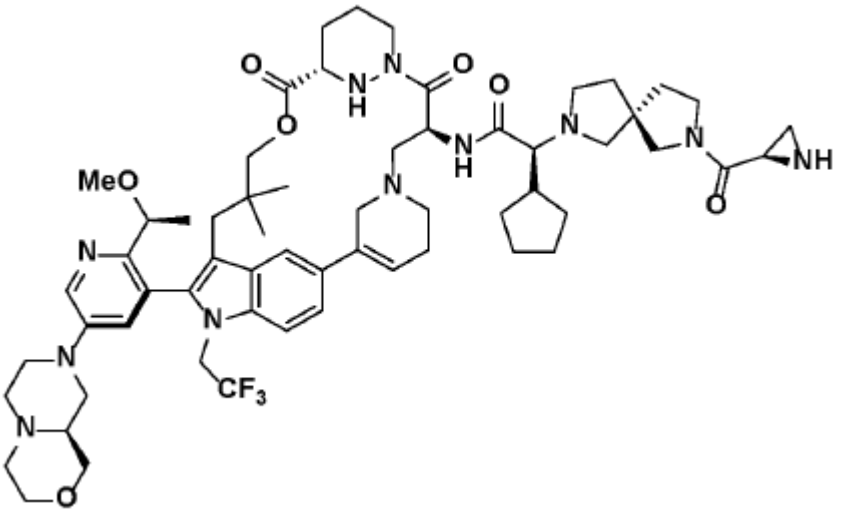
B34	
B35	
B36	
B37	

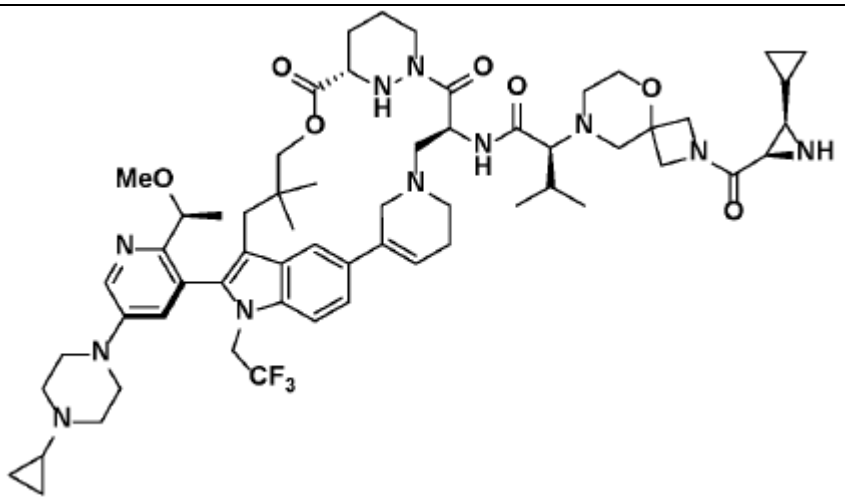
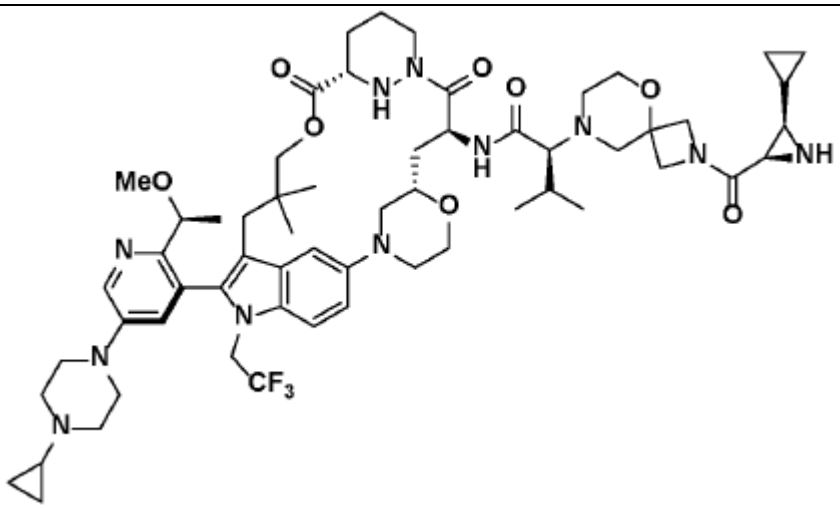
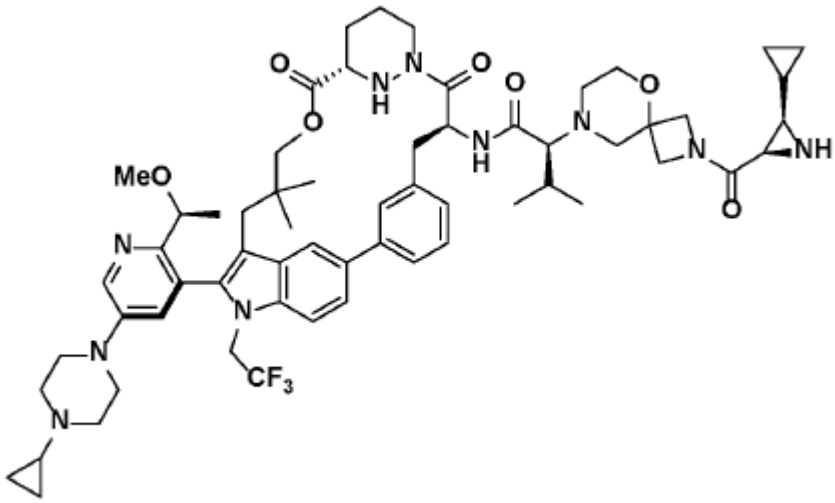
B38	
B39	
B40	

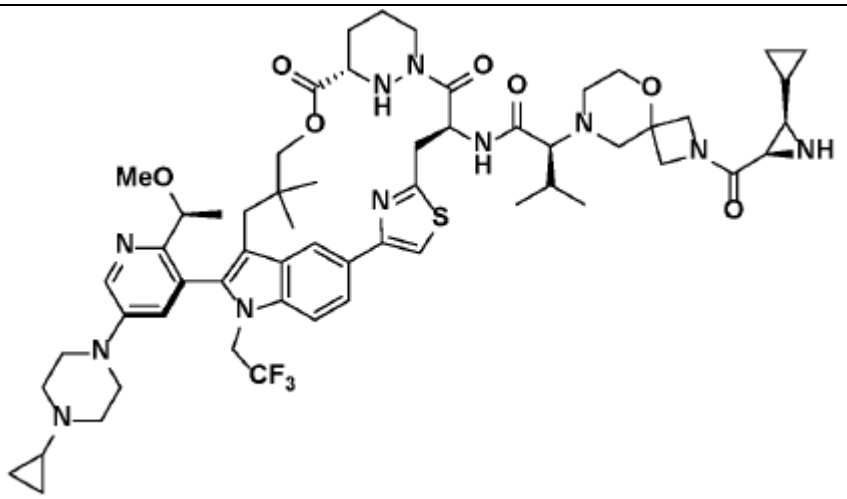
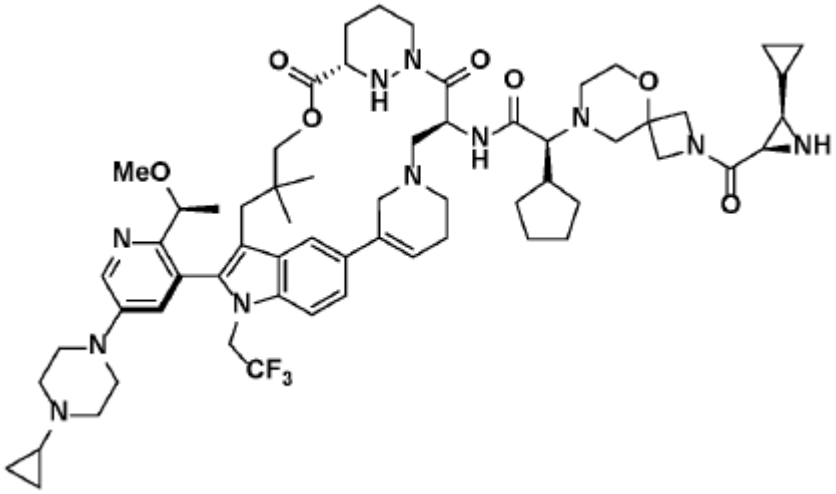
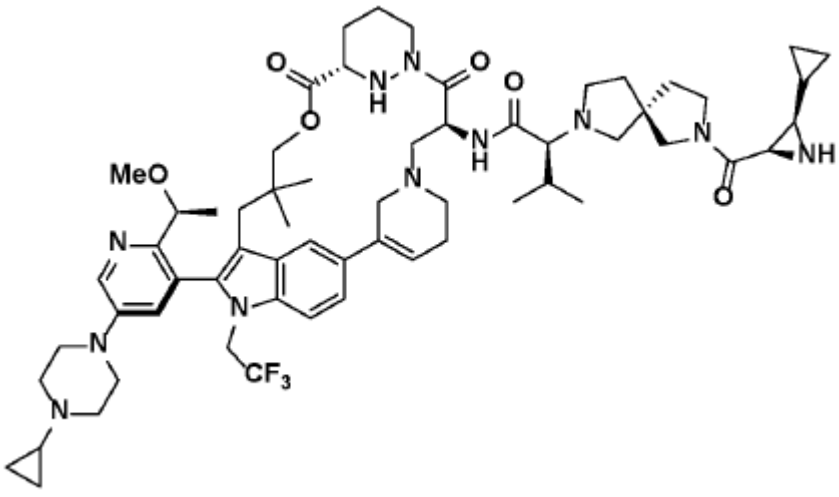
B41	
B42	
B43	

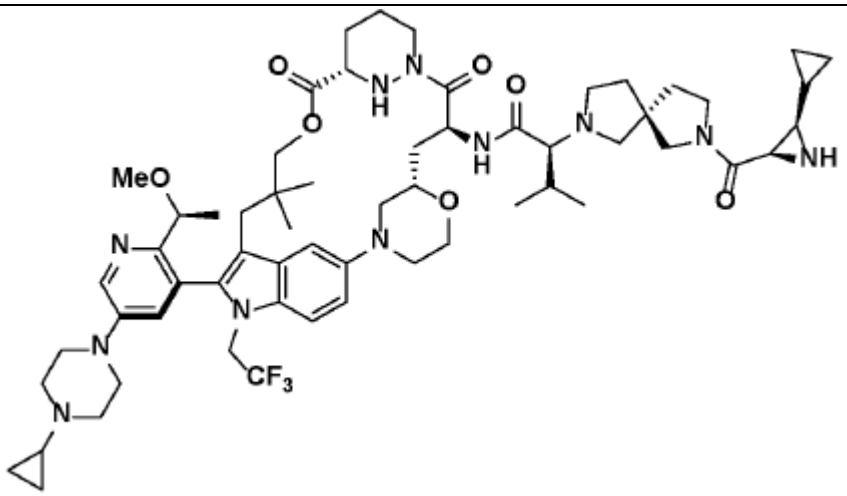
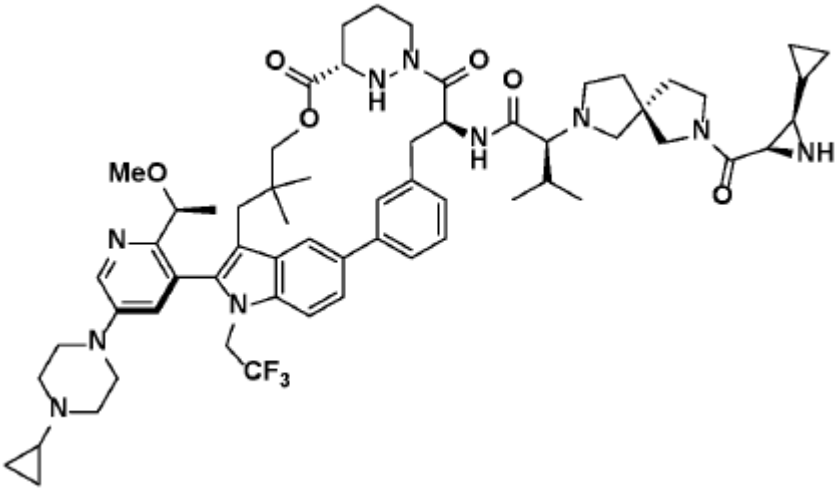
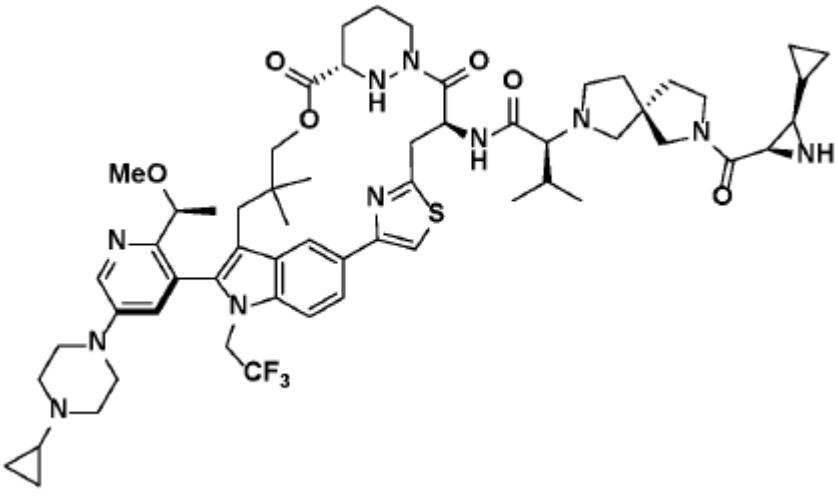
B44	
B45	
B46	

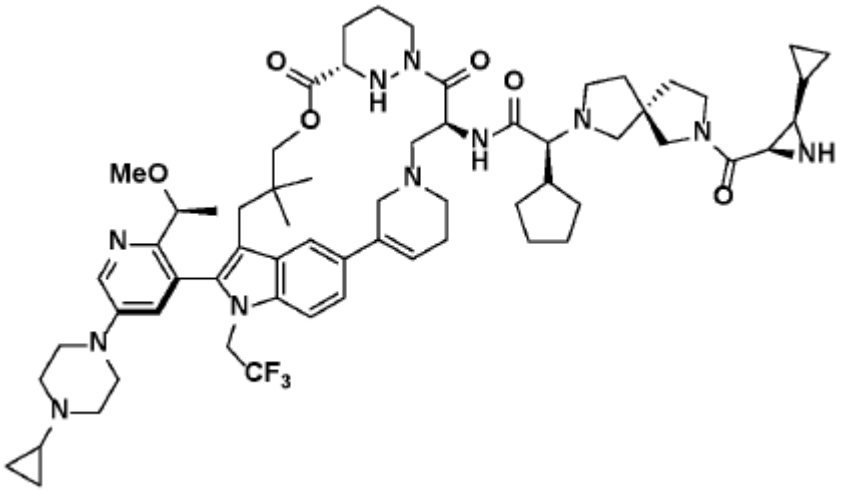
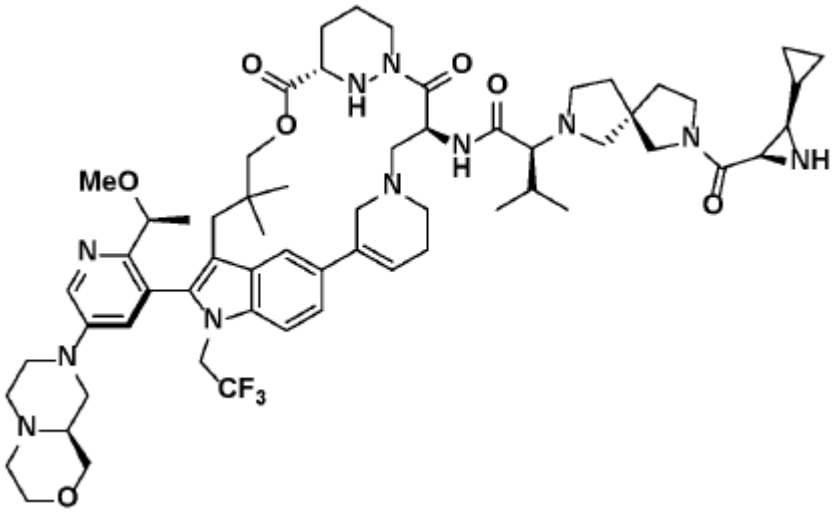
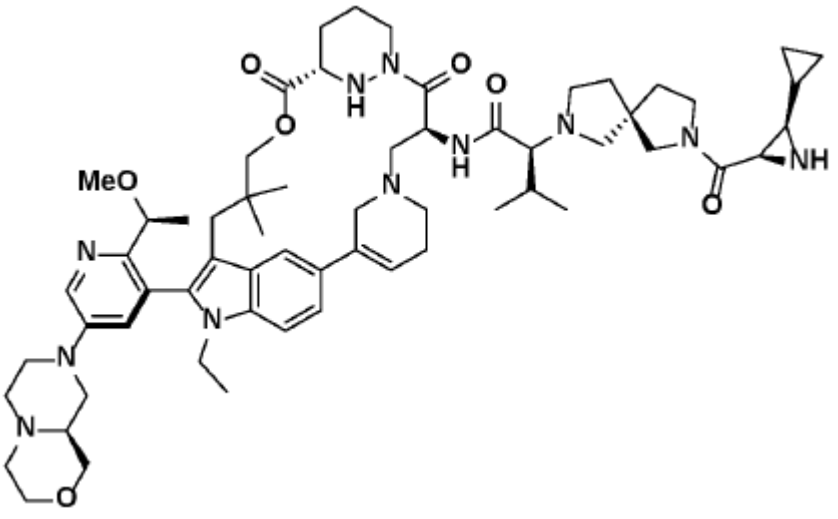
B47	
B48	
B49	

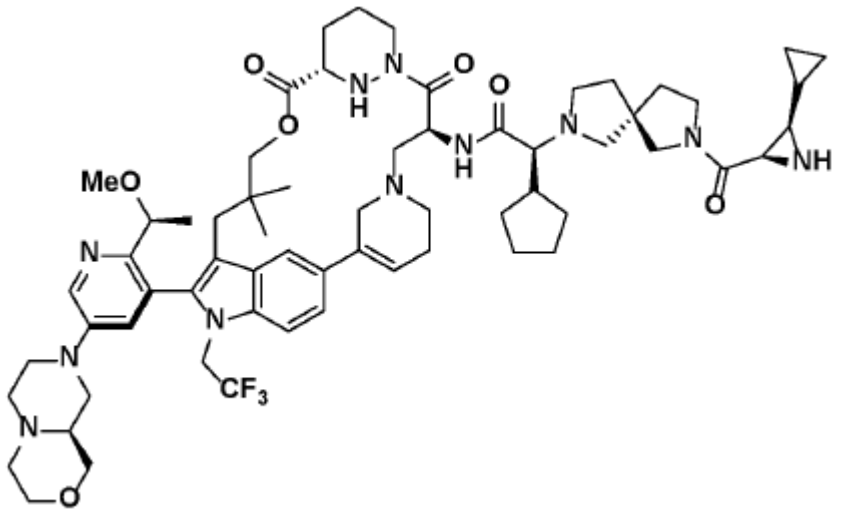
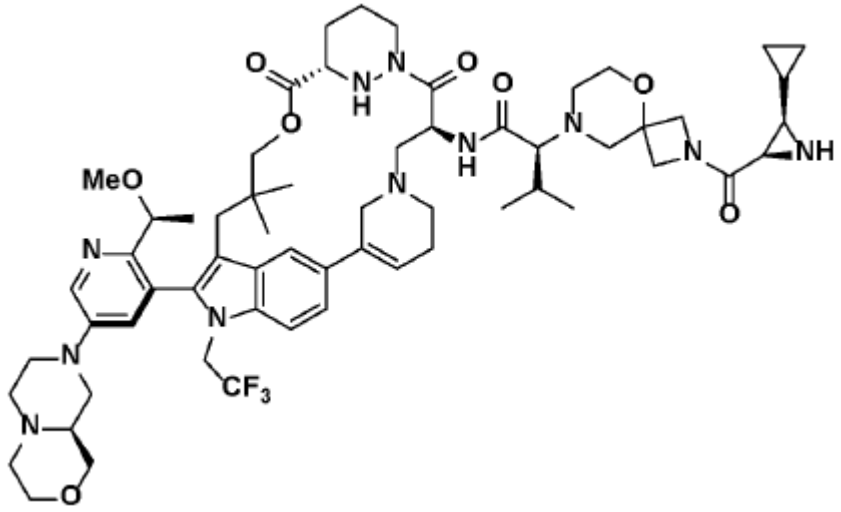
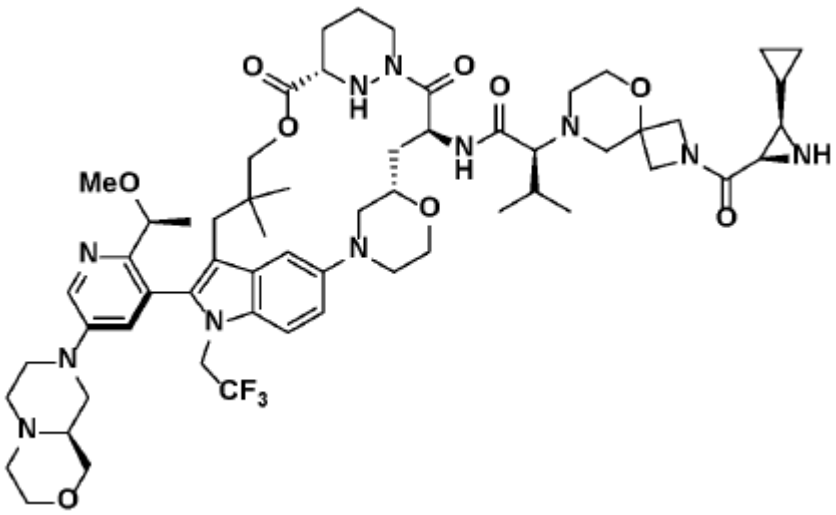
B50	
B51	
B52	

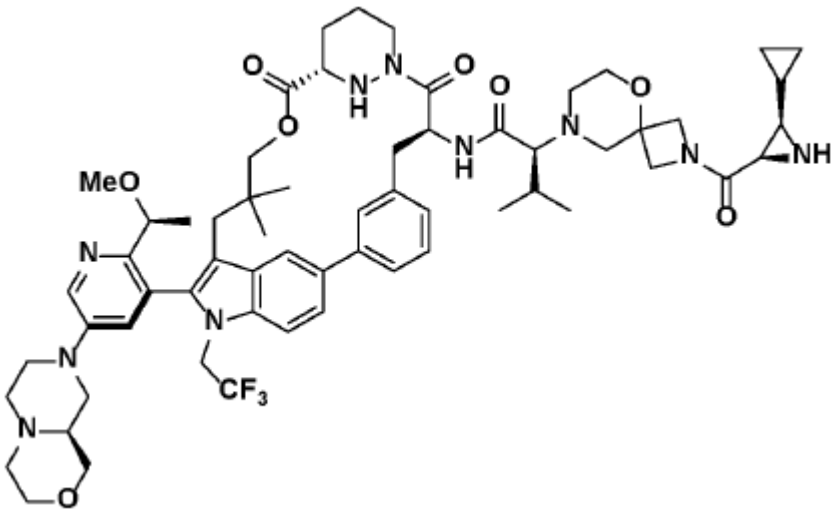
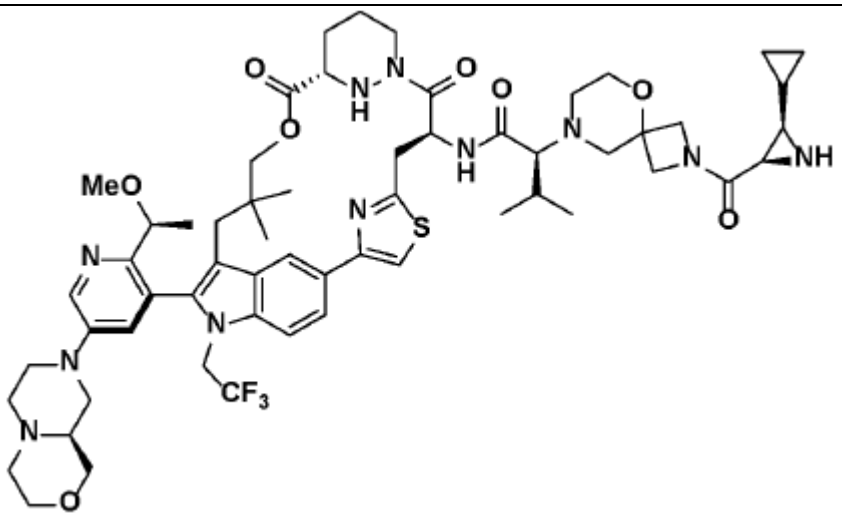
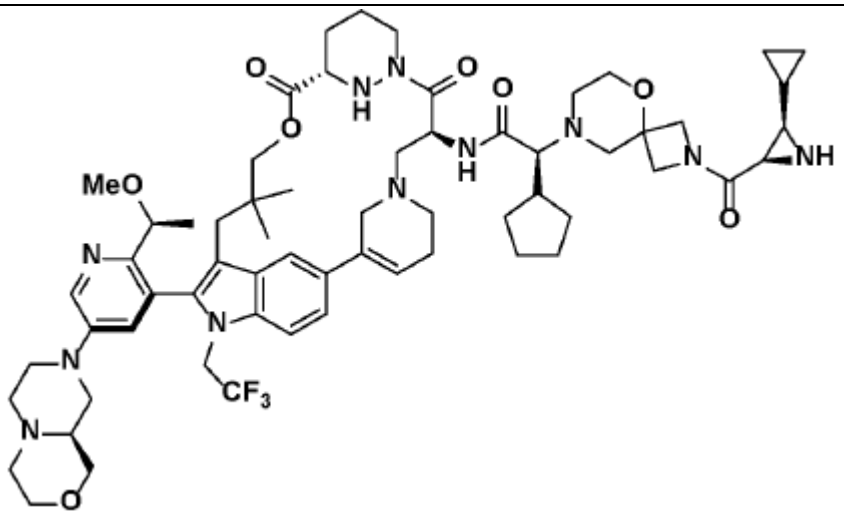
B53	
B54	
B55	

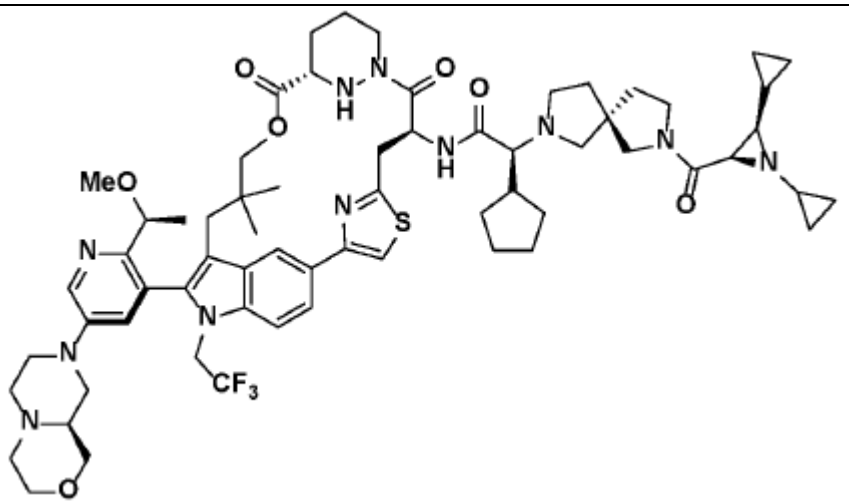
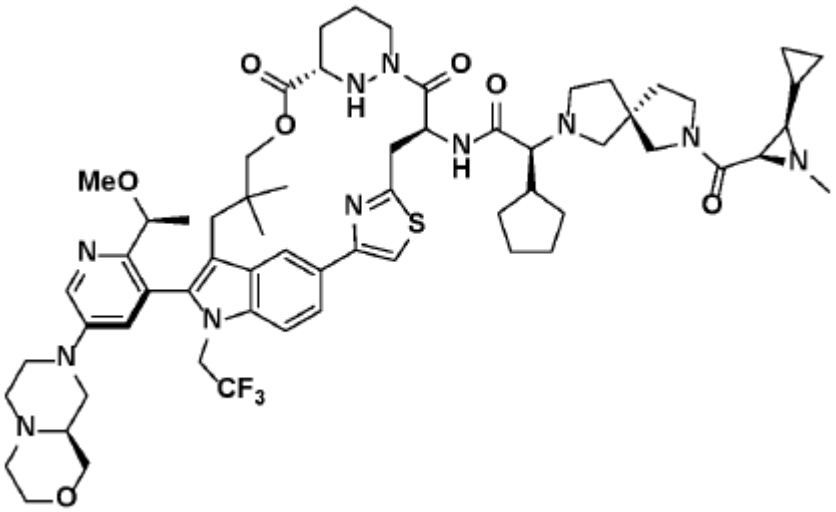
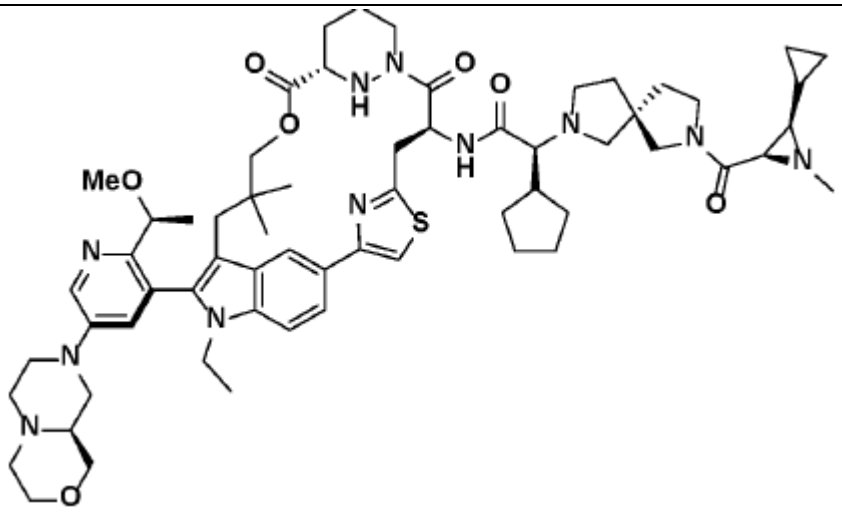
B56	
B57	
B58	

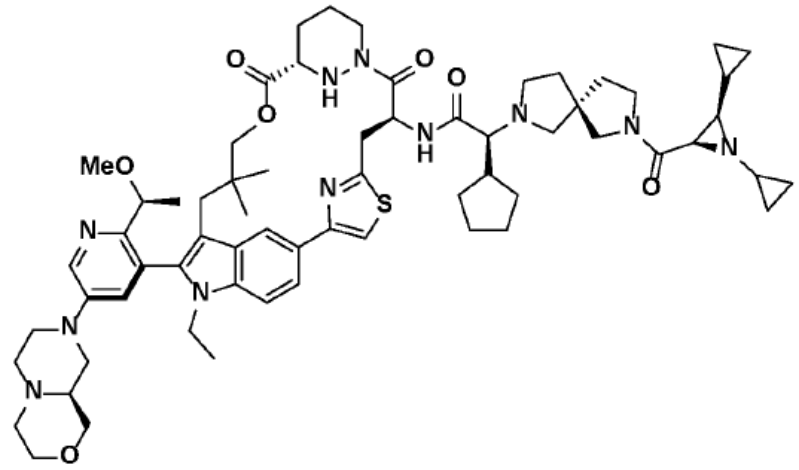
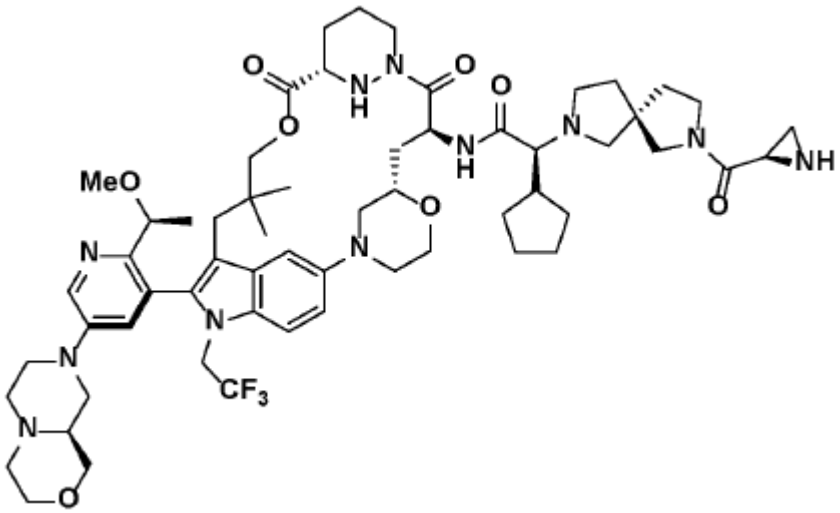
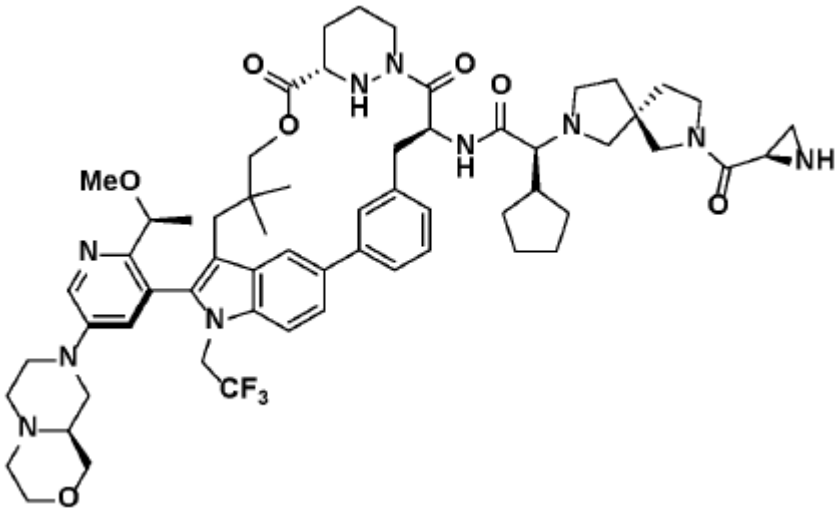
B59	
B60	
B61	

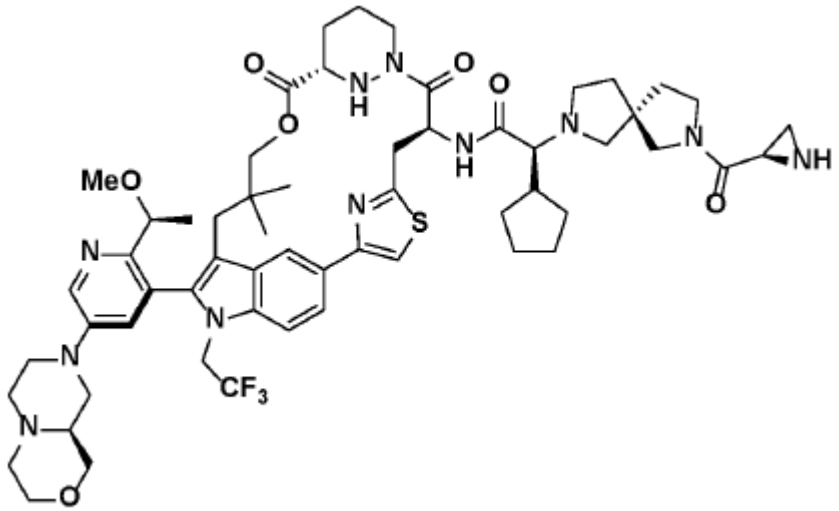
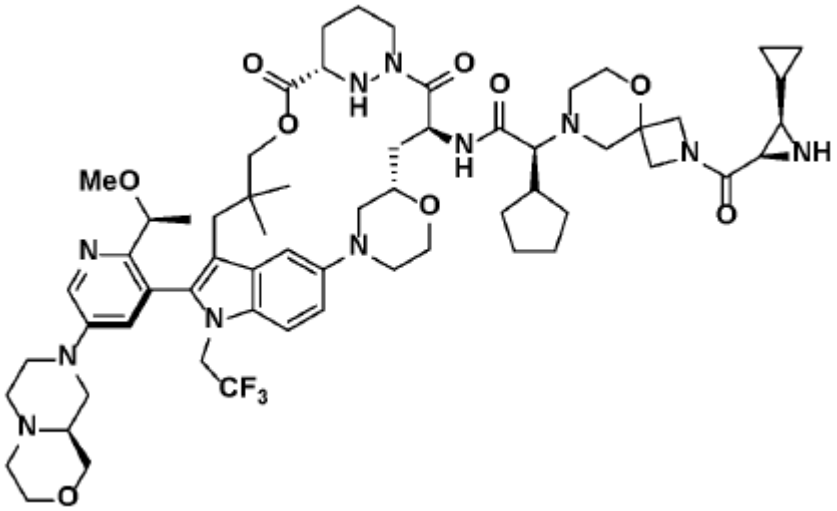
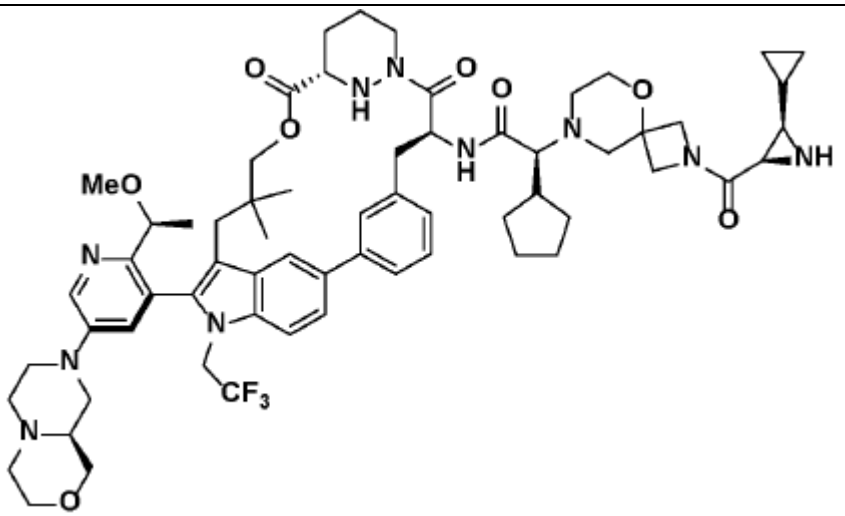
B62	
B63	
B64	

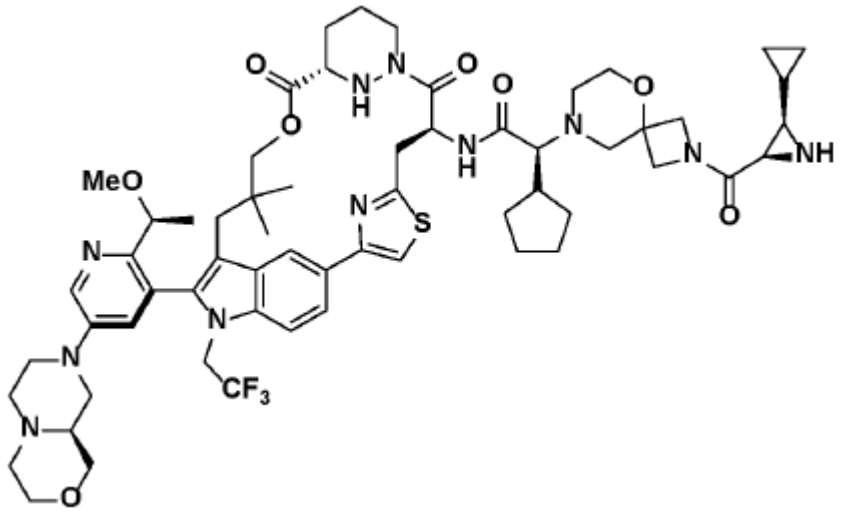
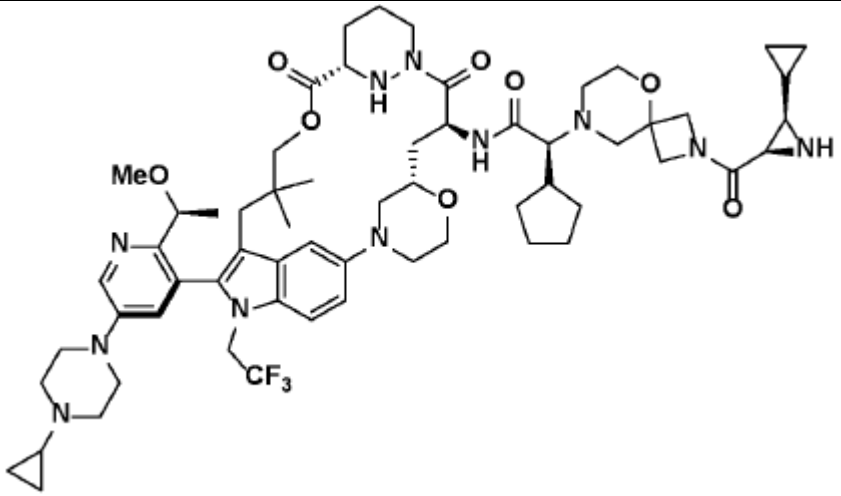
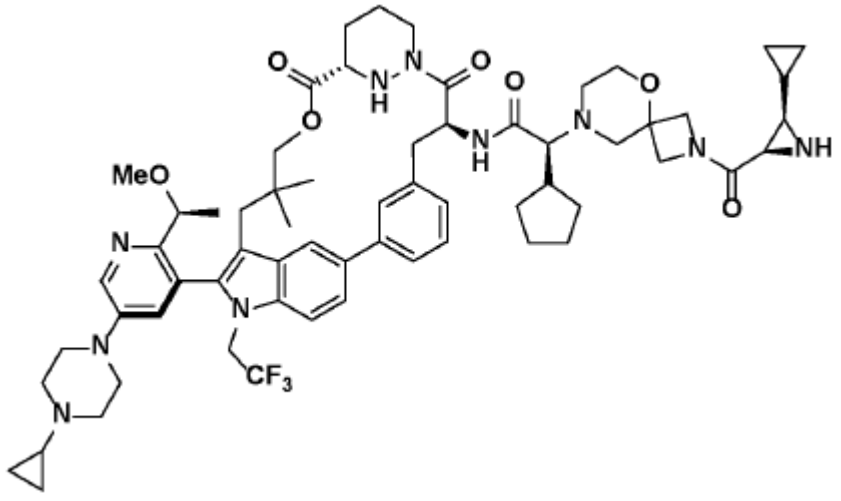
B65	
B66	
B67	

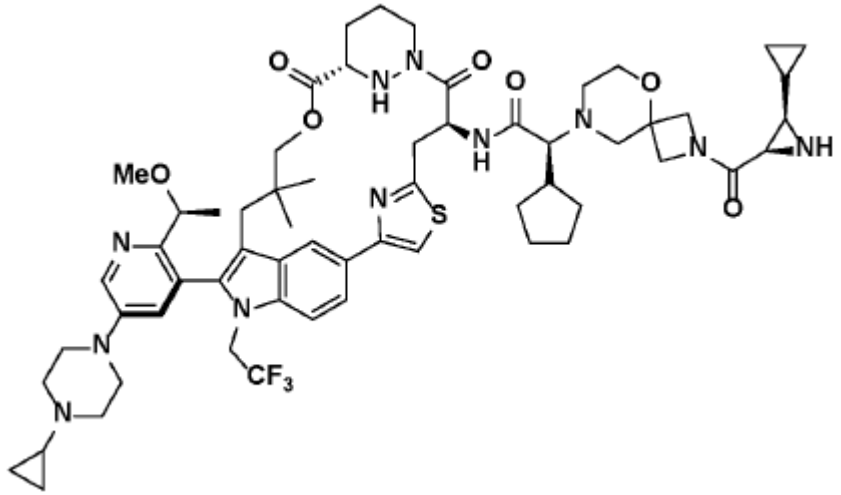
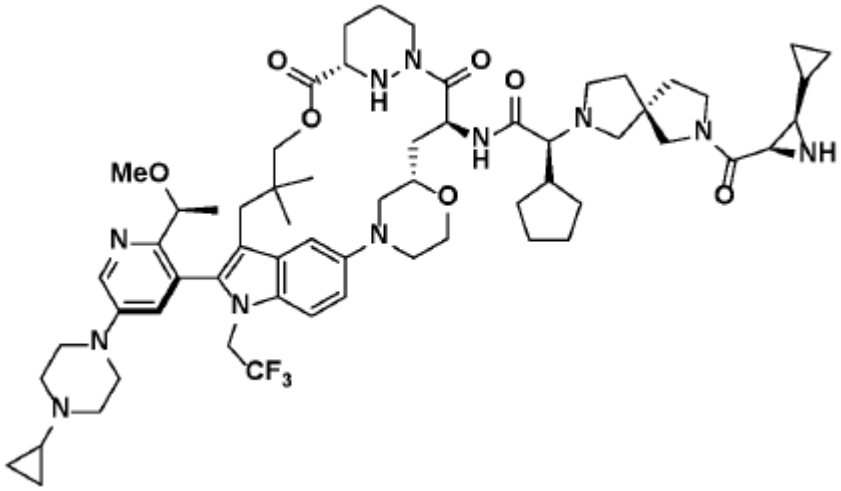
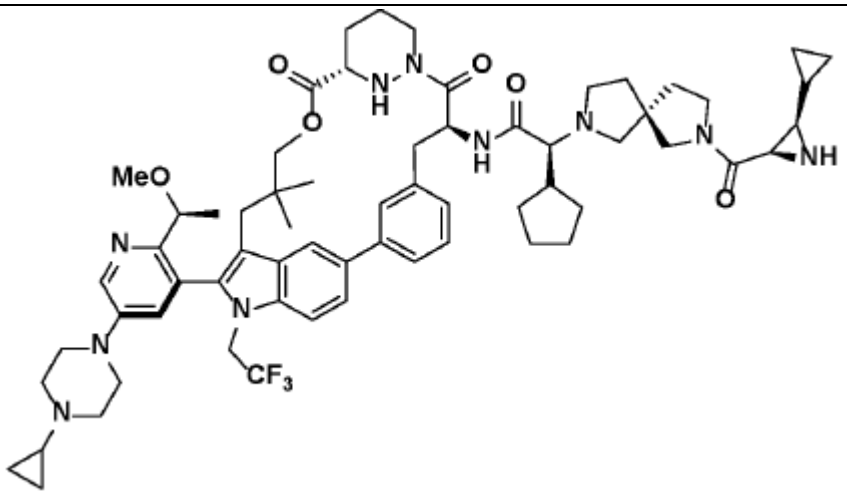
B68	
B69	
B70	

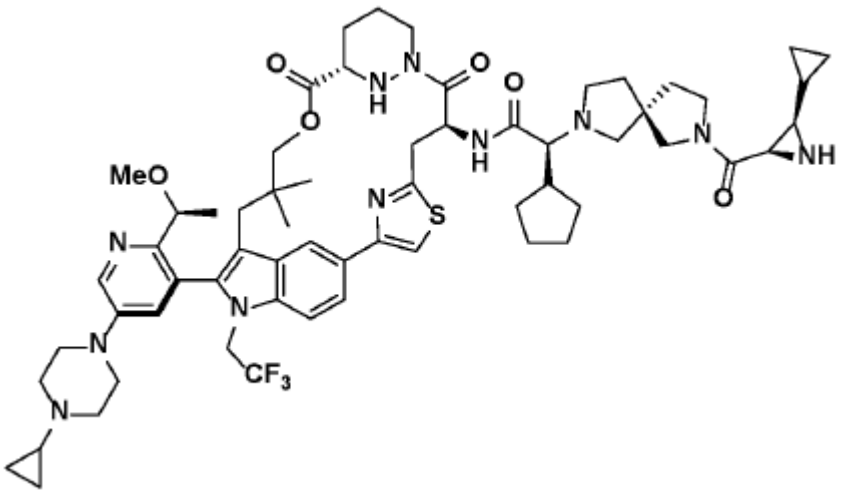
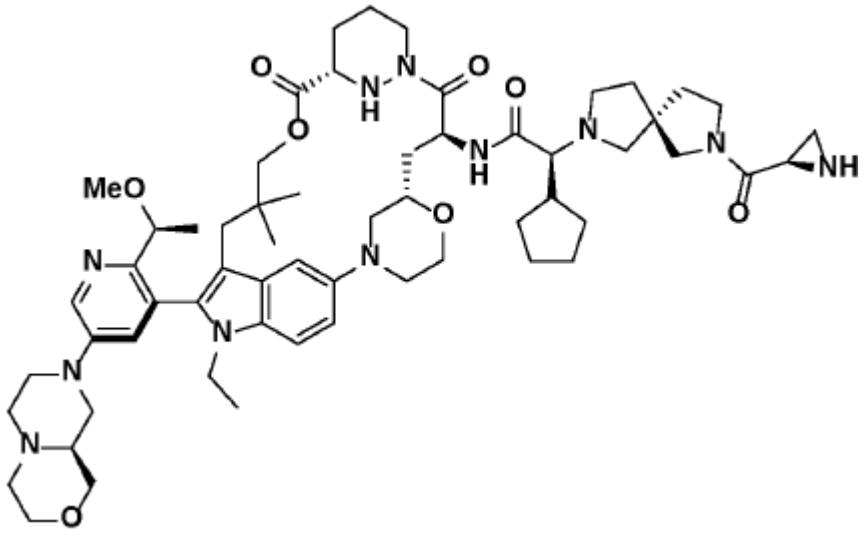
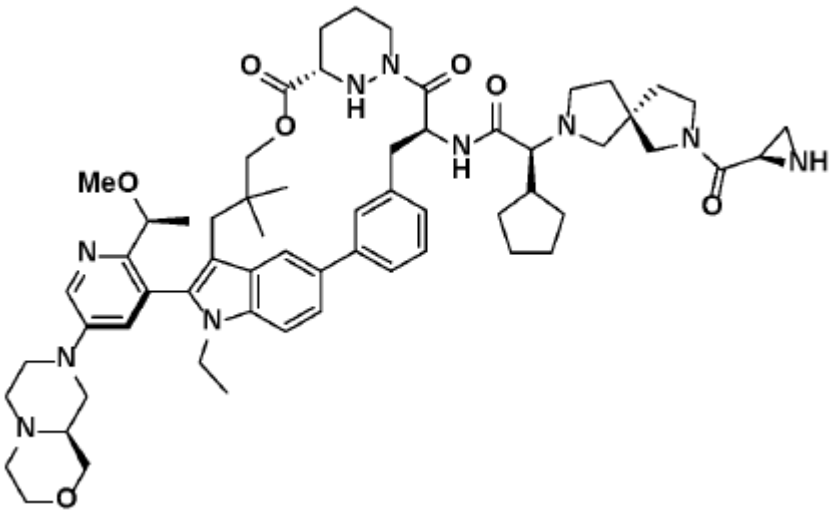
B71	
B72	
B73	

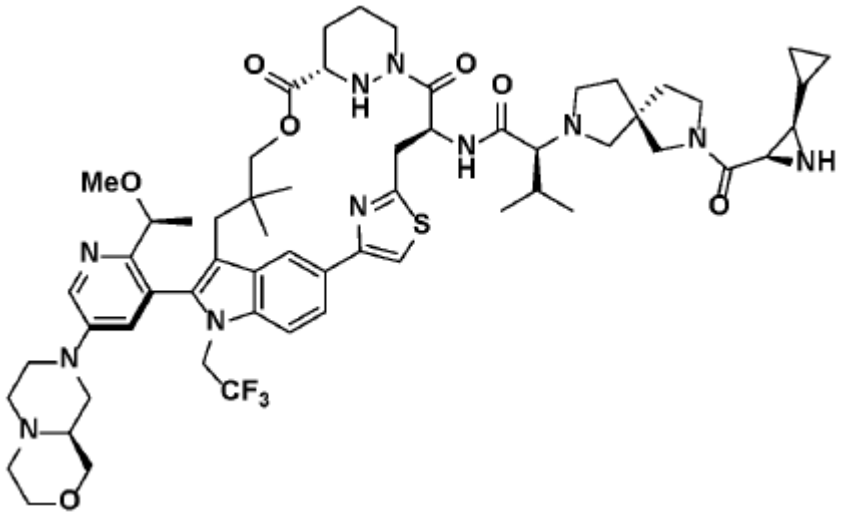
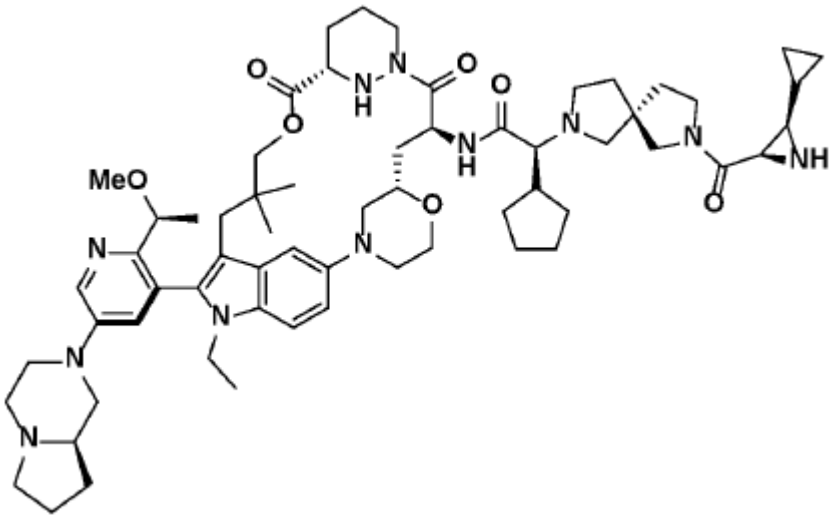
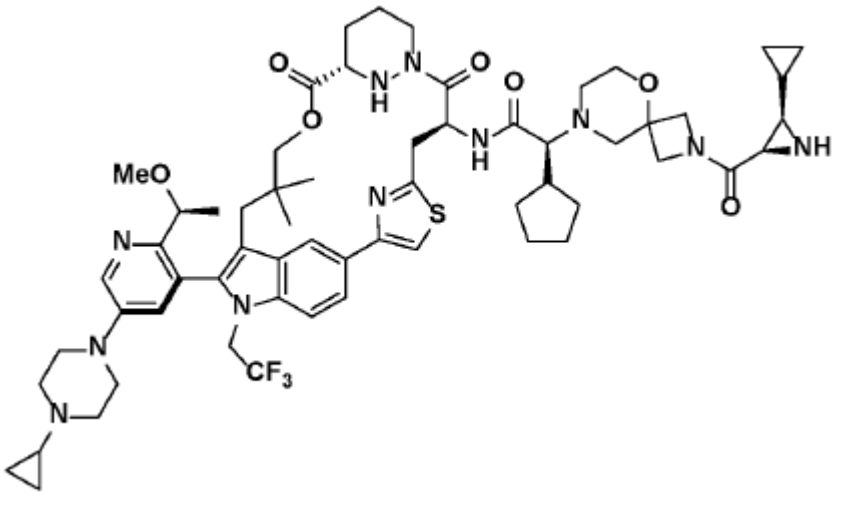
B74	
B75	
B76	

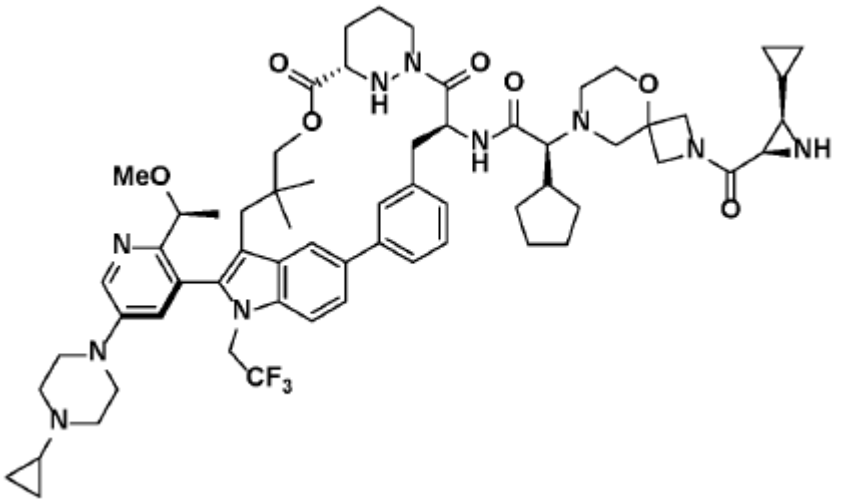
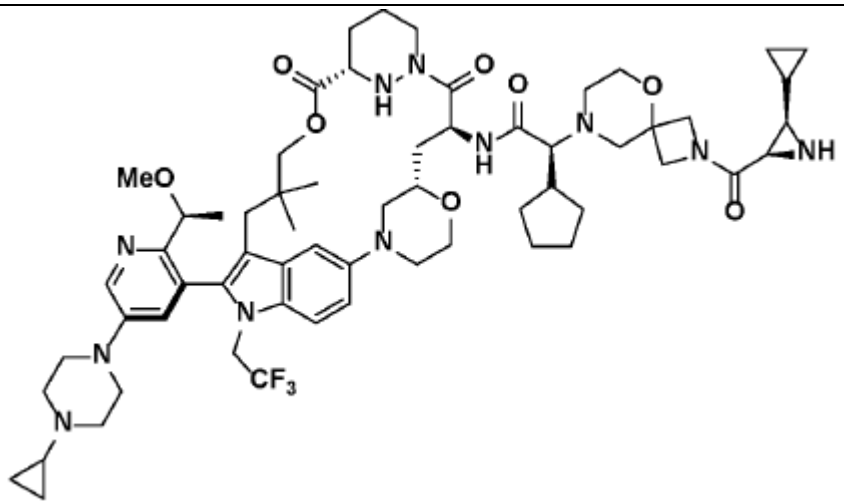
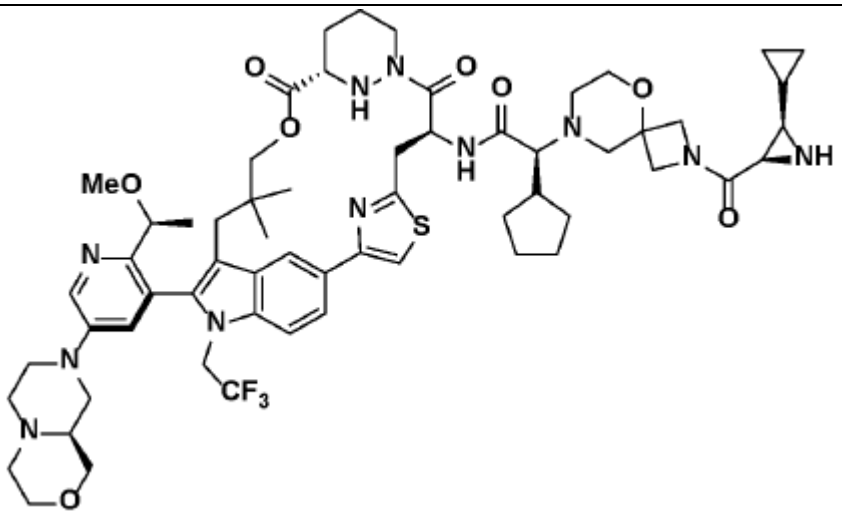
B77	
B78	
B79	

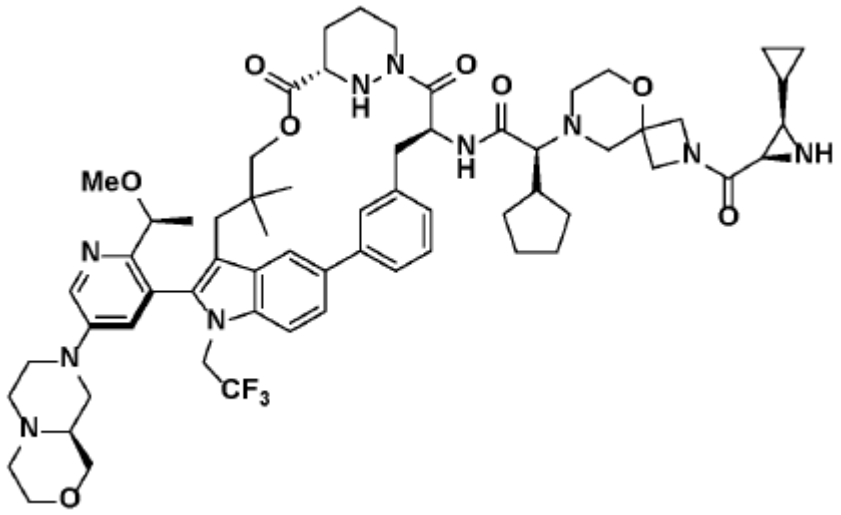
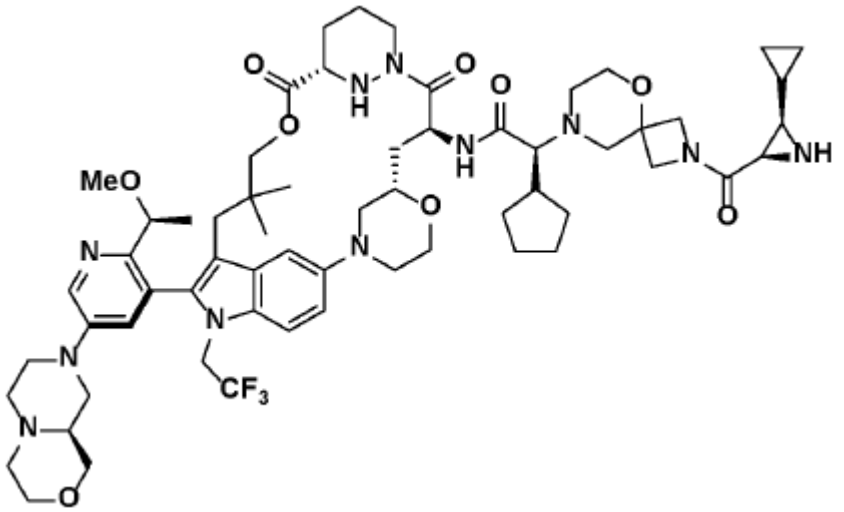
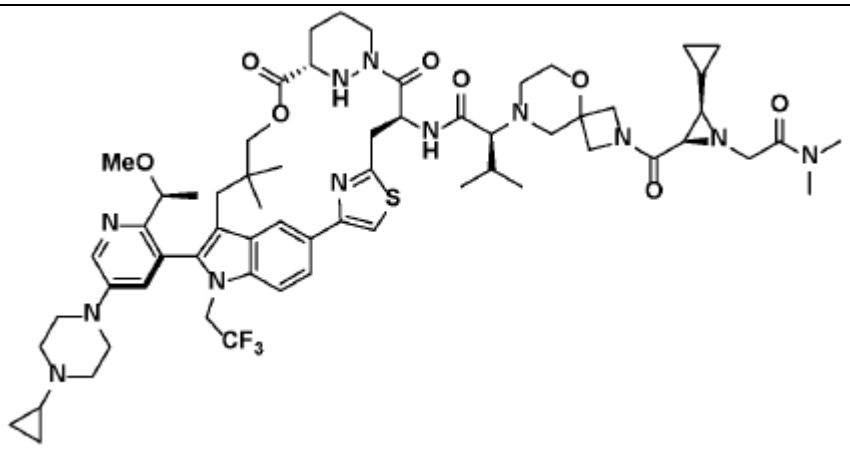
B80	
B81	
B82	

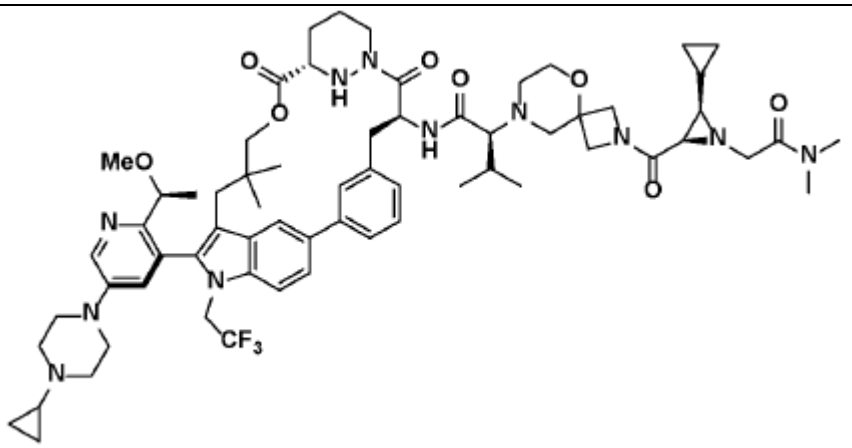
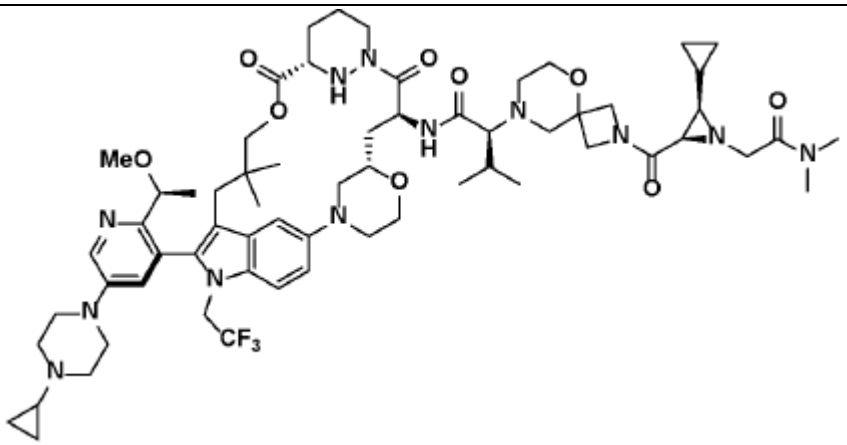
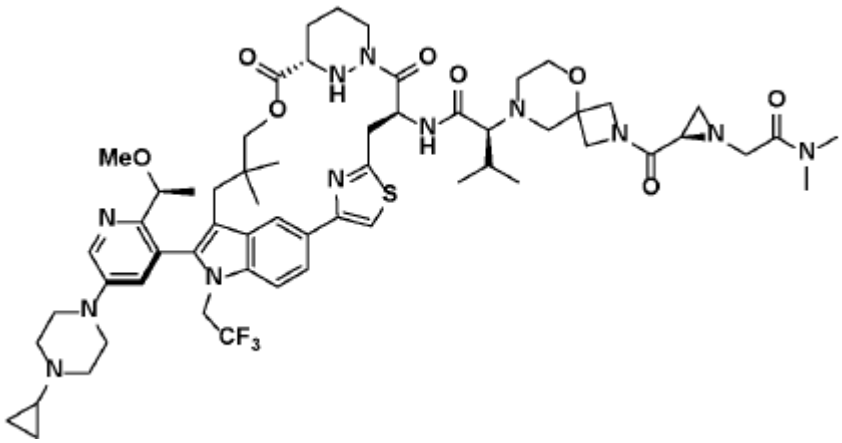
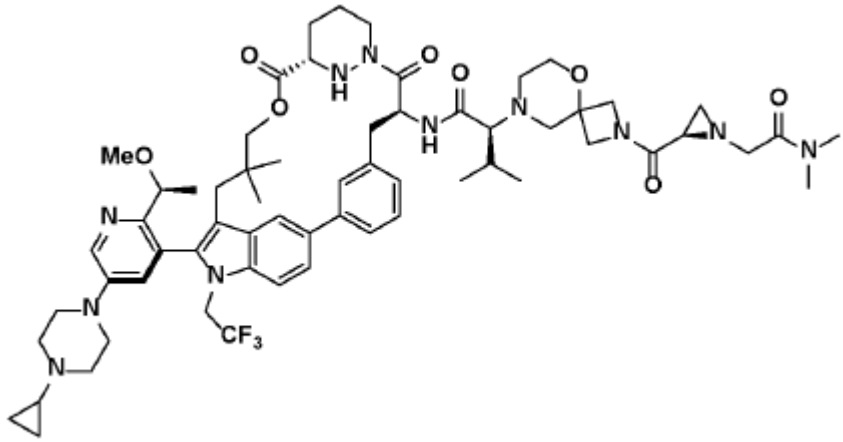
B83	
B84	
B85	

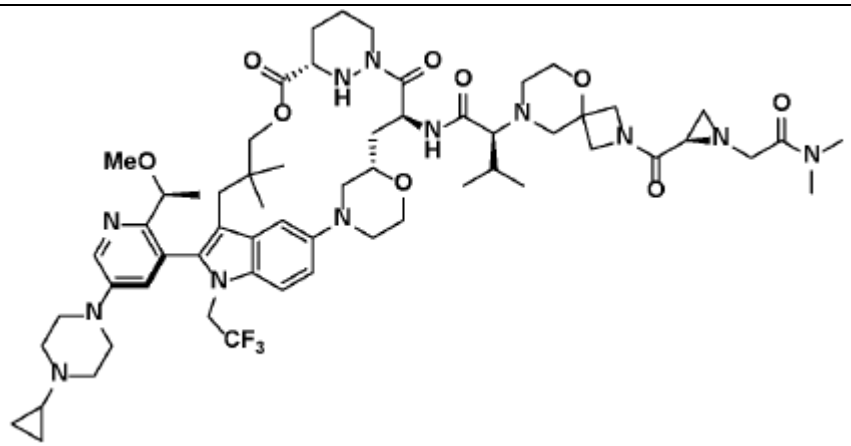
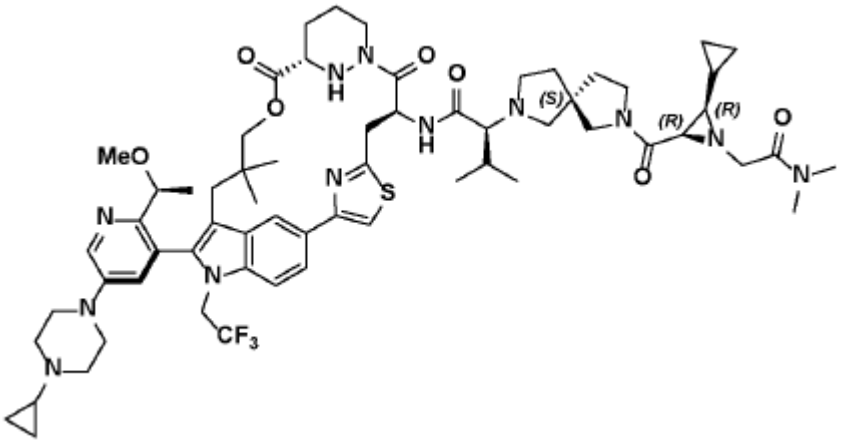
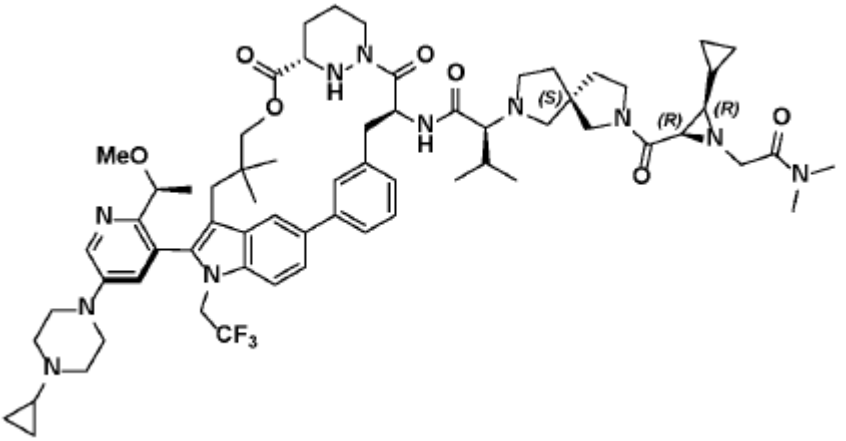
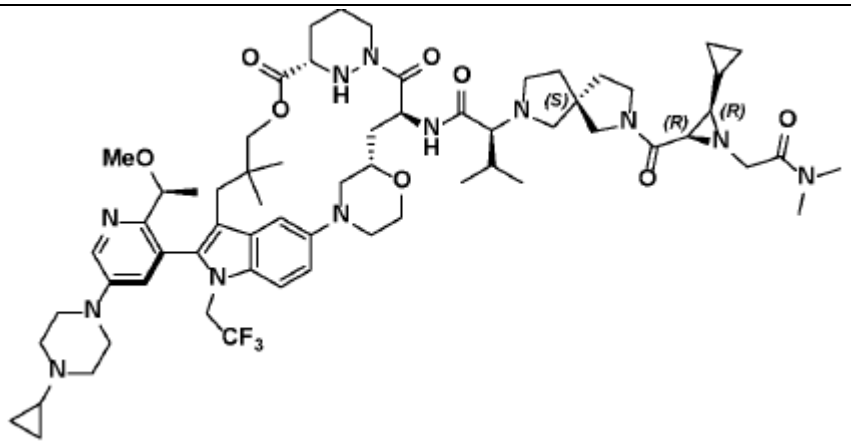
B86	
B87	
B88	

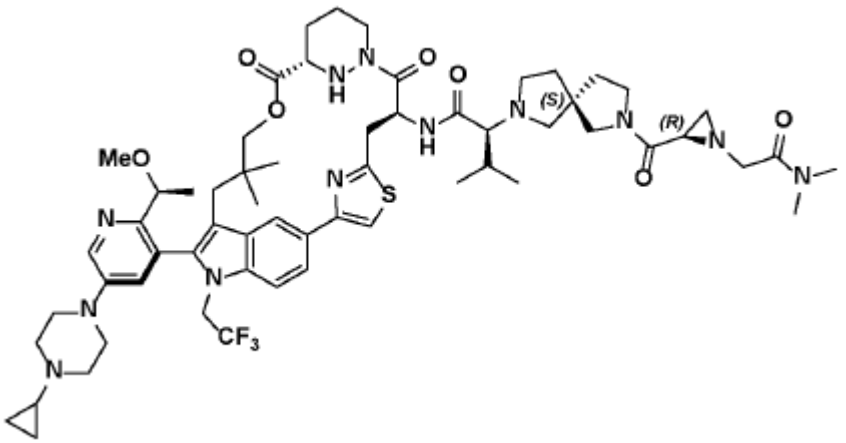
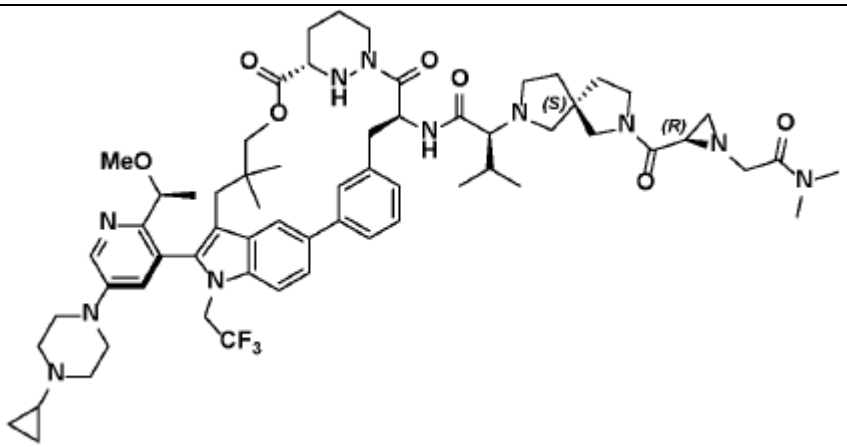
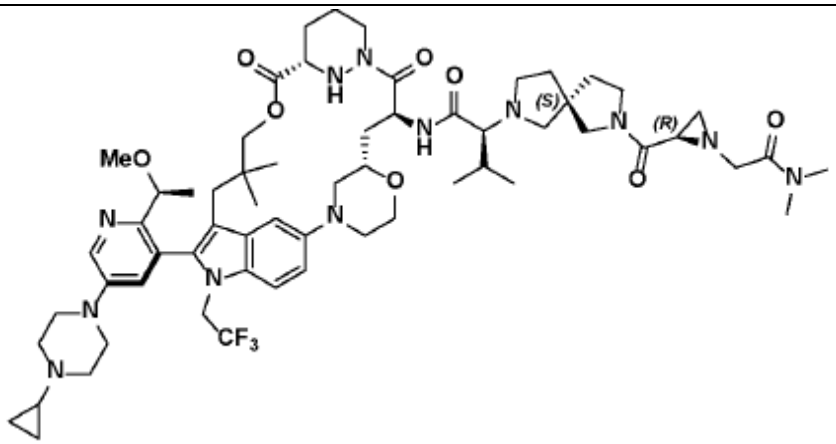
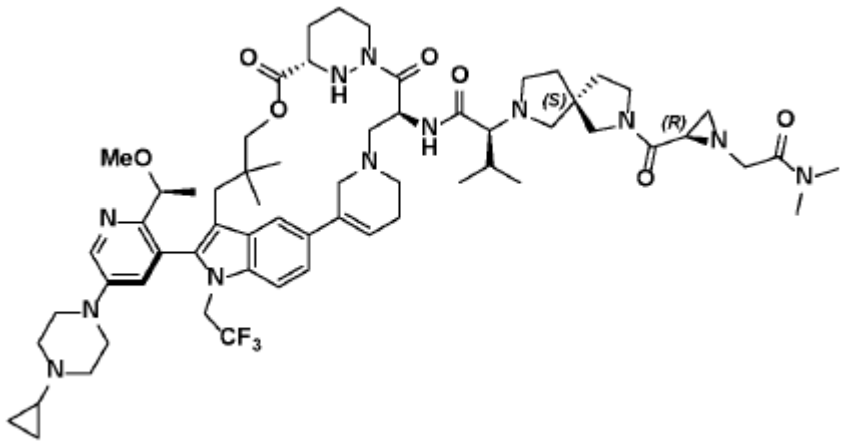
B89	
B90	
B91	

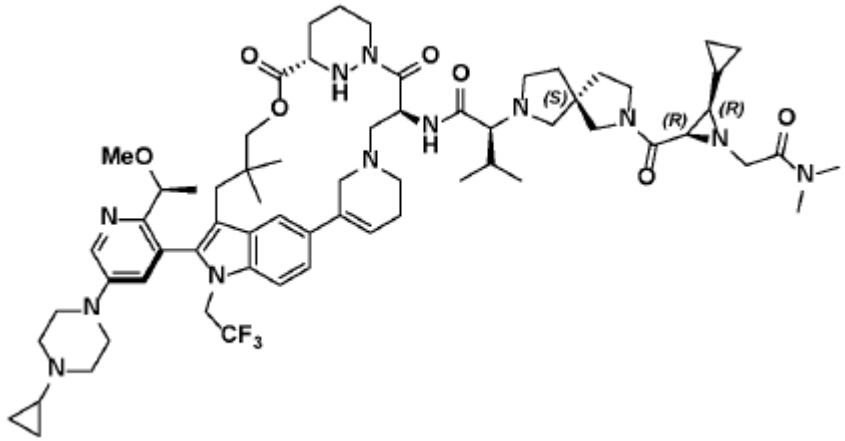
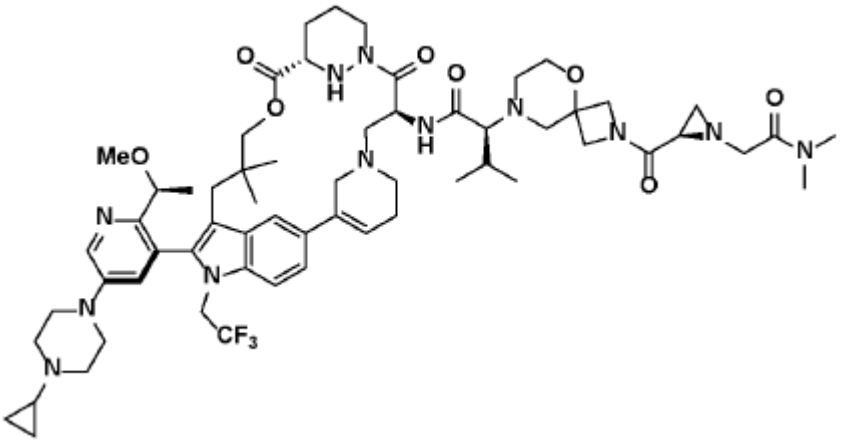
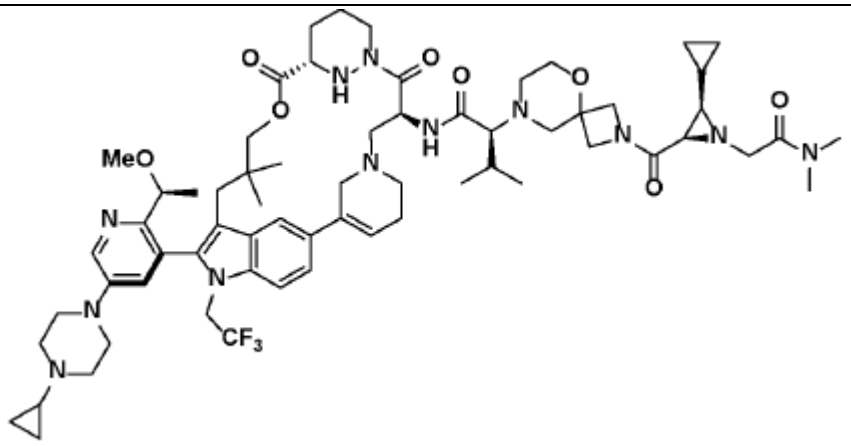
B92	
B93	
B94	

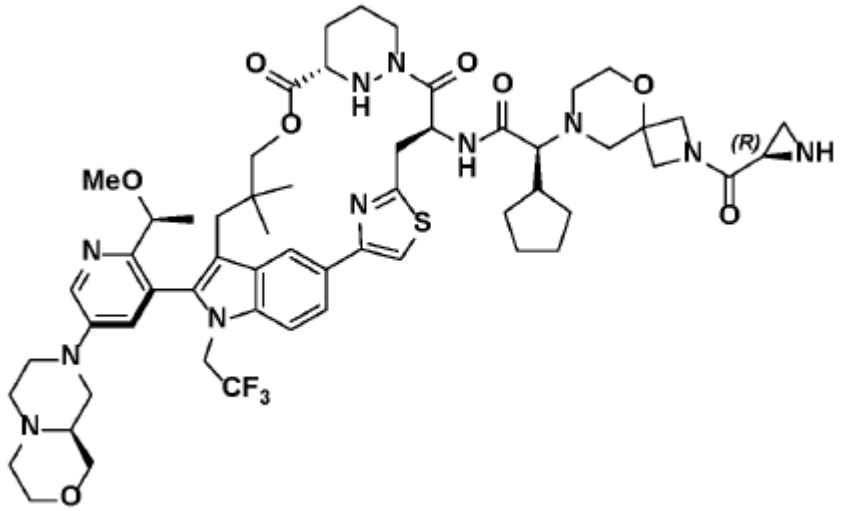
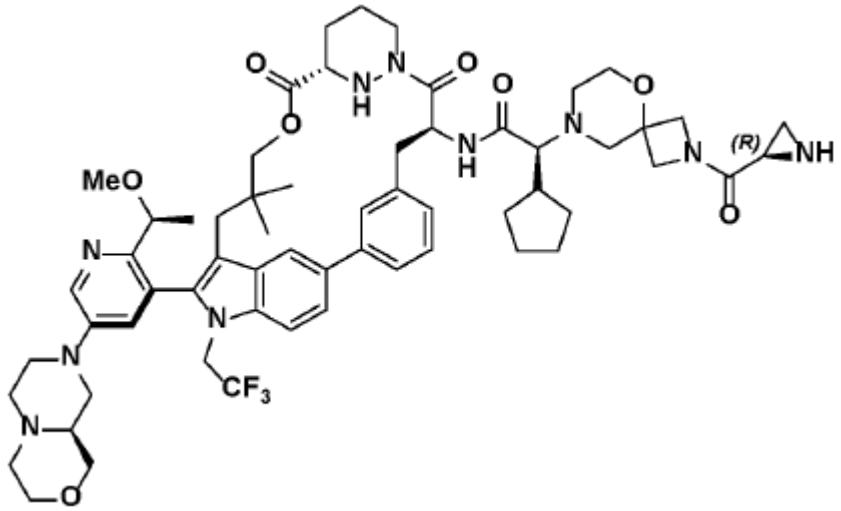
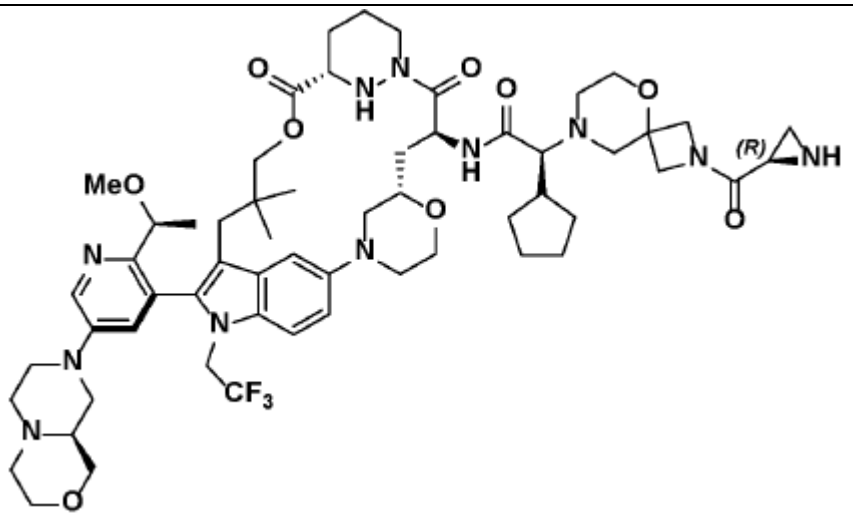
B95	
B96	
B97	

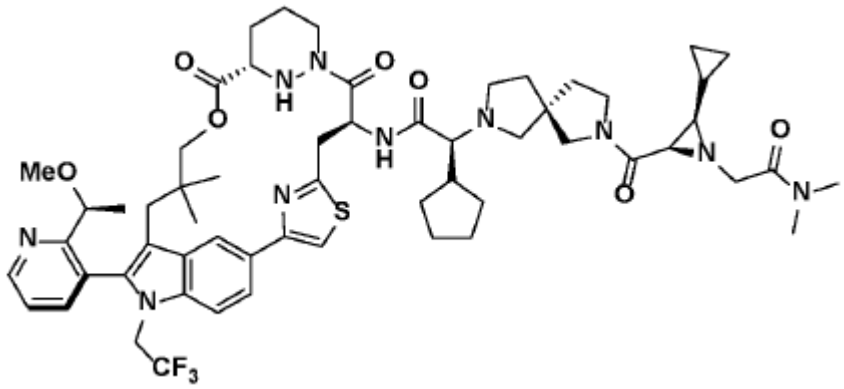
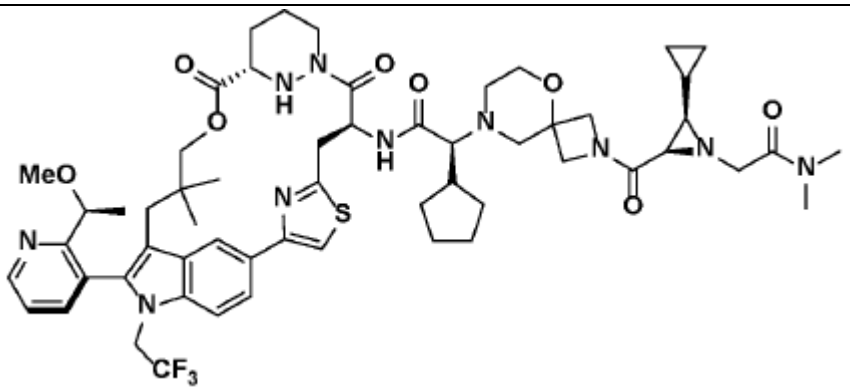
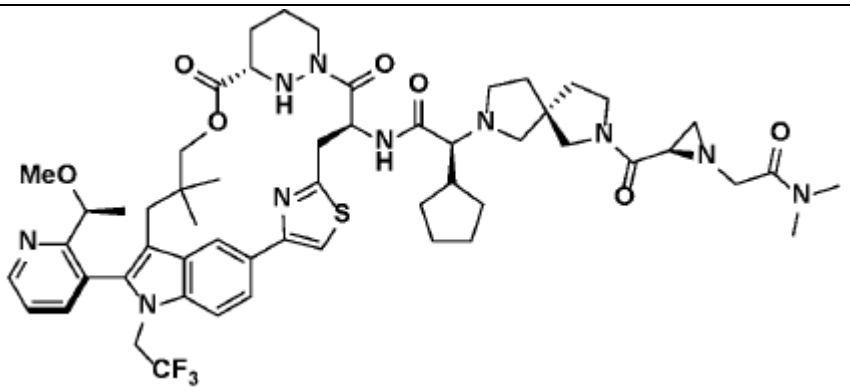
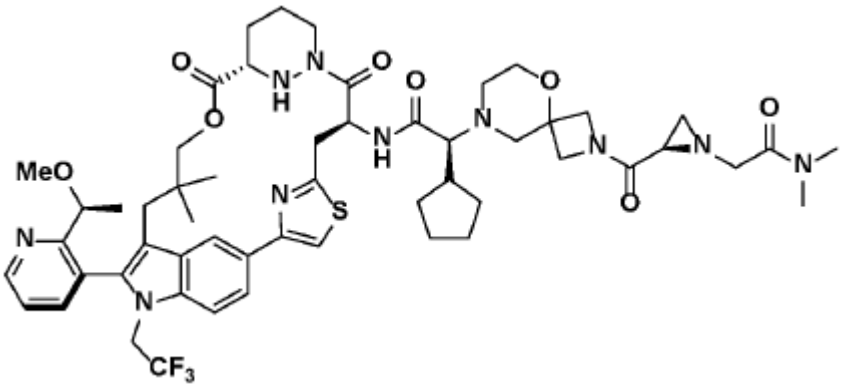
B98	
B99	
B100	
B101	

B102	
B103	
B104	
B105	

B106	
B107	
B108	
B109	

B110	
B111	
B112	

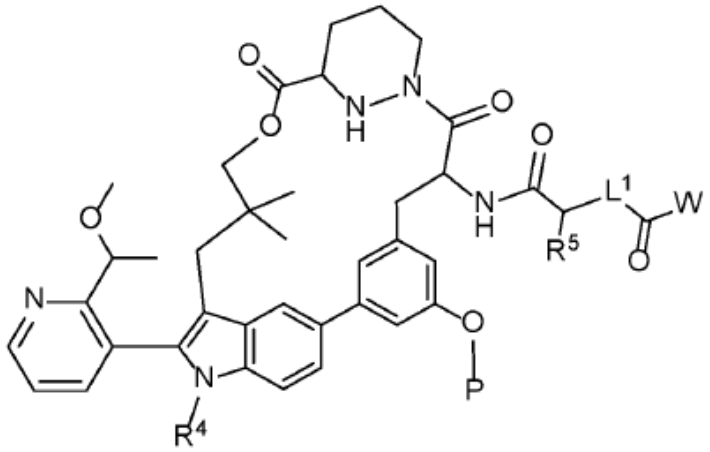
B113	
B114	
B115	

B116	
B117	
B118	
B119	

Cabe destacar que algunos compuestos se muestran con enlaces como planos o acuñados. En algunos casos, se determinó la estereoquímica relativa de los estereoisómeros; en algunos casos, se determinó la estereoquímica absoluta. Todos los estereoisómeros de los compuestos de la tabla anterior se contemplan por la presente invención. En modalidades particulares, se contempla un atropisómero de un compuesto

de la tabla anterior.

También se proporciona en el presente documento un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula III:



Fórmula III,

en donde P es $-(CO)R^9$, $-(PO)(OH)_2$, o $-Si(R^{10})_3$;

W es un grupo reticulante que comprende una aziridina, un epóxido, una carbodiimida, una oxazolina, una tiazolina, una cloroetil urea, una cloroetil tiourea, un carbamato de cloroetilo, un tiocarbamato de cloroetilo, una trifluorometilcetona, un ácido borónico, un éster borónico, una N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), un iso-EEDQ u otro derivado de EEDQ, un oxazolio o un glical;

L^1 es heterocicloalquileno de 3 a 9 miembros opcionalmente sustituido o heteroalquileno C_2-C_4 opcionalmente sustituido;

R^4 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido;

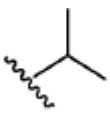
R^5 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido;

R^9 es alquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido; y

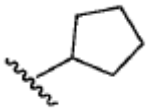
cada R^{10} es, independientemente, alquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, W es un grupo reticulante que comprende una aziridina.

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, R^4 es: 

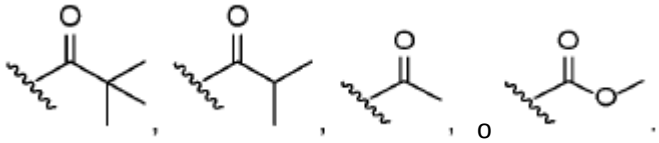
En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, R^5 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, R^5 es: 

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, R^5 es cicloalquilo de



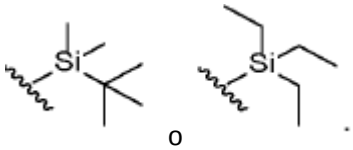
3 a 6 miembros opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, R^5 es:

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, P es $-(CO)R^9$. En algunas modalidades, P se selecciona entre:

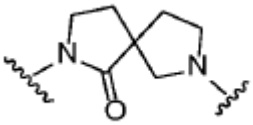


En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, P es $-(PO)(OH)_2$.

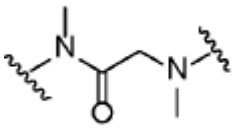
En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, P es $-Si(R^{10})_3$. En algunas modalidades, P se selecciona entre:



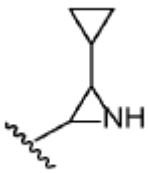
En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, L^1 es un heterocicloalquileno de 3 a 9 miembros. En algunas modalidades, L^1 es, o un estereoisómero de este:



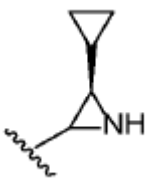
En algunas modalidades del compuesto de la presente invención, L^1 es heteroalquileno C_2-C_4 opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, L^1 es:



En algunas modalidades del compuesto de la presente invención, W es un resto ciclopropil-aziridinilo opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, W es, o un estereoisómero de este:



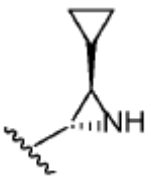
En algunas modalidades, W es, o un estereoisómero de este:



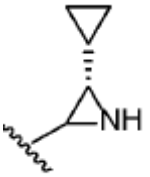
En algunas modalidades, W es:



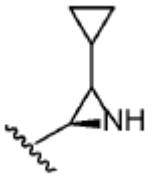
En algunas modalidades, W es:



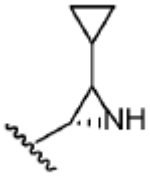
En

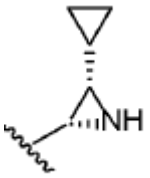


algunas modalidades, W es, o un estereoisómero de este: En algunas modalidades,

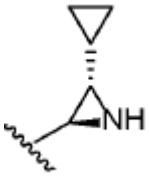


W es, o un estereoisómero de este: En algunas modalidades, W es, o un

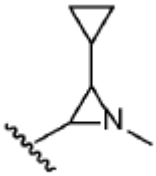


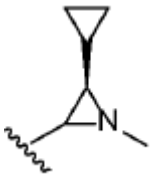


estereoisómero de este: En algunas modalidades, W es: En algunas



modalidades, W es: En algunas modalidades, W es, o un estereoisómero de este:





En algunas modalidades, W es, o un estereoisómero de este: En



algunas modalidades, W es: En algunas modalidades, W es:



En



algunas modalidades, W es: En algunas modalidades, W es, o un estereoisómero



de este: En algunas modalidades, W es, o un estereoisómero de este:

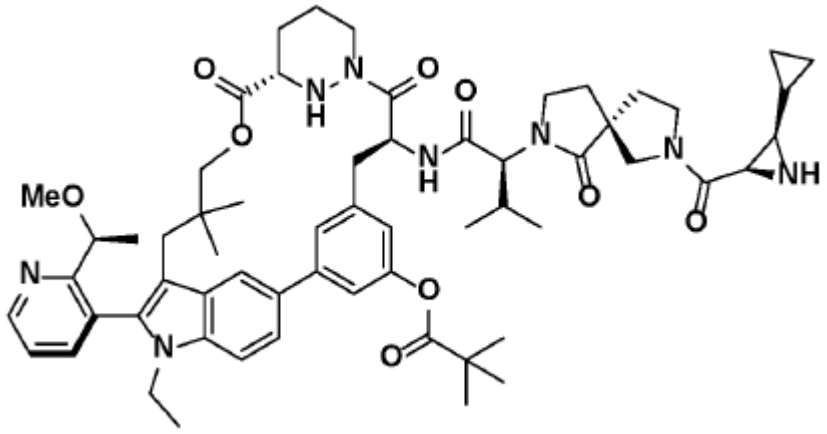
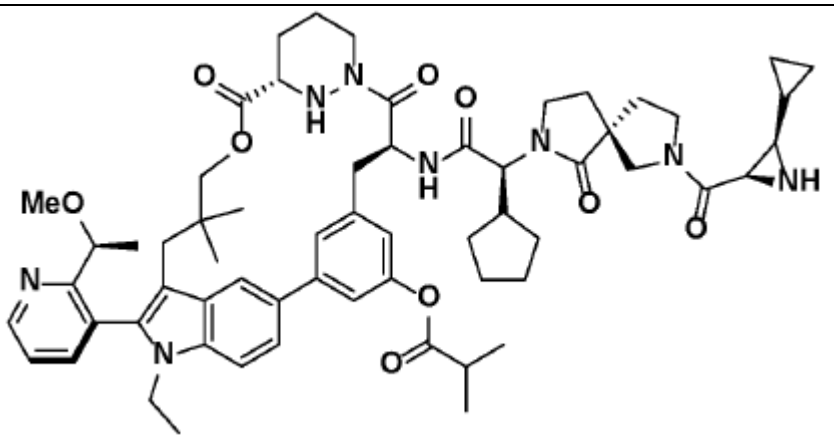


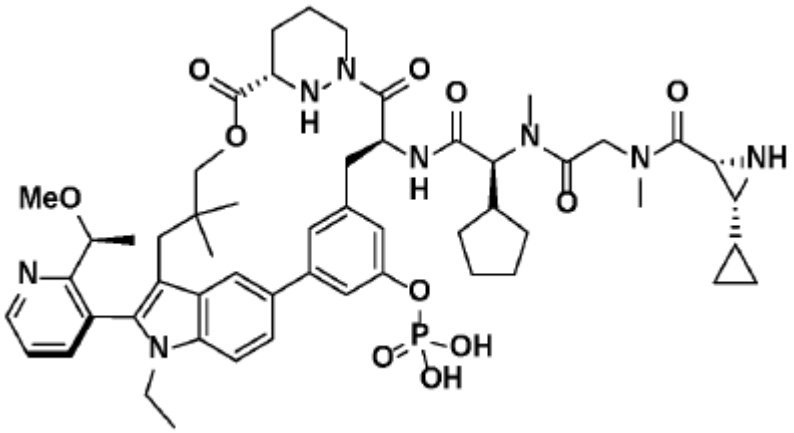
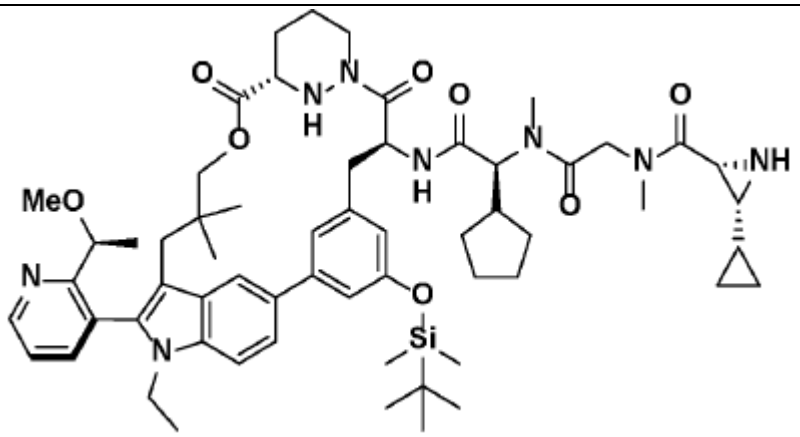
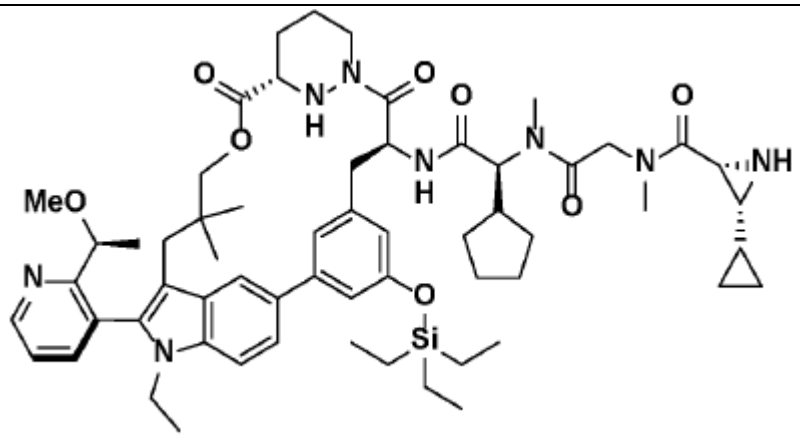
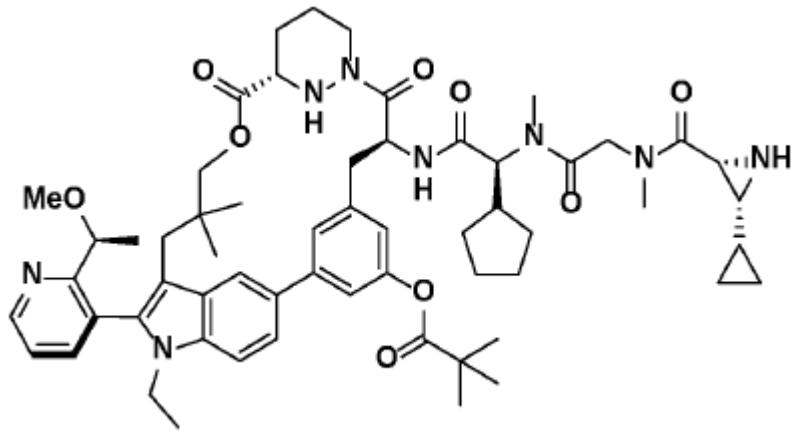
En algunas modalidades, W es:  En algunas modalidades, W es:

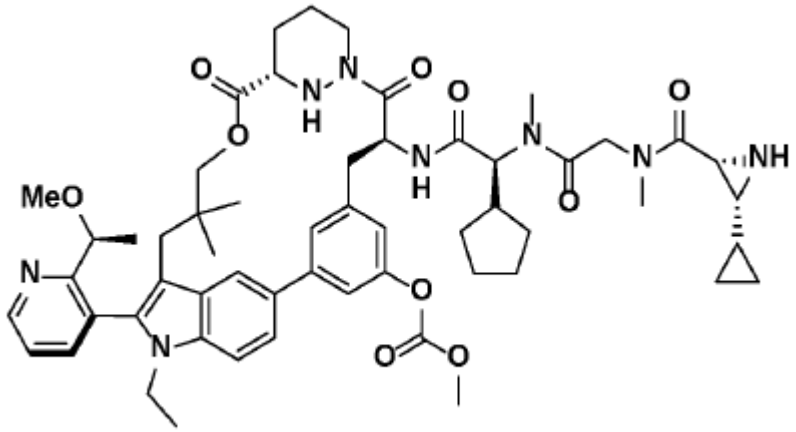
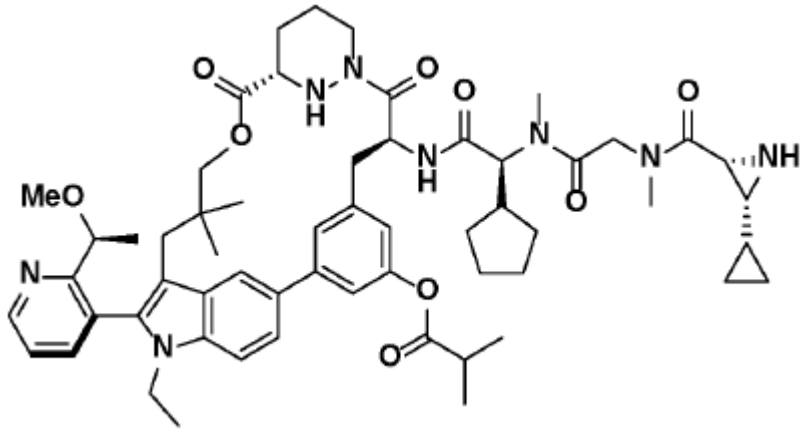
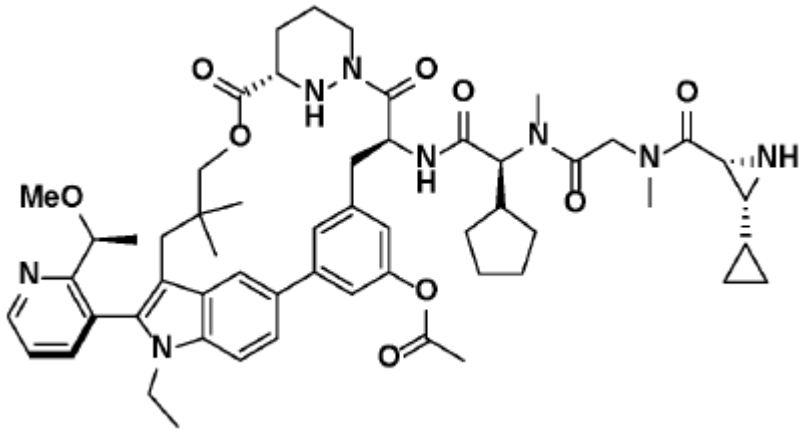


En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención se selecciona de la Tabla 3, o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención se selecciona del Tabla 3, o una sal o atropisómero farmacéuticamente aceptable de este.

Tabla 3: Determinados compuestos de la presente invención

Ej. núm	Estructura
C1	
C2	

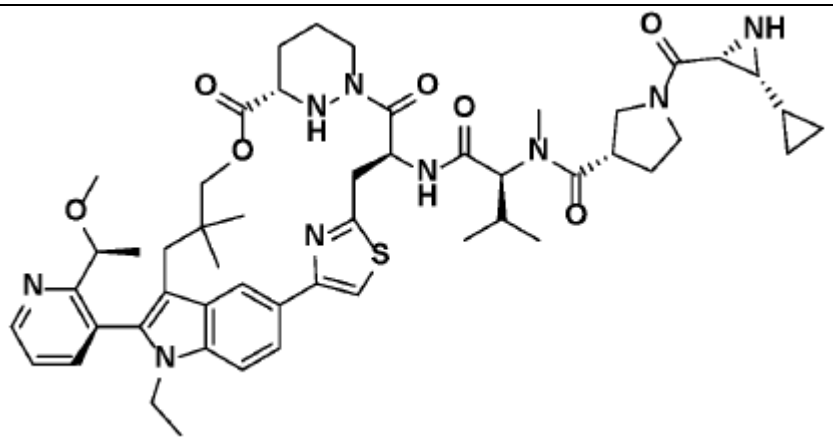
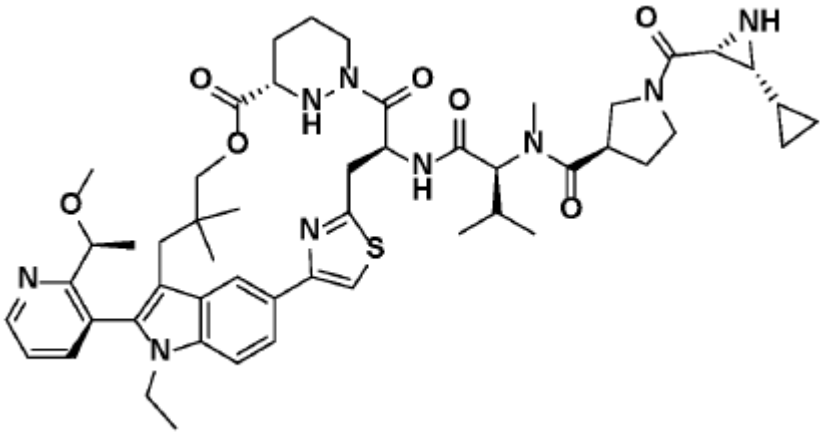
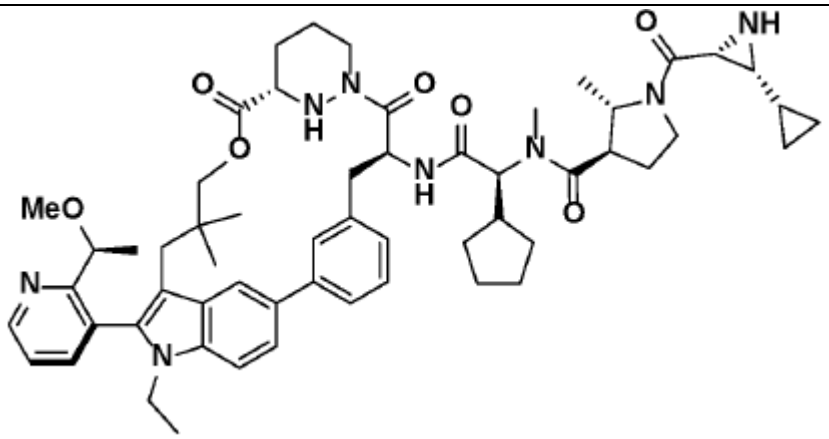
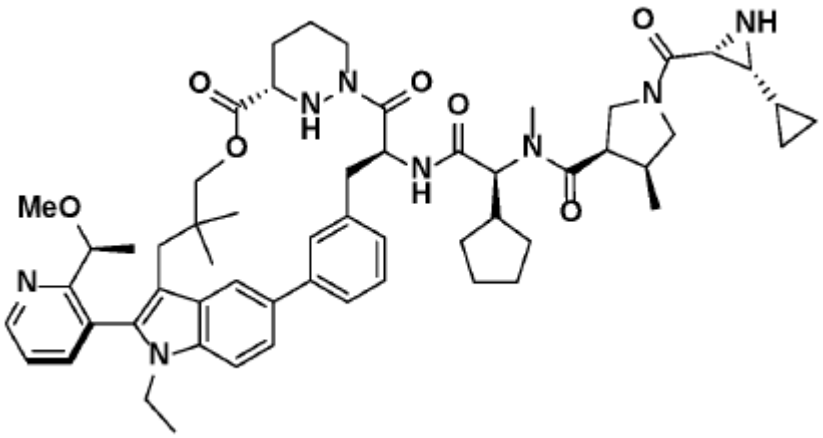
C3	
C4	
C5	
C6	

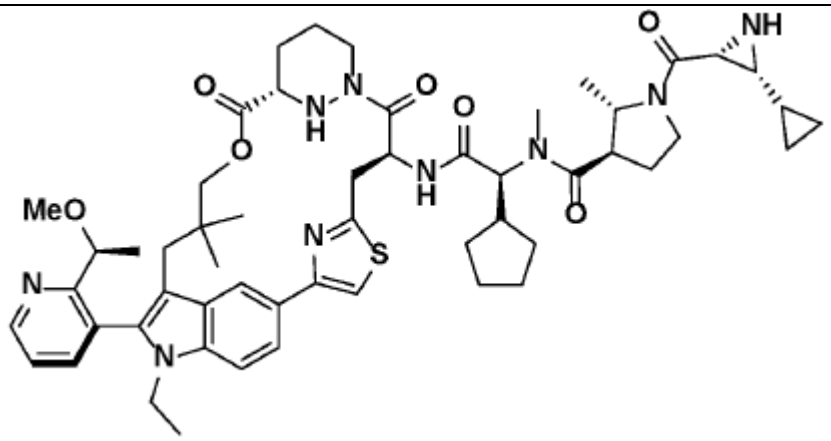
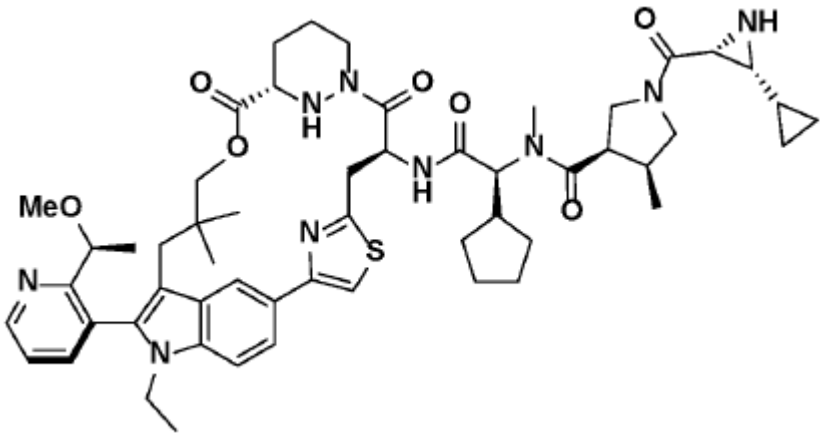
C7	
C8	
C9	

También se proporciona en la presente un compuesto seleccionado de la Tabla 4, o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención se selecciona de la Tabla 4, o una sal o atropisómero farmacéuticamente aceptable de este.

Tabla 4: Determinados compuestos de la presente invención

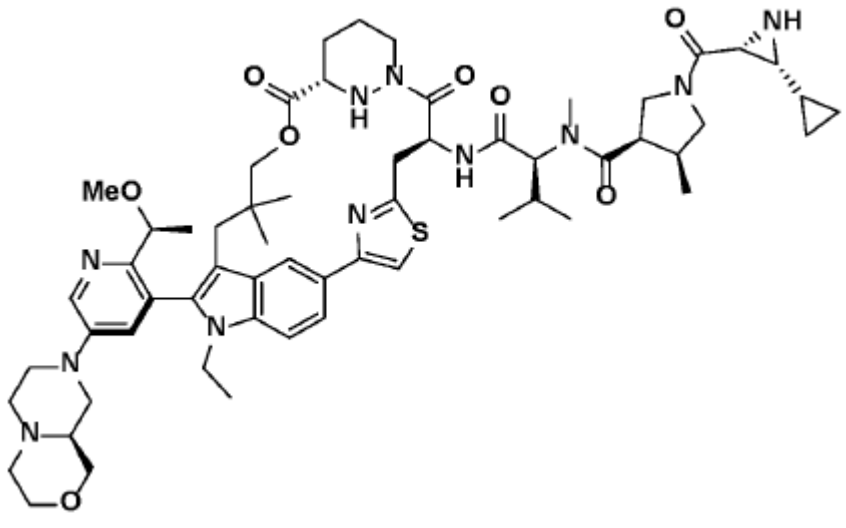
Ej. núm	Estructura

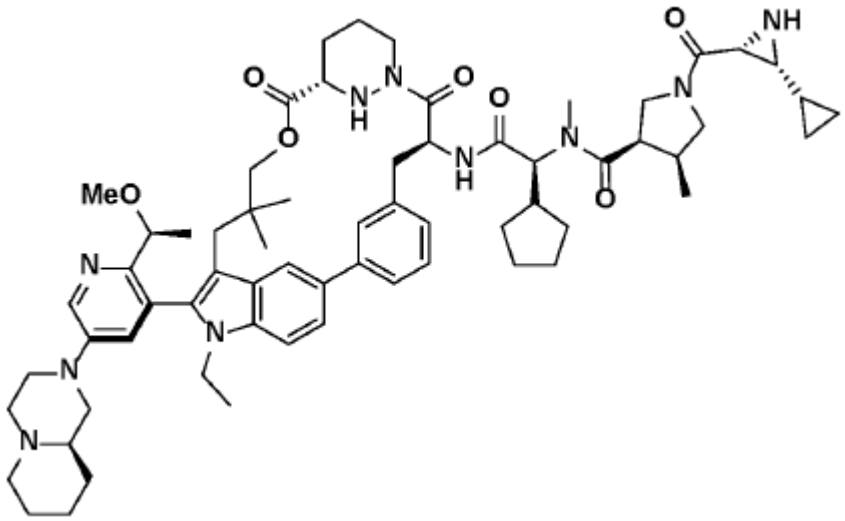
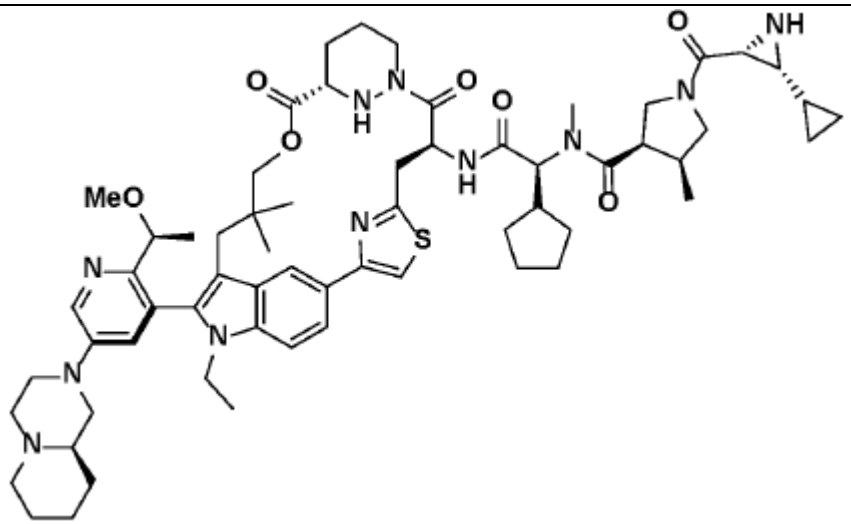
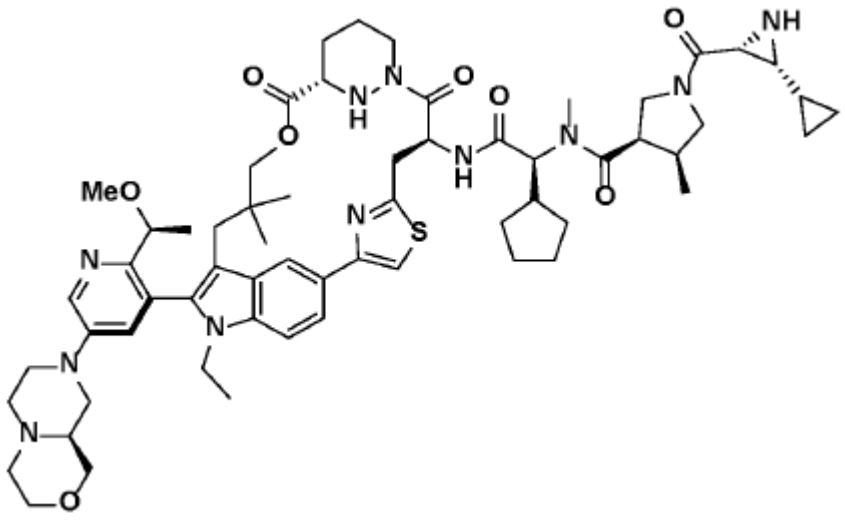
D1	
D2	
D3	
D4	

D5	
D6	

En algunas modalidades, se proporciona un compuesto de Tabla 5, o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención se selecciona de la Tabla 5, o una sal o atropisómero farmacéuticamente aceptable de este.

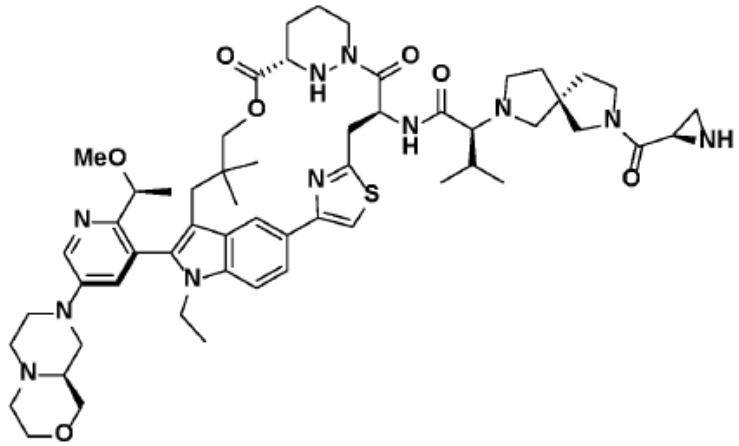
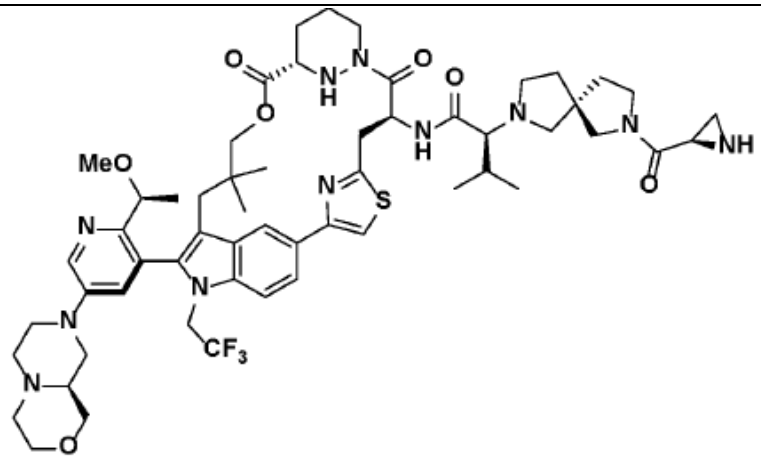
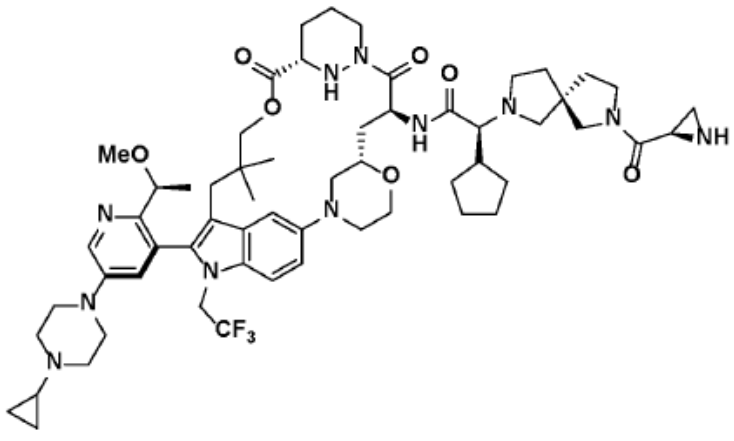
Tabla 5: Determinados compuestos de la presente invención

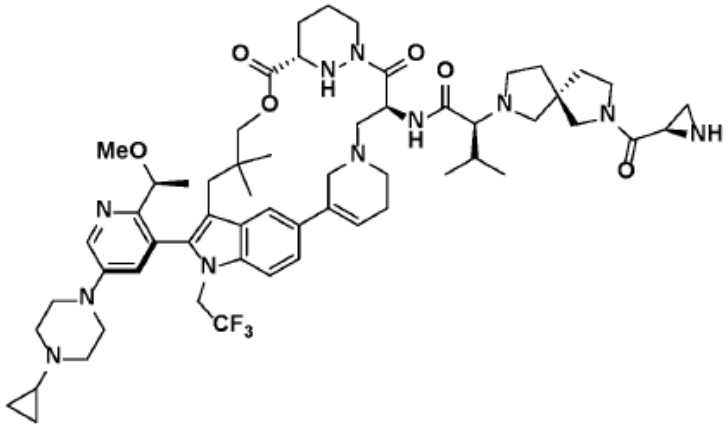
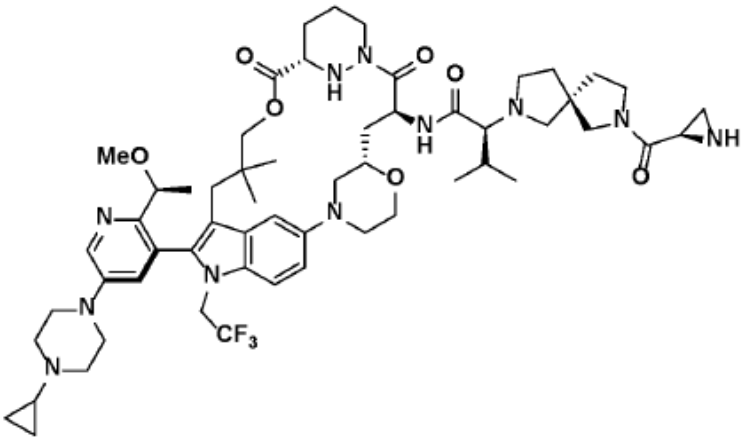
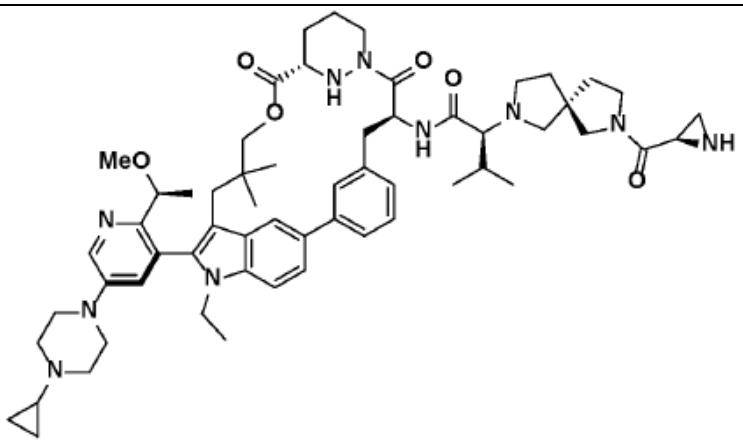
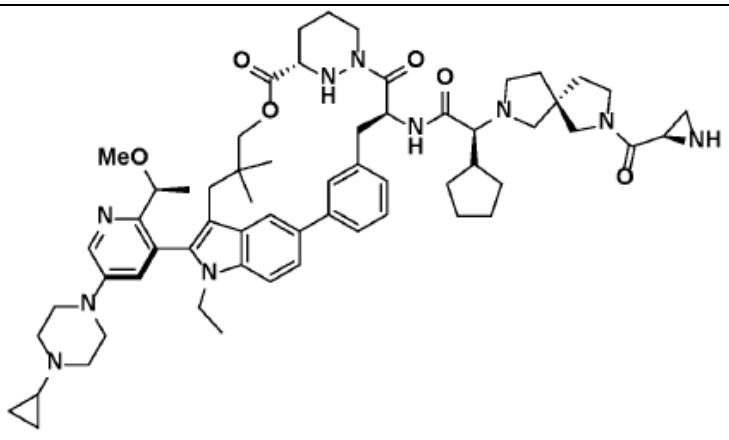
Ej. núm	Estructura
E1	

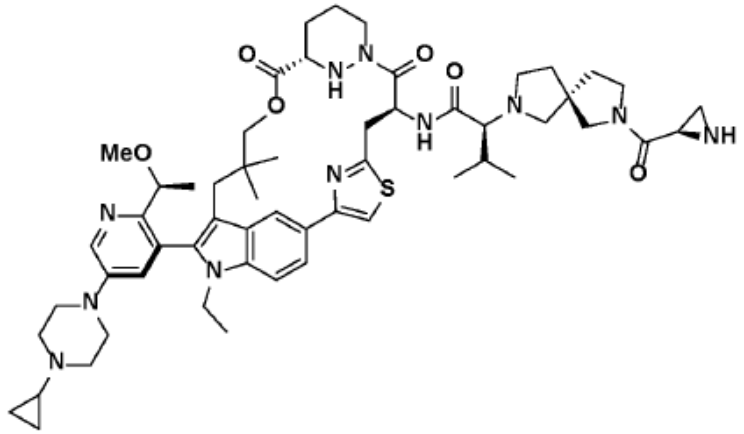
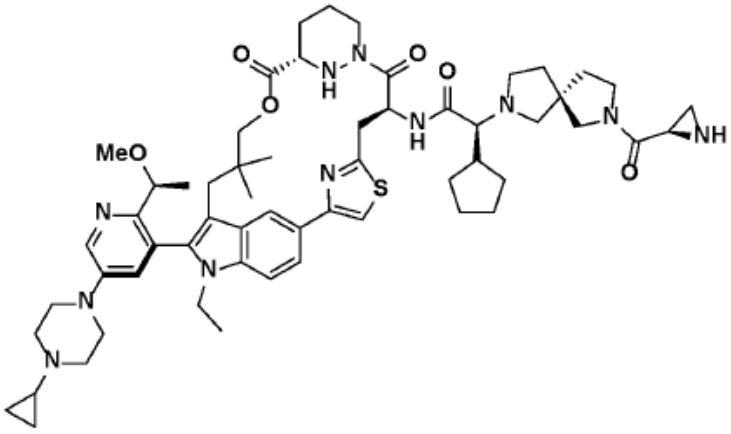
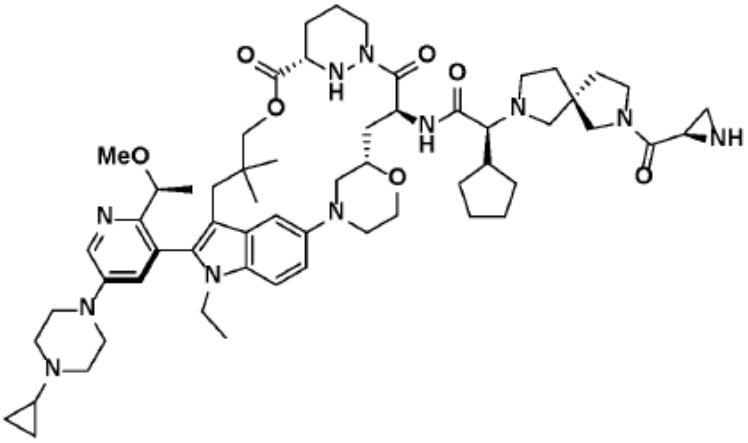
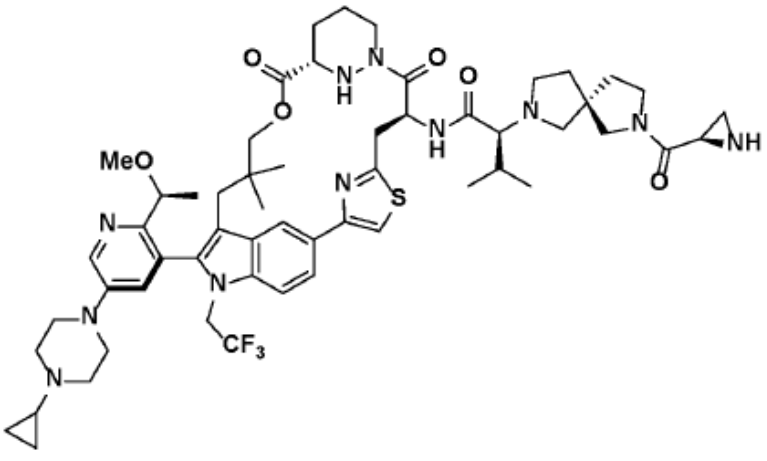
E2	
E3	
E4	

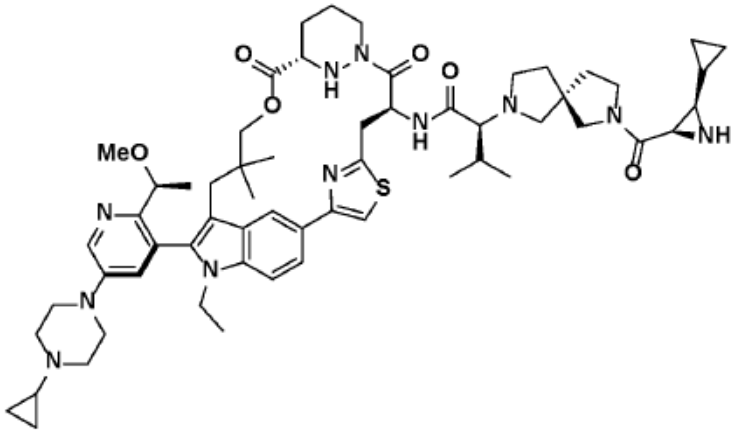
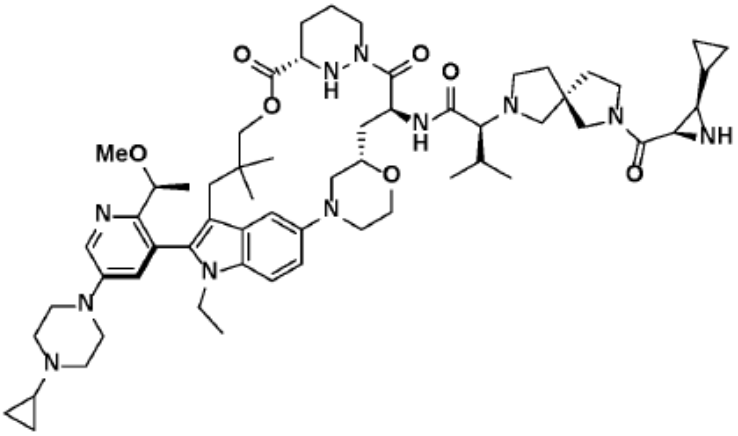
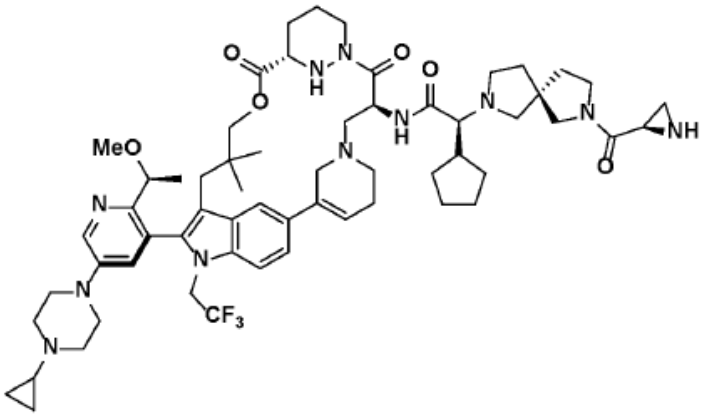
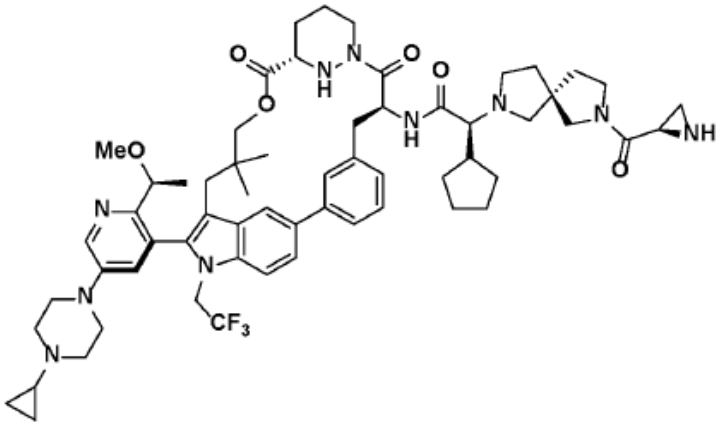
En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención se selecciona de la Tabla 6, o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención se selecciona de la Tabla 6, o una sal o atropisómero farmacéuticamente aceptable de este.

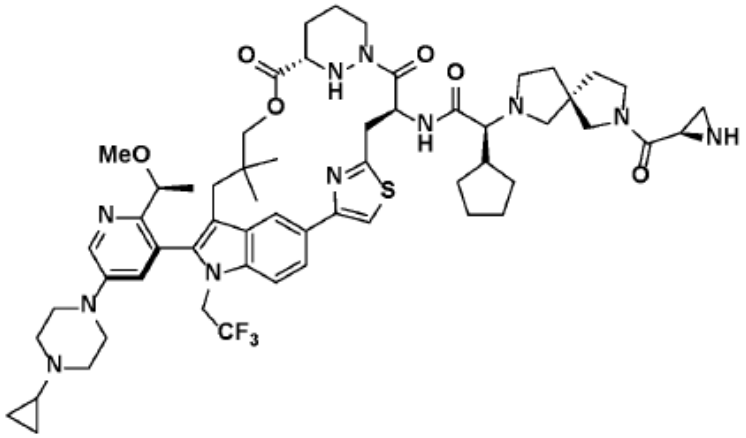
Tabla 6: Determinados compuestos de la presente invención

Ej. núm	Estructura
F1	
F2	
F3	

F4	
F5	
F6	
F7	

F8	
F9	
F10	
F11	

F12	
F13	
F14	
F15	

F16	

* Se supone la estereoquímica del carbono de aziridina.

Cabe destacar que algunos compuestos se muestran con enlaces como planos o acuñados. En algunos casos, se determinó la estereoquímica relativa de los estereoisómeros; en algunos casos, se determinó la estereoquímica absoluta. En algunos casos, un único número de Ejemplo corresponde a una mezcla de estereoisómeros. Todos los estereoisómeros de los compuestos de la tabla anterior se contemplan por la presente invención. En modalidades particulares, se contempla un atropisómero de un compuesto de la tabla anterior.

En algunas modalidades, W es un grupo reticulante unido a un resto orgánico que es un resto de unión a Ras, es decir, RBM-W, en donde tras el contacto de un compuesto de RBM-W con una proteína Ras, el RBM-W se une a la proteína Ras para formar un conjugado. Por ejemplo, el resto W de un compuesto RBM-W puede unirse, por ejemplo, mediante reticulación, con un aminoácido de la proteína Ras para formar el conjugado. En algunas modalidades, el resto de unión a Ras es un resto de unión a K-Ras. En algunas modalidades, el resto de unión a K-Ras se une a un residuo de un sitio de unión a K-Ras Switch-II de la proteína K-Ras. En algunas modalidades, el resto de unión a Ras es un resto de unión a H-Ras que se une a un residuo de un sitio de unión a H-Ras Switch-II de una proteína H-Ras. En algunas modalidades, el resto de unión a Ras es un resto de unión a N-Ras que se une a un residuo de un sitio de unión a N-Ras Switch-II de una proteína N-Ras. La W de un compuesto RBM-W puede comprender cualquier W descrita en el presente documento. El resto de unión a Ras generalmente tiene un peso molecular menor a 1200 Da. Véase, por ejemplo, Johnson et al., 292:12981-12993 (2017) para una descripción de dominios de proteína Ras, incorporada a la presente mediante referencia.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención es o actúa como un profármaco, como respecto a la administración a una célula o a un sujeto que lo necesita.

También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se proporciona además un conjugado, o sal de este, que comprende la estructura de Fórmula IV:

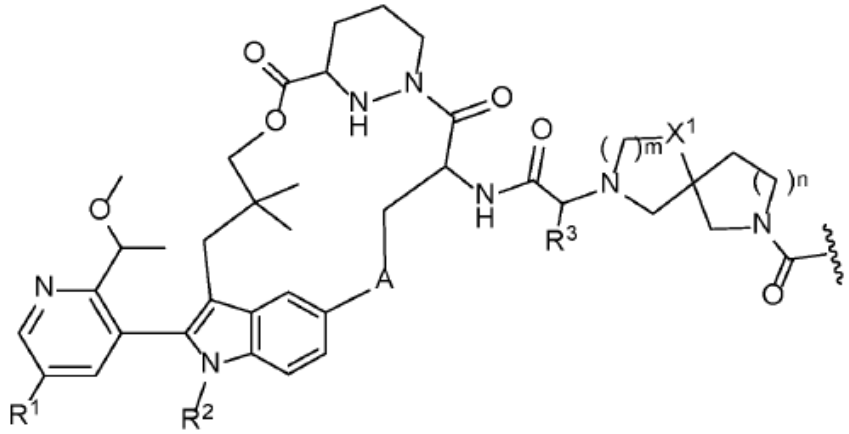
$M\text{-}L^2\text{-}P^1$

Fórmula IV

en donde L^2 es un enlazador;

P^1 es un resto orgánico monovalente; y

M tiene la estructura de Fórmula V:



Fórmula V,

en donde A es heterocicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

X^1 es CH_2 u O;

m es 1 o 2;

n es 0 o 1;

R^1 es hidrógeno o heterocicloalquilo de 3 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

R^2 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido; y

R^3 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades de conjugado de la presente invención, el resto orgánico monovalente es una proteína. En algunas modalidades, la proteína es una proteína Ras. En algunas modalidades, la proteína Ras es K-Ras G12D o K-Ras G13D. En algunas modalidades de conjugados de la presente invención, el enlazador, L^2, está unido al resto orgánico monovalente a través de un enlace a un grupo carboxilo de un residuo de aminoácido del resto orgánico monovalente.

Además se proporciona un método para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de esta. El cáncer puede ser, por ejemplo, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, carcinoma broncopulmonar no

microcítico, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, adenocarcinoma de glándula tiroides, un síndrome mielodisplásico o carcinoma pulmonar de células escamosas. En algunas modalidades, el cáncer comprende una mutación en Ras, como K-Ras G12D o K-Ras G13D. En la presente se describen otras mutaciones de Ras.

Además se proporciona un método para tratar un trastorno relacionado con la proteína Ras en un sujeto que lo necesita, donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

También se proporciona un método para inhibir una proteína Ras en una célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de este. Por ejemplo, la proteína Ras es K-Ras G12D o K-Ras G13D. En la presente se describen otras proteínas Ras. La célula puede ser una célula cancerosa, tal como una célula de cáncer pancreático, una célula de cáncer colorrectal, una célula de carcinoma broncopulmonar no microcítico, una célula de leucemia mieloide aguda, una célula de mieloma múltiple, una célula de adenocarcinoma de glándula tiroides, una célula de un síndrome mielodisplásico o una célula de carcinoma pulmonar de células escamosas. En la presente se describen otros tipos de cánceres. La célula puede encontrarse in vivo o in vitro.

Con respecto a los compuestos de la presente invención, un estereoisómero puede presentar mejor inhibición que otro estereoisómero. Por ejemplo, un atropisómero puede presentar inhibición, mientras que el otro atropisómero puede presentar poca o ninguna inhibición.

En algunas modalidades, un método o uso descrito en el presente documento comprende además administrar una terapia anticancerosa adicional. En algunas modalidades, la terapia anticancerosa adicional es un inhibidor de EGFR, un segundo inhibidor de Ras, un inhibidor de SHP2, un inhibidor de SOS1, un inhibidor de Raf, un inhibidor de MEK, un inhibidor de ERK, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de PTEN, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de BRAF, un inhibidor de PD-L1, un inhibidor de PD-1, un inhibidor de CDK4/6, un inhibidor de HER2, o una combinación de estos. En algunas modalidades, la terapia anticancerosa adicional es un inhibidor de SHP2. Otras terapias anticancerosas adicionales se describen en la presente.

Métodos de síntesis

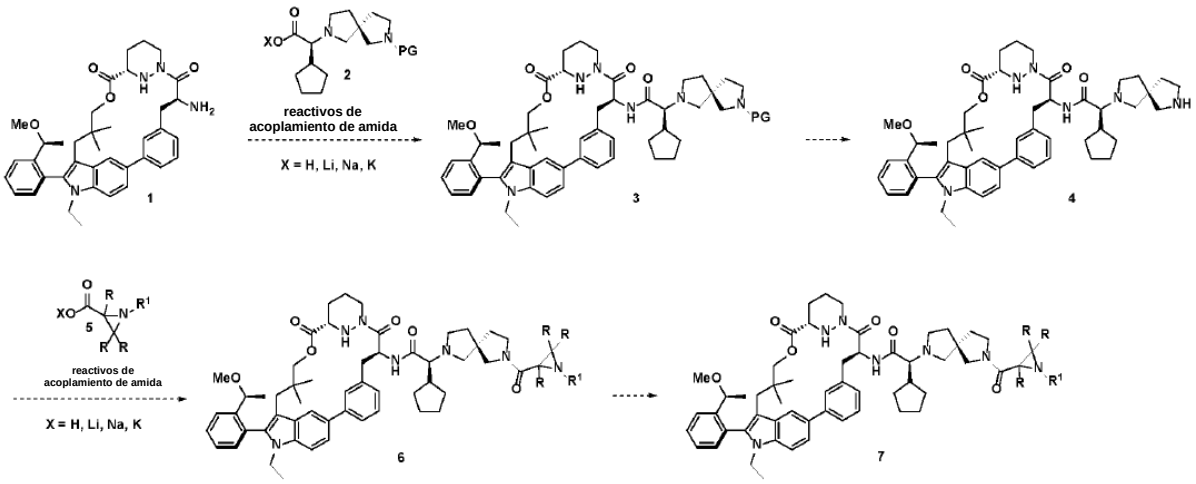
Los compuestos descritos en la presente pueden elaborarse a partir de materiales de partida disponibles en el mercado o sintetizarse mediante el uso de procesos orgánicos, inorgánicos o enzimáticos conocidos.

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse en una variedad de formas conocidas por los expertos en la técnica de síntesis orgánica. A modo de ejemplo, los

compuestos de la presente invención se pueden sintetizar usando los métodos descritos en los Esquemas siguientes, junto con métodos sintéticos conocidos en la técnica de la química orgánica sintética, o variaciones de estos según lo aprecien los expertos en la técnica. Estos métodos incluyen, de modo no taxativo, los métodos que se describen en los Esquemas a continuación.

Los compuestos de la Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3, Tabla 4 y Tabla 6 en el presente documento se prepararon utilizando los métodos descritos en el presente documento o se prepararon utilizando los métodos descritos en el presente documento combinados con el conocimiento de un experto en la técnica. Los compuestos en la Tabla 5 se pueden preparar usando métodos descritos en la presente o pueden prepararse usando métodos descritos en la presente combinados con el conocimiento de un experto en la técnica.

Esquema 1. Síntesis general de macrociclos que contienen aziridina



Como se muestra en el Esquema 1, los compuestos de este tipo se pueden preparar mediante la reacción de una amina apropiada (1) con un ácido carboxílico que contiene una amina protegida (2) en presencia de reactivos de acoplamiento de amida estándar para dar 3, seguido de la desprotección de la amina para producir 4. El acoplamiento de un carboxilato de aziridina (5) en presencia de reactivos de acoplamiento de amida estándar produce 6. Si R^1 es un grupo protector, la desprotección proporciona el compuesto final (7).

Composiciones farmacéuticas y métodos de uso

Composiciones farmacéuticas y métodos de administración

Los compuestos a los que se refiere la invención son inhibidores de Ras y son útiles en el tratamiento del cáncer. Por consiguiente, una modalidad de la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un excipiente farmacéuticamente aceptable, así como métodos de uso de los compuestos de la invención en la elaboración de dichas composiciones.

Como se usa en la presente, "composición farmacéutica" se refiere a un compuesto, como un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, formulado junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, un compuesto está presente en una composición farmacéutica en una cantidad de dosis unitaria adecuada para la administración en un régimen terapéutico que muestra una probabilidad estadísticamente significativa de lograr un efecto terapéutico predeterminado cuando se administra a una población relevante. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas pueden formularse especialmente para administración en forma sólida o líquida, incluidas aquellas adaptadas para lo siguiente: administración oral, por ejemplo, pociones (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, por ejemplo, aquellas destinadas a absorción bucal, sublingual y sistémica, bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicación en la lengua; administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril, o una formulación de liberación sostenida; aplicación tópica, por ejemplo, como crema, pomada o parche o aerosol de liberación controlada aplicado a la piel, los pulmones o la cavidad bucal; intravaginal o intrarrectal, por ejemplo, como pesario, crema o espuma; sublingualmente; ocularmente; transdérmicamente; o por vía nasal, pulmonar y a otras superficies mucosas.

Un "excipiente farmacéuticamente aceptable", como se usa en la presente, se refiere a cualquier ingrediente inactivo (por ejemplo, un vehículo capaz de suspender o disolver el compuesto activo) que tiene las propiedades de ser no tóxico y no inflamatorio en un sujeto. Los excipientes típicos incluyen, por ejemplo: antiadherentes, antioxidantes, aglutinantes, recubrimientos, coadyuvantes de compresión, desintegrantes, tintes (colores), emolientes, emulsionantes, cargas (diluyentes), formadores de películas o recubrimientos, sabores, fragancias, deslizantes (potenciadores del flujo), lubricantes, conservantes, tintas de impresión, sorbentes, agentes suspensores o dispersantes, edulcorantes o aguas de hidratación. Los excipientes incluyen, entre otros: hidroxiltolueno (BHT) butilado opcionalmente sustituido, carbonato de calcio, fosfato de calcio (dibásico), estearato de calcio, croscarmelosa, polivinilpirrolidona reticulada, ácido cítrico, crospovidona, cisteína, etilcelulosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa opcionalmente sustituida, hidroxipropilmetilcelulosa opcionalmente sustituida, lactosa, estearato de magnesio, maltitol, manitol, metionina, metilcelulosa, metilparabeno, celulosa microcristalina, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, povidona, almidón pregelatinizado, propilparabeno, palmitato de retinilo, goma laca, dióxido de silicio, carboximetilcelulosa de sodio, citrato de sodio, glicolato de almidón de sodio, sorbitol, almidón (maíz), ácido esteárico, ácido esteárico, sacarosa, talco, dióxido de titanio, vitamina A, vitamina E, vitamina C y xilitol. Los expertos en la técnica están familiarizados con una variedad de agentes y materiales útiles como excipientes. Véase, p. ej., Ansel, et ál., Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. Filadelfia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2004; Gennaro, et ál., Remington: The Science and Practice of Pharmacy. Filadelfia: Lippincott,

Williams & Wilkins, 2000; y Rowe, Handbook of Pharmaceutical Excipients. Chicago, Pharmaceutical Press, 2005. En algunas modalidades, una composición incluye al menos dos excipientes farmacéuticamente aceptables diferentes.

Los compuestos descritos en la presente, ya sea establecido expresamente o no, pueden proporcionarse o utilizarse en forma de sal, p. ej., una forma de la sal farmacéuticamente aceptable, a menos que se establezca expresamente lo contrario. El término "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en la presente se refiere a aquellas sales de los compuestos descritos en la presente que son, dentro del alcance del buen juicio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de humanos y otros animales sin toxicidad, irritación indebida, respuesta alérgica y similares, y son proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable. En la técnica se conocen las sales farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, se describen sales farmacéuticamente aceptables en: Berge et al., J. *Pharmaceutical Sciences* 66:1-19, 1977 y en *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use,* (Eds. P.H. Stahl y C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Estas sales pueden ser preparadas *in situ* durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos descritos en el presente documento o por separado haciendo reaccionar el grupo de base libre con un ácido orgánico adecuado.

Los compuestos de la invención pueden tener grupos ionizables de manera tal que sean capaces de prepararse como sales farmacéuticamente aceptables. Las sales pueden ser sales de adición de ácidos que implican ácidos orgánicos o inorgánicos o, en el caso de formas ácidas de los compuestos de la invención, las sales pueden prepararse a partir de bases orgánicas o inorgánicas. En algunas modalidades, los compuestos se preparan o se utilizan como sales farmacéuticamente aceptables preparadas como productos de adición de ácidos o bases farmacéuticamente aceptables. Se conocen en la técnica los ácidos y bases farmacéuticamente aceptables adecuados, tales como los ácidos clorhídrico, sulfúrico, bromhídrico, acético, láctico, cítrico o tartárico para formar sales de adición de ácido e hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, cafeína, diversas aminas y similares para la formación de sales básicas. Se conocen en la técnica los métodos para la preparación de las sales apropiadas.

Las sales de adición de ácido representativas incluyen acetato, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, hemisulfato, heptonato, hexanoato, bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, 2-hidroxil-etanosulfonato opcionalmente sustituido, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, sales de persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares. Las sales representativas de metales alcalinos o alcalinotérreos incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares, así

como cationes de amonio, amonio cuaternario y amina no tóxicos, incluyendo, a modo no taxativo, amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina y similares.

Como se usa en la presente, el término "sujeto" se refiere a cualquier miembro del reino animal. En algunas modalidades, "sujeto" se refiere a seres humanos, en cualquier etapa de desarrollo. En algunas modalidades, "sujeto" se refiere a un paciente humano. En algunas modalidades, "sujeto" se refiere a animales no humanos. En algunas modalidades, el animal no humano es un mamífero (por ejemplo, un roedor, un ratón, una rata, un conejo, un burro, un perro, un gato, una oveja, ganado vacuno, un primate o un cerdo). En algunas modalidades, los sujetos incluyen, de modo no taxativo, mamíferos, aves, reptiles, anfibios, peces o gusanos. En algunas modalidades, un sujeto puede ser un animal transgénico, animal genéticamente modificado o un clon.

Como se usa en la presente, la expresión "forma de dosificación" hace referencia a una unidad físicamente independiente de un compuesto (p. ej., un compuesto de la presente invención) para la administración a un sujeto. Cada unidad contiene una cantidad de compuesto predeterminada. En algunas modalidades, esta cantidad es una cantidad de dosificación unitaria (o una fracción completa de esta) adecuada para administrarse de acuerdo con un régimen de dosificación que se determinó que se correlaciona con un resultado deseado o favorable al administrarse a una población relevante (es decir, con un régimen de dosificación terapéutico). Los expertos en la técnica apreciarán que la cantidad total de una composición terapéutica o compuesto administrados a un sujeto particular es determinada por uno o más médicos tratantes y puede implicar la administración de múltiples formas de dosificación.

Tal como se usa en la presente, la expresión "régimen de dosificación" hace referencia a un conjunto de dosis unitarias (típicamente más de una) que se administran individualmente a un sujeto, típicamente separadas por plazos temporales. En algunas modalidades, un compuesto terapéutico dado (p. ej., un compuesto de la presente invención) tiene un régimen de dosificación recomendado, que puede implicar una o más dosis. En algunas modalidades, un régimen de dosificación comprende múltiples dosis cada una de las cuales se separa de la otra mediante un período de tiempo de la misma extensión; en algunas modalidades, un régimen de dosificación comprende múltiples dosis y al menos dos períodos de tiempo diferentes que separan las dosis individuales. En algunas modalidades, todas las dosis dentro de un régimen de dosificación tienen la misma cantidad de dosificación unitaria. En algunas modalidades, las diferentes dosis dentro de un régimen de dosificación tienen distintas cantidades. En algunas modalidades, un régimen de dosificación comprende una primera dosis en una primera cantidad de dosis, seguida de una o más dosis adicionales en una segunda cantidad de dosis diferente de la primera cantidad de dosis. En algunas modalidades, un régimen de dosificación comprende una primera dosis en una primera cantidad de dosificación, seguido de una o más dosis adicionales en una segunda cantidad de dosis igual a la primera cantidad de dosis. En algunas modalidades, un

régimen de dosificación se correlaciona con un resultado deseado o beneficioso cuando se administra en una población pertinente (es decir, es un régimen de dosificación terapéutico).

Un “régimen terapéutico” hace referencia a un régimen de dosificación cuya administración a través de una población relevante puede correlacionarse con un resultado terapéutico deseado o favorable.

El término "tratamiento” (también "tratar” o "que trata”), en su sentido más amplio, se refiere a cualquier administración de una sustancia (p. ej., un compuesto de la presente invención) que alivie, mejore, aminore, inhiba, retrase la aparición, reduzca la gravedad o reduzca la incidencia de forma parcial o completa de uno o más síntomas, características o causas de una enfermedad, trastorno o afección particular. En algunas modalidades, ese tratamiento puede administrarse a un sujeto que no presente señales de la enfermedad, trastorno o afección pertinente o de un sujeto que presente solamente señales iniciales de la enfermedad, trastorno o afección. De manera alternativa o adicional, en algunas modalidades, el tratamiento puede administrarse a un sujeto que presenta una o más señales establecidas de la enfermedad, trastorno o afección relevante. En algunas modalidades, el tratamiento puede ser de un sujeto al que se le diagnosticó que padece la enfermedad, trastorno o afección. En algunas modalidades, el tratamiento puede ser de un sujeto que se sabe que tiene uno o más factores de susceptibilidad con correlación estadística con un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad, trastorno o afección relevante.

La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” hace referencia a una cantidad que es suficiente, cuando se administra a una población que padece o es susceptible a una enfermedad, trastorno o afección de acuerdo con un régimen de dosificación terapéutica, para tratar la enfermedad, trastorno o afección. En algunas modalidades, una cantidad terapéuticamente eficaz es una que reduce la incidencia o gravedad, o retrasa el origen, de uno o más síntomas de una enfermedad, trastorno o afección. Los expertos en la técnica comprenderán que la expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” no requiere, de hecho, que se logre un tratamiento exitoso en un individuo en particular. Más bien, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser aquella cantidad que proporcione una respuesta farmacológica particular deseada en un número significativo de sujetos cuando se administra a pacientes que necesitan dicho tratamiento. Se entiende específicamente que los sujetos particulares, de hecho, pueden ser “resistentes” a una “cantidad terapéuticamente eficaz”. En algunas modalidades, la referencia a una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una referencia a una cantidad medida en uno o más tejidos específicos (p. ej., un tejido afectado por la enfermedad, trastorno o afección) o fluidos (p. ej., sangre, saliva, suero, sudor, lágrimas, orina). Los expertos en la técnica comprenderán que, en algunas modalidades, una cantidad terapéuticamente eficaz puede formularse o administrarse en una única dosis. En algunas modalidades, una cantidad terapéuticamente eficaz puede formularse o administrarse en múltiples dosis, por ejemplo, como parte de un régimen de dosificación.

Para uso como tratamiento de sujetos, los compuestos de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, pueden formularse como composiciones farmacéuticas o veterinarias. Dependiendo del sujeto que se van a tratar, el modo de administración y el tipo de tratamiento deseado, p. ej., prevención, profilaxis o terapia; los compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, se formulan de manera coherente con estos parámetros. Un resumen de dichas técnicas se encuentra en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ava. edición,* Lippincott Williams & Wilkins, (2005); y *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology,* eds. J. Swarbrick y J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, Nueva York, que se incorporan a la presente mediante referencia.

Las composiciones se pueden preparar según métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y las presentes composiciones farmacéuticas pueden contener de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 5 % a aproximadamente 90 %, o de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 % de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en peso o volumen. En algunas modalidades, los compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, descrito en la presente puede estar presente en cantidades que ascienden a 1-95 % en peso del peso total de una composición, como una composición farmacéutica.

La composición se puede proporcionar en una forma de dosificación que sea adecuada para administración intraarticular, oral, parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular), rectal, cutánea, subcutánea, tópica, transdérmica, sublingual, nasal, vaginal, intravesicular, intrauretral, intratecal, epidural, auricular u ocular, o mediante inyección, inhalación o contacto directo con la mucosa nasal, genitourinaria, reproductiva u oral. Por lo tanto, la composición farmacéutica puede presentarse en forma de, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, granulados, suspensiones, emulsiones, soluciones, geles que incluyen hidrogeles, pastas, ungüentos, cremas, yesos, pociones, dispositivos de suministro osmótico, supositorios, enemas, inyectables, implantes, pulverizadores, preparaciones adecuadas para suministro iontoforético, o aerosoles. Las composiciones se pueden formular de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional.

Como se usa en la presente, el término “administración” se refiere a la administración de una composición (por ejemplo, un compuesto o una preparación que incluye un compuesto como se describe en la presente) a un sujeto o sistema. La administración a un sujeto animal (por ejemplo, a un ser humano) puede realizarse por cualquier vía adecuada. Por ejemplo, en algunas modalidades, la administración puede ser bronquial (incluso mediante instilación bronquial), bucal, enteral, interdérmica, intraarterial, intradérmica, intragástrica, intramedular, intramuscular, intranasal, intraperitoneal, intratecal, intravenosa, intraventricular, mucosa, nasal, oral, rectal, subcutánea, sublingual, tópica, traqueal (incluso mediante instilación intratraqueal), transdérmica, vaginal o vítrea.

Las formulaciones se pueden preparar de una manera adecuada para la administración

sistémica o la administración tópica o local. Las formulaciones sistémicas incluyen aquellas diseñadas para inyección (por ejemplo, inyección intramuscular, intravenosa o subcutánea) o se pueden preparar para administración transdérmica, transmucosa u oral. En general, una formulación incluirá un diluyente, así como, en algunos casos, adyuvantes, amortiguadores, conservantes y similares. Los compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, pueden administrarse también en composiciones liposómicas o como microemulsiones.

Para una inyección, las formulaciones se pueden preparar de forma convencional como soluciones o suspensiones líquidas o como formas sólidas adecuadas para una solución o suspensión en líquido antes de la inyección o como emulsiones. Los excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol y similares. Dichas composiciones también pueden contener cantidades de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes amortiguadores de pH y similares, tales como, por ejemplo, acetato de sodio, monolaurato de sorbitán y otros.

También se han desarrollado varios sistemas de liberación sostenida para fármacos. Véase, por ejemplo, las patentes de EE. UU. núm. 5,624,677.

La administración sistémica puede incluir también métodos relativamente no invasivos tales como el uso de supositorios, parches transdérmicos, administración transmucosa y administración intranasal. La administración oral también es adecuada para compuestos de la invención o sal farmacéuticamente aceptable de estos. La formas adecuadas incluyen jarabes, cápsulas y comprimidos, tal como se entiende en la técnica.

Cada compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, como se describe en la presente, se puede formular de diversas formas conocidas en la técnica. Por ejemplo, los primeros y segundos agentes de la terapia de combinación se pueden formular juntos o separados. En la presente se describen otras modalidades de terapia de combinación.

Los agentes formulados individualmente o por separado pueden envasarse juntos como un kit. Ejemplos no limitantes incluyen, entre otros, kits que contienen, por ejemplo, dos píldoras, una píldora y un polvo, un supositorio y un líquido en un recipiente, dos cremas tópicas, etc. El kit puede incluir componentes opcionales que ayudan a la administración de la dosis unitaria a los sujetos, tales como viales para reconstituir formas en polvo, jeringas para inyección, sistemas de administración IV personalizados, inhaladores, etc. De manera adicional, el kit de dosis unitaria puede contener instrucciones para la preparación y administración de las composiciones. El kit puede fabricarse como una dosis unitaria de uso único para un sujeto, usos múltiples para un sujeto particular (a una dosis constante o en la que los compuestos individuales, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden variar en potencia a medida que avanza la terapia); o el kit puede contener múltiples dosis adecuadas para la administración a múltiples sujetos (“envases a granel”). Los componentes del kit pueden ponerse en cajas, blísteres, botellas, tubos y similares.

Las formulaciones para uso oral incluyen comprimidos que contienen el/los ingrediente(s)

activo(s) en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes o rellenos inertes (por ejemplo, sacarosa, sorbitol, azúcar, manitol, celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de patata, carbonato cálcico, cloruro sódico, lactosa, fosfato cálcico, sulfato cálcico o fosfato sódico); agentes granulantes y desintegrantes (por ejemplo, derivados de celulosa que incluyen celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de patata, croscarmelosa sódica, alginatos o ácido algínico); agentes aglutinantes (por ejemplo, sacarosa, glucosa, sorbitol, goma arábiga, ácido algínico, alginato de sodio, gelatina, almidón, almidón pregelatinizado, celulosa microcristalina, silicato de magnesio y aluminio, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa opcionalmente sustituida, etilcelulosa, polivinilpirrolidona o polietilenglicol); y agentes lubricantes, deslizantes y antiadhesivos (por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de zinc, ácido esteárico, sílices, aceites vegetales hidrogenados o talco). Otros excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser colorantes, agentes saborizantes, plastificantes, humectantes, agentes amortiguadores y similares.

Se pueden mezclar dos o más compuestos en un comprimido, cápsula u otro vehículo, o se pueden dividir. En un ejemplo, el primer compuesto está contenido en el interior del comprimido y el segundo compuesto se encuentra en el exterior, de forma tal que se libere una parte sustancial del segundo compuesto antes de la liberación del primer compuesto.

Las formulaciones para uso oral también se pueden proporcionar como tabletas masticables o como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte (por ejemplo, almidón de patata, lactosa, celulosa microcristalina, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín), o como cápsulas de gelatina blanda en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva. Los polvos, granulados y gránulos se pueden preparar usando los ingredientes mencionados anteriormente en comprimidos y cápsulas de manera convencional usando, por ejemplo, un mezclador, un aparato de lecho fluido o un equipo de secado por atomización.

La liberación controlada de disolución o difusión se puede lograr mediante el recubrimiento adecuado de una formulación de compuestos en forma de comprimido, cápsula, gránulo o granulado o mediante la incorporación del compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, en una matriz apropiada. Un recubrimiento de liberación controlada puede incluir una o más de las sustancias de recubrimiento mencionadas anteriormente o, por ejemplo, goma laca, cera de abejas, glicocera, cera de ricino, cera de carnauba, alcohol estearílico, monoestearato de glicerilo, diestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerol, etilcelulosa, resinas acrílicas, diácido poliláctico, butirato de acetato de celulosa, cloruro de polivinilo, acetato de polivinilo, vinilpirrolidona, polietileno, polimetacrilato, metilmetacrilato, hidroxilmetacrilato 2-opcionalmente sustituido, hidrogeles de metacrilato, 1,3-butilenglicol, metacrilato de etilenglicol o polietilenglicoles. En una formulación de matriz de liberación controlada, el material de matriz

también puede incluir, por ejemplo, metilcelulosa hidratada, cera de carnauba y alcohol estearílico, carbopol 934, silicona, triestearato de glicerilo, acrilato de metilo-metacrilato de metilo, cloruro de polivinilo, polietileno o fluorocarbono halogenado.

Las formas líquidas en las cuales se pueden incorporar los compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, y las composiciones de la presente invención para la administración oral incluyen soluciones acuosas, jarabes adecuadamente saborizados, suspensiones acuosas u oleosas y emulsiones saborizadas con aceites comestibles como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de maní, así como elíxires y vehículos farmacéuticos similares.

En general, cuando se administra a un humano, la dosificación oral de cualquiera de los compuestos de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, dependerá de la naturaleza del compuesto, y puede determinarlo fácilmente un experto en la técnica. Una dosificación puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 2000 mg por día, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg por día, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg por día, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 1500 mg por día, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 1500 mg por día, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 2000 mg por día, o cualquier intervalo derivado de estos.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica puede comprender además un compuesto adicional que tiene actividad antiproliferativa. Dependiendo del modo de administración, los compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, se formularán en composiciones adecuadas para permitir una fácil administración. Cada compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, de una terapia de combinación se puede formular de diversas formas conocidas en la técnica. Por ejemplo, los primeros y segundos agentes de la terapia de combinación se pueden formular juntos o separados. De manera deseable, los primeros y segundos agentes se formulan juntos para la administración simultánea o casi simultánea de los agentes.

Se apreciará que los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular y emplear en terapias combinadas, es decir, los compuestos y composiciones farmacéuticas se pueden formular o administrar simultáneamente con, antes o después de, una o más otras terapias o procedimientos médicos deseados. La combinación particular de terapias (productos terapéuticos o procedimientos) para emplear en un régimen combinado tendrá en cuenta la compatibilidad de los productos o procedimientos deseados con el efecto terapéutico deseado que se pretende lograr. También se reconocerá que las terapias empleadas pueden alcanzar un efecto deseado para el mismo trastorno o pueden alcanzar distintos efectos (por ejemplo, control de cualquier efecto adverso).

La administración de cada fármaco en una terapia de combinación, como se describe en la presente, independientemente puede realizarse una a cuatro veces por día de un día a un año,

y puede ser incluso durante el resto de la vida del sujeto. Se puede indicar la administración crónica a largo plazo.

Métodos de uso

En algunas modalidades, la invención describe un método para tratar una enfermedad o trastorno que se caracteriza por una actividad Ras aberrante debido a un mutante de Ras. En algunas modalidades, la enfermedad o trastorno es cáncer.

Por consiguiente, también se proporciona un método para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o una composición farmacéutica que comprende tal compuesto o sal. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer colorrectal, carcinoma broncopulmonar no microcítico, carcinoma broncopulmonar microcítico, cáncer pancreático, cáncer de apéndice, melanoma, leucemia mieloide aguda, cáncer de intestino delgado, cáncer ampular, cáncer de células germinales, cáncer de cuello uterino, cáncer de origen primario desconocido, cáncer de endometrio, cáncer esofagogástrico, cáncer neuroendocrino gastrointestinal, cáncer de ovario, cáncer de tumor del estroma de los cordones sexuales, cáncer hepatobiliar o cáncer de vejiga. En algunas modalidades, el cáncer es apendicular, endometrial o melanoma. También se proporciona un método para tratar un trastorno relacionado con la proteína Ras en un sujeto que lo necesita, donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o sal.

En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos o sales y los métodos proporcionados en la presente se pueden usar para el tratamiento de una amplia variedad de cánceres, incluidos tumores tales como de pulmón, próstata, mama, cerebro, piel, carcionomas cervicales, carcinomas testiculares, etc. Más particularmente, cánceres que pueden tratarse mediante los compuestos o sales de estos, las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos o sales, y los métodos de la invención incluyen, entre otros, carcinomas y sarcomas astrocíticos, de mama, cervicales, colorrectales, endometriales, esofágicos, gástricos, de cabeza y cuello, hepatocelulares, laríngeos, pulmonares, orales,de ovarios, de próstata y de tiroides. Otros cánceres incluyen, por ejemplo:

Cardíacos, por ejemplo, sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rabdomiosarcoma, liposarcoma), mixoma, rabdomioma, fibroma, lipoma y teratoma;

Pulmón, por ejemplo: carcinoma broncogénico (células escamosas, células pequeñas indiferenciadas, células grandes indiferenciadas, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma;

Gastrointestinal, por ejemplo: esófago (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomiosarcoma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma, leiomiosarcoma), páncreas (adenocarcinoma ductal, insolinoma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma velloso, hamartoma, leiomioma);

Tracto genitourinario, por ejemplo: riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilm [nefroblastoma], linfoma, leucemia), vejiga y uretra (carcinoma de célula escamosa, carcinoma de célula transicional, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículos (seminoma, teratoma, carcinoma embrional, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de célula intersticial, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoides, lipoma);

Hígado, por ejemplo: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma;

Tracto biliar, por ejemplo: carcinoma de vesícula biliar, carcinoma ampular, colangiocarcinoma;

Hueso, por ejemplo: sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de células del retículo), mieloma múltiple, cordoma de tumor maligno de células gigantes, osteocondroma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes;

Sistema nervioso, por ejemplo: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteítis deformante), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma [pinealoma], gliblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), neurofibroma de médula espinal, neurofibromatosis tipo 1, meningioma, glioma, sarcoma);

Ginecológicos, por ejemplo: útero (carcinoma de endometrio, carcinoma de útero, carcinoma de endometrio del cuerpo uterino), cuello uterino (carcinoma de cuello uterino, displasia cervical pretumoral), ovarios (carcinoma de ovario [cistoadenocarcinoma seroso, cistoadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado], tumor de células de la granulosa-tecal, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioide [rabdomiosarcoma embrionario], trompas de Falopio [carcinoma]);

Hematológico, por ejemplo: sangre (leucemia mieloide [aguda y crónica], leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, enfermedades mieloproliferativas [p. ej., mielofibrosis y neoplasias mieloproliferativas], mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico), enfermedad de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano [linfoma maligno];

Piel, por ejemplo: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de

células escamosas, sarcoma de Kaposi, lunares, nevos displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis y glándulas suprarrenales, por ejemplo, neuroblastoma.

Glándulas suprarrenales, por ejemplo: neuroblastoma.

En algunas modalidaes, la proteína Ras es de tipo salvaje (Ras^{WT}). Por consiguiente, en algunas modalidades, un compuesto de la presente invención se emplea en un método para tratar a un paciente que tiene un cáncer que comprende un Ras^{WT} (por ejemplo, K-Ras^{WT}, H-Ras^{WT} o N-Ras^{WT}). En algunas modalidades, la proteína Ras es una amplificación de Ras (por ejemplo, K-Ras^{amp}). Por consiguiente, en algunas modalidades, un compuesto de la presente invención se emplea en un método para tratar a un paciente que tiene un cáncer que comprende un Ras^{amp} (por ejemplo, K-Ras^{amp}, H-Ras^{amp} o N-Ras^{amp}). En algunas modalidades, el cáncer comprende una mutación de Ras, tal como una mutación de Ras descrita en la presente. En algunas modalidades, la mutación se selecciona de:

(a) los siguientes mutantes de K-Ras: G12D, G12V, G12C, G13D, G12R, G12A, Q61H, G12S, A146T, G13C, Q61L, Q61R, K117N, A146V, G12F, Q61K, L19F, Q22K, V14I, A59T, A146P, G13R, G12L, o G13V, y combinaciones de estos;

(b) los siguientes mutantes de H-Ras: Q61R, G13R, Q61K, G12S, Q61L, G12D, G13V, G13D, G12C, K117N, A59T, G12V, G13C, Q61H, G13S, A18V, D119N, G13N, A146T, A66T, G12A, A146V, G12N, o G12R, y combinaciones de estos; y

(c) los siguientes mutantes de N-Ras: Q61R, Q61K, G12D, Q61L, Q61H, G13R, G13D, G12S, G12C, G12V, G12A, G13V, G12R, P185S, G13C, A146T, G60E, Q61P, A59D, E132K, E49K, T50I, A146V, o A59T, y combinaciones de estos;

o una combinación de cualquiera de los anteriores. En algunas modalidades, el cáncer comprende una mutación de K-Ras seleccionada del grupo que consiste en G12C, G12D, G13C, G12V, G13D, G12R, G12S, Q61H, Q61K y Q61L. En algunas modalidades, el cáncer comprende una mutación de N-Ras seleccionada del grupo que consiste en G12C, Q61H, Q61K, Q61L, Q61P y Q61R. En algunas modalidades, el cáncer comprende una mutación de H-Ras seleccionada del grupo que consiste en Q61H y Q61L. En algunas modalidades, el cáncer comprende una mutación de Ras seleccionada del grupo que consiste en G12C, G13C, G12A, G12D, G13D, G12S, G13S, G12V y G13V. En algunas modalidades, el cáncer comprende al menos dos mutaciones de Ras seleccionadas del grupo que consiste en G12C, G13C, G12A, G12D, G13D, G12S, G13S, G12V y G13V. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención inhibe más de una mutación de Ras. Por ejemplo, un compuesto puede inhibir tanto K-Ras G12C como K-Ras G13C. Un compuesto puede inhibir tanto N-Ras G12C como K-Ras G12C. Un compuesto puede inhibir tanto N-Ras G12C como K-Ras G12C. En algunas modalidades, un compuesto puede inhibir tanto K-Ras G12C como K-Ras G12D. En algunas modalidades, un compuesto puede inhibir tanto K-Ras G12V como K-Ras G12C. En algunas modalidades, un compuesto puede inhibir tanto K-Ras G12V como K-Ras G12S. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención inhibe Ras^{WT} además de una o más

mutaciones de Ras adicionales (p. ej., K, H o N-Ras^{WT} y K-Ras G12D, G12V, G12C, G13D, G12R, G12A, Q61H, G12S, A146T, G13C, Q61L, Q61R, K117N, A146V, G12F, Q61K, L19F, Q22K, V14I, A59T, A146P, G13R, G12L, o G13V; K, H o N-Ras^{WT} y H-Ras Q61R, G13R, Q61K, G12S, Q61L, G12D, G13V, G13D, G12C, K117N, A59T, G12V, G13C, Q61H, G13S, A18V, D119N, G13N, A146T, A66T, G12A, A146V, G12N, o G12R; o K, H o N-Ras^{WT} y N-Ras Q61R, Q61K, G12D, Q61L, Q61H, G13R, G13D, G12S, G12C, G12V, G12A, G13V, G12R, P185S, G13C, A146T, G60E, Q61P, A59D, E132K, E49K, T50I, A146V, o A59T). En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención inhibe Ras^{amp} además de una o más mutaciones de Ras adicionales (por ejemplo, K-, H- o N-Ras^{amp} y K-Ras G12D, G12V, G12C, G13D, G12R, G12A, Q61H, G12S, A146T, G13C, Q61L, Q61R, K117N, A146V, G12F, Q61K, L19F, Q22K, V14I, A59T, A146P, G13R, G12L, o G13V; K-, H- o N-Ras^{amp} y H-Ras Q61R, G13R, Q61K, G12S, Q61L, G12D, G13V, G13D, G12C, K117N, A59T, G12V, G13C, Q61H, G13S, A18V, D119N, G13N, A146T, A66T, G12A, A146V, G12N, o G12R; o K-, H- or N-Ras^{amp} y N-Ras Q61R, Q61K, G12D, Q61L, Q61H, G13R, G13D, G12S, G12C, G12V, G12A, G13V, G12R, P185S, G13C, A146T, G60E, Q61P, A59D, E132K, E49K, T50I, A146V, o A59T).

Se conocen en la técnica métodos para detectar mutaciones de Ras. Dichos medios incluyen, entre otros, la secuenciación directa y la utilización de un ensayo de diagnóstico de alta sensibilidad (con la marca CE-IVD), por ejemplo, como se describe en Domagala, et. al., Pol J Pathol, 3: 145-164 (2012), que se incorpora a la presente mediante referencia en su totalidad, que incluye TheraScreen PCR; AmoyDx; PNAClamp; RealQuality; EntroGen; LightMix; StripAssay; Hybcell plexA; Devyser; Surveyor; Cobas; y TheraScreen Pyro. Véase, también, por ejemplo, WO 2020/106640.

En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma broncopulmonar no microcítico y la mutación Ras comprende una mutación K-Ras, tal como K-Ras G12C, K-Ras G12V o K-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer colorrectal y la mutación de Ras comprende una mutación de K-Ras, tal como K-Ras G12C, K-Ras G12V o K-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer pancreático y la mutación de Ras comprende una mutación K-Ras, tal como K-Ras G12D o K-Ras G12V. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer pancreático y la mutación de Ras comprende una mutación de N-Ras, tal como N-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es melanoma y la mutación de Ras comprende una mutación de N-Ras, tal como N-Ras Q61R o N-Ras Q61K. En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma broncopulmonar no microcítico y la proteína Ras es K-Ras^{amp}. En cualquiera de los anteriores, si no se ha especificado ya, un compuesto también puede inhibir Ras^{WT} (por ejemplo, K-, H- o N-Ras^{WT}) o Ras^{amp} (por ejemplo, K-, H- o N-Ras^{amp}).

En algunas modalidades, un cáncer comprende una mutación de Ras y una mutación de STK11^{LOF}, KEAP1, EPHA5 o NF1. En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma broncopulmonar no microcítico y comprende una mutación de K-Ras G12C. En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma broncopulmonar no microcítico y comprende una mutación

de K-Ras G12C y una mutación de $STK11^{LOF}$. En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma broncopulmonar no microcítico y comprende una mutación de K-Ras G12C y una mutación de $STK11^{LOF}$. En algunas modalidades, un cáncer comprende una mutación de Ras K-Ras G13C y una mutación de $STK11^{LOF}$, KEAP1, EPHA5 o NF1. En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma broncopulmonar no microcítico y comprende una mutación de K-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma broncopulmonar no microcítico y comprende una mutación de K-Ras G12V. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer colorrectal y comprende una mutación de K-Ras G12C. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer pancreático y comprende una mutación de K-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer pancreático y comprende una mutación de K-Ras G12V. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de endometrio y comprende una mutación de K-Ras G12C. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer colorrectal o cáncer pancreático y comprende una mutación de K-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón o cáncer pancreático y comprende una mutación de K-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón y comprende una mutación de K-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer colorrectal y comprende una mutación de K-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer gástrico y comprende una mutación de K-Ras G12C. En cualquiera de los anteriores, un compuesto puede inhibir también Ras^{WT} (por ejemplo, K-, H- o N-Ras^{WT}) o Ras^{amp} (por ejemplo, K-, H- o N-Ras^{amp}).

También se proporciona un método para inhibir una proteína Ras en una célula, donde el método comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este. También se proporciona un método para inhibir la unión de RAF-Ras, donde el método comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este. La célula puede ser una célula cancerosa. La célula cancerosa puede ser de cualquier tipo de cáncer descrito en la presente. La célula puede encontrarse in vivo o in vitro.

Terapia de combinación

Los métodos de la invención pueden incluir un compuesto de la invención usado solo o en combinación con una o más terapias adicionales (p. ej., tratamientos no farmacológicos o agentes terapéuticos). Las dosificaciones de una o más de las terapias adicionales (por ejemplo, tratamientos no farmacológicos o agentes terapéuticos) pueden reducirse de las dosificaciones estándar cuando se administran solas. Por ejemplo, las dosis pueden determinarse empíricamente a partir de combinaciones y permutaciones de fármacos o pueden deducirse mediante análisis isobolográfico (p. ej., Black et al., *Neurology* 65:S3-S6 (2005)).

Un compuesto de la presente invención puede administrarse antes, después o simultáneamente con una o más terapias adicionales. Cuando se combinan, las dosificaciones

de un compuesto de la invención y las dosificaciones de una o más terapias adicionales (por ejemplo, tratamiento no farmacológico o agente terapéutico) proporcionan un efecto terapéutico (por ejemplo, efecto terapéutico sinérgico o aditivo). Un compuesto de la presente invención y una terapia adicional, tal como un agente anticanceroso, pueden administrarse juntos, tal como en una composición farmacéutica unitaria, o por separado y, cuando se administran por separado, esto puede ocurrir simultánea o secuencialmente. Dicha administración secuencial puede ser cercana o distante en el tiempo.

En algunas modalidades, la terapia adicional es la administración de agentes limitadores de efectos secundarios (p. ej., agentes destinados a disminuir la aparición o la gravedad de los efectos secundarios del tratamiento). Por ejemplo, en algunas modalidades, los compuestos de la presente invención también pueden usarse en combinación con un agente terapéutico que trata las náuseas. Los ejemplos de agentes que se pueden usar para tratar las náuseas incluyen: dronabinol, granisetrón, metoclopramida, ondansetrón y proclorperazina, o sales farmacéuticamente aceptables de estos.

En algunas modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen un tratamiento no farmacológico (por ejemplo, cirugía o radioterapia). En algunas modalidades, la una o más terapias adicionales incluyen un agente terapéutico (p. ej., un compuesto o producto biológico que es un agente antiangiogénico, un inhibidor de la transducción de señales, un agente antiproliferativo, un inhibidor de la glucólisis o un inhibidor de la autofagia). En algunas modalidades, la una o más terapias adicionales incluyen un tratamiento no farmacológico (por ejemplo, cirugía o radioterapia) y un agente terapéutico (por ejemplo, un compuesto o producto biológico que es un agente antiangiogénico, un inhibidor de la transducción de señales, un agente antiproliferativo, inhibidor de la glucólisis o inhibidor de la autofagia). En otras modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen dos agentes terapéuticos. En aun otras modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen tres agentes terapéuticos. En algunas modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen cuatro o más agentes terapéuticos.

En esta sección de Terapia de combinación, todas las referencias se incorporan mediante referencia para los agentes descritos, ya sea que se indiquen explícitamente como tales o no.

Terapias no farmacológicas

Los ejemplos de tratamientos no farmacológicos incluyen, entre otros, radioterapia, crioterapia, hipertermia, cirugía (p. ej., escisión quirúrgica de tejido tumoral) y terapia de transferencia adoptiva de linfocitos T (ACT).

En algunas modalidades, los compuestos de la invención pueden usarse como terapia adyuvante después de la cirugía. En algunas modalidades, los compuestos de la invención pueden usarse como terapia neoadyuvante antes de la cirugía.

La radioterapia se puede usar para inhibir el crecimiento celular anormal o tratar un trastorno hiperproliferativo, tal como cáncer, en un sujeto (por ejemplo, mamífero [por ejemplo,

humano]). Se conocen en la técnica técnicas para administrar radioterapia. La radioterapia se puede administrar a través de uno de varios métodos, o una combinación de métodos, que incluyen, entre otros, terapia con haz externo, radioterapia interna, radiación de implantes, radiocirugía estereotáctica, radioterapia sistémica y braquiterapia intersticial permanente o temporal. El término “braquiterapia intersticial”, como se usa en la presente, refiere a la radioterapia administrada mediante un material radiactivo espacialmente confinado insertado en el cuerpo en o cerca de un tumor o otro sitio de enfermedad de tejido proliferativo. El término pretende, entre otros, incluir la exposición a isótopos radiactivos (por ejemplo, At-211, I-131, I-125, Y-90, Re-186, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32, e isótopos radioactivos de Lu). Las fuentes de radiación adecuadas para su uso como un acondicionador de células de la presente invención incluyen tanto sólidos como líquidos. A modo de ejemplo no limitativo, la fuente de radiación puede ser un radionucleido, tal como I-125, I-131, Yb-169, Ir-192 como una fuente sólida, I-125 como una fuente sólida, u otros radionucleidos que emitan fotones, partículas beta, radiación gama u otros rayos terapéuticos. El material radiactivo también puede ser un fluido elaborado a partir de cualquier solución de radionucleidos, por ejemplo, una solución de I-125 o I-131, o se puede producir un fluido radiactivo usando una suspensión de un fluido adecuado que contenga pequeñas partículas de radionucleidos sólidos, tales como como Au-198 o Y-90. Además, los radionucleidos pueden estar incorporados en un gel de microesferas radiactivas.

En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención pueden hacer que las células anormales sean más sensibles al tratamiento con radiación con el fin de matar o inhibir el crecimiento de dichas células. Por consiguiente, esta invención se refiere además a un método para sensibilizar células anormales en un mamífero al tratamiento con radiación que comprende administrar al mamífero una cantidad de un compuesto de la presente invención, cuya cantidad es eficaz para sensibilizar células anormales al tratamiento con radiación. La cantidad del compuesto en este método se puede determinar de acuerdo con los medios para determinar cantidades eficaces de dicho compuesto como se describe en la presente. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención se pueden usar como terapia adyuvante después de la radioterapia o como terapia neoadyuvante antes de la radioterapia.

En algunas modalidades, el tratamiento no farmacológico es una terapia de transferencia adoptiva de linfocitos T (ACT). En algunas modalidades, el linfocito T es un linfocito T activado. El linfocito T puede modificarse para expresar un receptor de antígenos quiméricos (CAR). Los linfocitos T modificados con CAR (CAR-T) pueden generarse mediante cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, los linfocitos CAR-T pueden generarse mediante la introducción de un vector de expresión adecuado que codifica el CAR en un linfocito T. Antes de la expansión y modificación genética de las células T, se obtiene una fuente de células T de un sujeto. Se pueden obtener linfocitos T de diversas fuentes que incluyen, células mononucleares de sangre periférica, médula ósea, tejido de ganglios linfáticos, sangre de cordón umbilical, tejido del timo, tejido de un sitio de infección, ascitis, efusión pleural, tejido del bazo y tumores. En

algunas modalidades de la presente invención, se puede utilizar cualquier número de líneas de linfocitos T disponibles en la técnica. En algunas modalidades, el linfocito T es un linfocito T autólogo. Ya sea antes o después de la modificación genética de los linfocitos T para expresar una proteína deseada (por ejemplo, un CAR), los linfocitos T pueden activarse y expandirse generalmente mediante el uso de métodos tal como se describe, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 7,572,631; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; y 6,867,041.

Agentes terapéuticos

Un agente terapéutico puede ser un compuesto utilizado en el tratamiento del cáncer o los síntomas asociados a este.

Por ejemplo, un agente terapéutico puede ser un esteroide. Por consiguiente, en algunas modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen un esteroide. Los esteroides adecuados pueden incluir, entre otros, 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difuprednato, enoxolona, fluazacort, fiucloronido, flumetasona, flunisolida, acetónido de fluocinolona, fluocinonida, fluocortina butilo, fluocortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednideno, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortal, halcinonida, halobetasol propionato, halometasona, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, mazipredona, medrysona, meprednisona, metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbato, prednisolona, prednisolona 25-dietilaminoacetato, fosfato sódico de prednisolona, prednisona, prednival, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, acetónido de triamcinolona, benetónido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona y sales o derivados de estos.

Otros ejemplos de agentes terapéuticos que pueden usarse en terapia combinada con un compuesto de la presente invención incluyen compuestos descritos en las siguientes patentes: patentes de EE. UU. núm. 6,258,812, 6,630,500, 6,515,004, 6,713,485, 5,521,184, 5,770,599, 5,747,498, 5,990,141, 6,235,764, y 8,623,885 y solicitudes de patentes internacionales WO01/37820, WO01/32651, WO02/68406, WO02/66470, WO02/55501, WO04/05279, WO04/07481, WO04/07458, WO04/09784, WO02/59110, WO99/45009, WO00/59509, WO99/61422, WO00/12089, y WO00/02871.

Un agente terapéutico puede ser un agente biológico (por ejemplo, citocina (por ejemplo, interferón o una interleucina tal como IL-2)) que se usa en el tratamiento del cáncer o los síntomas asociados a este. En algunas modalidades, el compuesto biológico es un producto biológico a base de inmunoglobulina, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal (por ejemplo, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo completamente humano, una proteína de fusión Fc o un fragmento

funcional de esta) que agoniza una diana para estimular una respuesta contra el cáncer o antagoniza un antígeno importante para el cáncer. También se incluyen conjugados de anticuerpo y fármaco.

Un agente terapéutico puede ser un inhibidor del punto de control de células T. En una modalidad, el inhibidor del punto de control es un anticuerpo inhibidor (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico tal como un anticuerpo monoclonal). El anticuerpo puede ser, por ejemplo, humanizado o completamente humano. En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es una proteína de fusión, por ejemplo, una proteína de fusión al receptor de Fc. En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es un agente, como un anticuerpo, que interactúa con una proteína del punto de control. En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es un agente, como un anticuerpo, que interactúa con el ligando de una proteína del punto de control. En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es un inhibidor (por ejemplo, un anticuerpo inhibidor o inhibidor de molécula pequeña) de CTLA-4 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CTLA-4 o una proteína de fusión). En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es un inhibidor o antagonista (por ejemplo, un anticuerpo inhibidor o inhibidor de molécula pequeña) de PD-1. En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es un inhibidor o antagonista (p. ej., un anticuerpo inhibidor o inhibidor de molécula pequeña) de PD-L1. En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es un inhibidor o antagonista (p. ej., un anticuerpo inhibidor o inhibidor de molécula pequeña o de fusión a Fc) de PD-L2 (p. ej., una proteína de fusión a Ig/PD-L2). En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es un inhibidor o antagonista (p. ej., un anticuerpo inhibidor o inhibidor de molécula pequeña) de los ligandos de las familias B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK 1, CHK2, A2aR, B-7, o una combinación de estos. En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es pembrolizumab, nivolumab, PDR001 (NVS), REGN2810 (Sanofi/Regeneron), un anticuerpo PD-L1 tal como, por ejemplo, avelumab, durvalumab, atezolizumab, pidilizumab, JNJ-63723283 (JNJ), BGB-A317 (BeiGene & Celgene), o un inhibidor de punto de control descrito en Preusser, M. et al. (2015) Nat. Rev. Neurol., que incluyen, entre otros, ipilimumab, tremelimumab, nivolumab, pembrolizumab, AMP224, AMP514/ MEDI0680, BMS936559, MEDI4736, MPDL3280A, MSB0010718C, BMS986016, IMP321, lirilumab, IPH2101, 1-7F9, y KW-6002.

Un agente terapéutico puede ser un anticuerpo anti-TIGIT, como MBSA43, BMS-986207, MK-7684, COM902, AB154, MTIG7192A o OMP-313M32 (etigilimab).

Un agente terapéutico puede ser un agente que trata el cáncer o los síntomas asociados a este (por ejemplo, un agente citotóxico, moléculas pequeñas no peptídicas u otro compuesto útil en el tratamiento del cáncer o síntomas asociados a este, colectivamente, un “agente anticanceroso”). Los agentes anticancerosos puede ser, por ejemplo, quimioterapéuticos o agentes de terapia dirigida.

Los agentes anticancerosos incluyen inhibidores mitóticos, antibióticos intercalados,

inhibidores del factor de crecimiento, inhibidores del ciclo celular, enzimas, inhibidores de la topoisomerasa, modificadores de la respuesta biológica, agentes alquilantes, antimetabolitos, análogos del ácido fólico, análogos de la pirimidina, análogos de purina e inhibidores relacionados, alcaloides de vinca, epipodopilotoxinas, antibióticos, L-asparaginasa, inhibidores de la topoisomerasa, interferones, complejos de coordinación de platino, urea sustituida con antracenediona, derivados de metil hidrazina, supresores adrenocorticales, adrenocorticosteroides, progestinas, estrógenos, antiestrógenos, andrógenos, antiandrógenos y análogos de la hormona liberadora de gonadotropina. Otros agentes anticancerosos incluyen leucovorina (LV), irenotecán, oxaliplatino, capecitabina, paclitaxel y doxetaxel. En algunas modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen dos o más agentes anticancerosos. Los dos o más agentes anticancerosos se pueden usar en un cóctel para administrarse en combinación o por separado. Los regímenes de dosificación adecuados de la combinación de agentes anticancerosos se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Saltz et al., *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 18:233a (1999), y Douillard et al., *Lancet* 355(9209):1041-1047 (2000).

Otros ejemplos no limitantes de agentes anticancerosos incluyen Gleeveo® (Imatinib Mesilato); Kyprolis® (carfilzomib); Velcade® (bortezomib); Casodex (bicalutamida); Iressa® (gefitinib); agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida; alquilsulfonatos tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas tales como benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, incluidas altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilendiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); una camptotecina (incluido el análogo sintético topotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluidos sus análogos sintéticos de adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluidos los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; sarcodictina A; espongistatina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clornafazina, clorofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenetesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos como los antibióticos enediyne (p. ej., caliqueamicina, como caliqueamicina gammal y caliqueamicina omegall (véase, p. ej., *Agnew, Chem. Intl. Ed Engl.* 33:183-186 (1994)); dinamicina tal como dinamicina A; bisfosfonatos tales como clodronato; una esperamicina; cromóforo de neocarzinostatina y cromoproteína relacionada enediina cromóforos antibióticos, aclacinomysinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, caminomicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, adriamicina (doxorrubicina), morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina, desoxidoxorrubicina, epirrubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina,

mitomicinas como la mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamycina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracil (5-FU); análogos del ácido fólico tales como denopterina, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitiostanol, mepitiostano, testolactona; antiadrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reponedores de ácido fólico tales como ácido frolínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrino; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfomitina; acetato de eliptinio; una epotilona tal como epotilona B; etoglucido; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinano; lonidamina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazina; complejo de polisacárido PSK® (JHS, Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofirán; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2''-triclotrietilamina; tricotecenos tales como toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina; uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromán; gacitosina; arabinósido ("Ara-C") ; ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, Taxol® (paclitaxel), Abraxane® (formulación de paclitaxel en nanopartículas genomodificadas con albúmina y sin cremóforo), y Taxotere® (doxetaxel); clorambucilo; tamoxifeno (Nolvadex^{TM}); raloxifeno; aromatasa que inhibe 4(5)-imidazoles, 4-hidroxitamoxifeno; trioxifeno; ceoxifeno; LY 117018; onopristona; toremifeno (Farestone®); flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, goserelina, clorambucilo, Gemzar®, gemcitabina, 6-tioguanina; mercaptopurina; complejos de coordinación de platino tales como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; Navelbina® (vinorelbina); novatrona; teniposida; edatrexato; daunomicina; aminopterina; ibandronato; irinotecán (por ejemplo, CPT-11); inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; esperamicinas; capecitabina (por ejemplo, Xeloda®); y sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Ejemplos adicionales no limitantes de agentes anticancerosos incluyen trastuzumab (Herceptin®), bevacizumab (Avastin®), cetuximab (Erbitux®), rituximab (Rituxan®), Taxol®, Arimidex®, ABVD, avicina, abagovomab, acridina carboxamida, adecatumumab, 17-N-alilamino-17-desmetoxigelidanamicina, alfaradina, alvocidib, 3-aminopiridina-2-carboxaldehído tiosemicarbazona, amonafida, antracenediona, inmunotoxinas anti-CD22, antineoplásicos (p. ej., agentes antineoplásicos no específicos del ciclo celular y otros antineoplásicos descritos en la presente), hierbas antitumorales, apazicuona, atiprimod, azatioprina, belotecán, bendamustina, BIBW 2992, biricodar, brostallicina, briostatina, butionina sulfoximina, CBV (quimioterapia),

caliculina, ácido dicloroacético, discodermolida, elsamitrucina, enocitabina, eribulina, exatecan, exisulind, ferruginol, forodesina, fosfestrol, régimen de quimioterapia ICE, IT-101, imexon, imiquimod, indolocarbazol, irofulven, laniquidar, larotaxel, lenalidomida, lucantona, lurtotecán, mafosfamida, mitozolomida, nafoxidina, nedaplatino, olaparib, ortataxel, PAC-1, papaya, pixantrona, inhibidores del proteosoma, rebecamicina, resiquimod, rubitecán, SN-38, salinosporamida A, sapacitabina, Stanford V, swainsonina, talaporfina, tariquidar, tegafur-uracilo, temodar, tesetaxel, tetranitrato de triplatino, tris(2-cloroetil)amina, troxacitabina, uramustina, vadimezan, vinflunina, ZD6126 y zosuquidar.

Otros ejemplos no limitantes de agentes anticancerosos incluyen productos naturales tales como alcaloides de vinca (por ejemplo, vinblastina, vincristina y vinorelbina), epidipodofilotoxinas (por ejemplo, etopósido y tenipósido), antibióticos (p. ej., dactinomicina (actinomicina D), daunorrubicina e idarrubicina), antraciclinas, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina), mitomicina, enzimas (p. ej., L-asparaginasa que metaboliza sistémicamente la L-asparagina y priva a las células que no tienen la capacidad para sintetizar su propia asparagina), agentes antiplaquetarios, agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos como mostazas nitrogenadas (p. ej., mecloretamina, ciclofosfamida y análogos, melfalán y clorambucilo), etileniminas y metilmelaminas (p. ej., hexametilmelaamina y tiotepa), inhibidores de CDK (p. ej., un inhibidor de CDK4/6 como abemaciclib, ribociclib, palbociclib; seliciclib, UCN-01, P1446A-05, PD-0332991, dinaciclib, P27-00, AT -7519, RGB286638 y SCH727965), alquilsulfonatos (p. ej., busulfán), nitrosoureas (p. ej., carmustina (BCNU) y análogos, y estreptozocina), tracenos-dacarbazinina (DTIC), antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos como análogos del ácido fólico, pirimidina análogos (p. ej., fluorouracilo, floxuridina y citarabina), análogos de purina e inhibidores relacionados (p. ej., mercaptopurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodesoxiadenosina), inhibidores de la aromatasa (p. ej., anastrozol, exemestano y letrozol) y complejos de coordinación de platino (p. ej., cisplatino y carboplatino), procarbazina, hidroxiurea, mitotano, aminoglutetimida, inhibidores de la histona desacetilasa (HDAC) (por ejemplo, tricostatina, butirato de sodio, apicidan, ácido hidroámico suberoil anilida, vorinostat, LBH 589, romidepsina, ACY-1215 y panobinostat), inhibidores de mTOR (p. ej., vistusertib, temsirolimus, everolimus, ridaforolimus y sirolimus), inhibidores de KSP(Eg5) (p. ej., Array 520), agentes de unión al ADN (p. ej., Zalypsis®), inhibidores de PI3K como inhibidor de PI3K delta (por ejemplo, GS-1101 y TGR-1202), inhibidor de PI3K delta y gamma (por ejemplo, CAL-130), copanlisib, alpelisib e idelalisib; inhibidor de multicinasas (p. ej., TG02 y sorafenib), hormonas (p. ej., estrógeno) y agonistas hormonales como agonistas de la hormona liberadora de la hormona leutinizante (LHRH) (p. ej., goserelina, leuprolida y triptorelina), anticuerpo neutralizante de BAFF (p. ej., LY2127399), inhibidores de IKK, inhibidores de p38MAPK, anti-IL-6 (p. ej., CNT0328), inhibidores de la telomerasa (p. ej., GRN 163L), inhibidores de la aurora cinasa (p. ej., MLN8237), anticuerpos monoclonales de superficie celular (p. ej., anti-CD38 (HUMAX-CD38), anti-CSI (p.

ej., elotuzumab), inhibidores de HSP90 (p. ej., 17 AAG y KOS 953), inhibidores de P13K/Akt (p. ej., perifosina), inhibidores de Akt (p. ej., GSK-2141795), inhibidores de PKC (p. ej., enzastaurina), FTI (p. ej., Zarnestra™), anti-CD138 (p. ej., BT062), inhibidores de cinasa específicos de TorcI/2 (p. ej., INK128), agentes dirigidos a ER/UPR (p. ej., MKC-3946), inhibidores de cFMS (p. ej., ARRY-382) , inhibidores de JAK1/2 (p. ej., CYT387), inhibidores de PARP (p. ej., olaparib y veliparib (ABT-888)) y antagonistas de BCL-2.

En algunas modalidades, el agente anticanceroso se selecciona de mecloretamina, camptotecina, isofosfamida, tamoxifeno, raloxifeno, gemcitabina, Navelbine®, sorafenib, o cualquier análogo o variante derivada de los anteriores.

En algunas modalidades, el agente anticanceroso es un inhibidor de HER2. Los ejemplos no limitantes de inhibidores de HER2 incluyen anticuerpos monoclonales tales como trastuzumab (Herceptin®) y pertuzumab (Perjeta®); inhibidores de tirosina cinasa de molécula pequeña como gefitinib (Iressa®), erlotinib (Tarceva®), pilitinib, CP-654577, CP-724714, canertinib (CI 1033), HKI-272, lapatinib (GW-572016; Tykerb®), PKI-166, AEE788, BMS-599626, HKI-357, BIBW 2992, ARRY-334543, JNJ-26483327 y JNJ-26483327.

En algunas modalidades, un agente anticanceroso es un inhibidor de ALK. Ejemplos no limitantes de inhibidores de ALK incluyen ceritinib, TAE-684 (NVP-TAE694), PF02341066 (crizotinib o 1066), alectinib; brigatinib; entrectinib; ensartinib (X-396); lorlatinib; ASP3026; CEP-37440; 4SC-203; TL-398; PLB1003; TSR-011; CT-707; TPX-0005, y AP26113. Se describen ejemplos adicionales de inhibidores de ALK cinasa en los ejemplos 3-39 del documento WO05016894.

En algunas modalidades, un agente anticanceroso es un inhibidor de un miembro secuencia abajo de un receptor tirosina cinasa (RTK)/receptor del factor de crecimiento (p. ej., un inhibidor de SHP2 (p. ej., SHP099, TNO155, RMC-4550, RMC-4630, JAB-3068, JAB -3312, RLY-1971, ERAS-601, SH3809, PF-07284892 o BBP-398), un inhibidor de SOS1 (p. ej., BI-1701963, BI-3406, SDR5, MRTX0902, RMC-5845 o BAY-293), un inhibidor de Raf, un inhibidor de MEK, un inhibidor de ERK, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de PTEN, un inhibidor de AKT o un inhibidor de mTOR (p. ej., inhibidor de mTORC1 o inhibidor de mTORC2). En algunas modalidades, el agente anticanceroso es JAB-3312.

En algunas modalidades, un agente anticanceroso es un inhibidor de Ras adicional o una vacuna de Ras, u otra modalidad terapéutica diseñada para disminuir directa o indirectamente la actividad oncogénica de Ras. En algunas modalidades, un agente anticanceroso es un inhibidor de Ras adicional. En algunas modalidades, el inhibidor de Ras se dirige a Ras en su estado activo o unido a GTP (Ras(ON)). En algunas modalidades, el inhibidor de Ras(ON) es RMC-6291, RMC-6236, RMC-9805 o RMC-8839. En algunas modalidades, el inhibidor de Ras es un inhibidor de RAS(ON) descrito en los documentos WO 2021091956, WO 2021091967, WO 2021091982, WO 2022060836 o WO 2020132597, o una sal, solvato, isómero (por ejemplo, estereoisómero), profármaco o tautómero de este, incorporados a la presente en su totalidad

mediante referencia. En algunas modalidades, el inhibidor de Ras se dirige a Ras en su estado inactivo o unido a GDP. En algunas modalidades, el inhibidor de Ras es, tal como un inhibidor de K-Ras G12C, tal como AMG 510, MRTX1257, MRTX849, JNJ-74699157 (ARS-3248), LY3499446 o ARS-1620, ARS-853, BPI-421286, LY3537982, JDQ443, ERAS-3490 , JAB-21000, BPI-421286, D-1553, JAB-21822, GH-35, ICP-915, IBI351, RMC-6291 o GDC-6036. En algunas modalidades, el inhibidor de Ras es un inhibidor de K-Ras G12D, tal como ERAS-4, MRTX1133, RMC-9805 o JAB-22000. En algunas modalidades, el inhibidor de Ras es un inhibidor de K-Ras G12V, tal como JAB-23000. En algunas modalidades, el inhibidor de Ras es RMC-6236. Otros ejemplos de inhibidores de Ras que pueden combinarse con un inhibidor de Ras de la presente invención se proporcionan a continuación, incorporados a la presente en su totalidad mediante referencia: WO 2022087624, WO 2022087375, WO 2022087371, WO 2022083616, WO 2022083569, WO 2022081655, WO 2022078414, WO 2022076917, WO 2022072783, WO 2022066805, WO 2022066646, WO 2022063297, WO 2022061251, WO 2022056307, WO 2022052895, WO 2022047093, WO 2022042630, WO 2022040469, WO 2022037560, WO 2022031678, WO 2022028492, WO 2022028346, WO 2022026726, WO 2022026723, WO 2022015375, WO 2022002102, WO 2022002018, WO 2021259331, WO 2021257828, WO 2021252339, WO 2021248095, WO 2021248090, WO 2021248083, WO 2021248082, WO 2021248079, WO 2021248055, WO 2021245051, WO 2021244603, WO 2021239058, WO 2021231526, WO 2021228161, WO 2021219090, WO 2021219090, WO 2021219072, WO 2021218939, WO 2021217019, WO 2021216770, WO 2021215545, WO 2021215544, WO 2021211864, WO 2021190467, WO 2021185233, WO 2021180181, WO 2021175199, 2021173923, WO 2021169990, WO 2021169963, WO 2021168193, WO 2021158071, WO 2021155716, WO 2021152149, WO 2021150613, WO 2021147967, WO 2021147965, WO 2021143693, WO 2021142252, WO 2021141628, WO 2021139748, WO 2021139678, WO 2021129824, WO 2021129820, WO 2021127404, WO 2021126816, WO 2021126799, WO 2021124222, WO 2021121371, WO 2021121367, WO 2021121330, WO 2020050890, WO 2020047192, WO 2020035031, WO 2020028706, WO 2019241157, WO 2019232419, WO 2019217691, WO 2019217307, WO 2019215203, WO 2019213526, WO 2019213516, WO 2019155399, WO 2019150305, WO 2019110751, WO 2019099524, WO 2019051291, WO 2018218070, WO 2018217651, WO 2018218071, WO 2018218069, WO 2018206539, WO 2018143315, WO 2018140600, WO 2018140599, WO 2018140598, WO 2018140514, WO 2018140513, WO 2018140512, WO 2018119183, WO 2018112420, WO 2018068017, WO 2018064510, WO 2017201161, WO 2017172979, WO 2017100546, WO 2017087528, WO 2017058807, WO 2017058805, WO 2017058728, WO 2017058902, WO 2017058792, WO 2017058768, WO 2017058915, WO 2017015562, WO 2016168540, WO 2016164675, WO 2016049568, WO 2016049524, WO 2015054572, WO 2014152588, WO 2014143659, WO 2013155223, CN 114195804, CN 114195788, CN 114057776, CN 114057744, CN 114057743, CN 113999226, CN 113980032, CN 113980014, CN 113929676, CN 113754653, CN

113683616, CN 113563323, CN 113527299, CN 113527294, CN 113527293, CN 113493440, CN 113429405, CN 113248521, CN 113087700, CN 113024544, CN 113004269, CN 112920183, CN 112778284, CN 112390818, CN 112390788, CN 112300196, CN 112300194, CN 112300173, CN 112225734, CN 112142735, CN 112110918, CN 112094269, CN 112047937, y CN 109574871, o una sal solvato, isómero (p. ej., estereoisómero), profármaco o tautómero farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, un agente terapéutico que puede combinarse con un compuesto de la presente invención es un inhibidor de la vía de la cinasa MAP (MAPK) (o “nhibidor de MAPK”). Los inhibidores de MAPK incluyen, entre otros, uno o más inhibidores de MAPK descritos en Cancers (Basel) 2015 Sep; 7(3): 1758-1784. Por ejemplo, el inhibidor de MAPK se puede seleccionar de uno o más de trametinib, binimetinib, selumetinib, cobimetinib, LErafAON (NeoPharm), ISIS 5132; vemurafenib, pimasertib, TAK733, RO4987655 (CH4987655); CI-1040; PD-0325901; CH5126766; MAP855; AZD6244; refametinib (RDEA 119/BAY 86-9766); GDC-0973/XL581; AZD8330 (ARRY-424704/ARRY-704); RO5126766 (Roche, descrito en PLoS One. 25 de noviembre de 2014;9(11)); y GSK1120212 (o JTP-74057, descrito en Clin Cancer Res. 1 de marzo de 2011;17(5):989-1000). El inhibidor de MAPK puede ser PLX8394, LXH254, GDC-5573, o LY3009120.

En algunas modalidades, un agente anticanceroso es un interruptor o inhibidor de las vías de señalización de RAS-RAF-ERK o PI3K-AKT-TOR o PI3K-AKT. El inhibidor de PI3K/AKT puede incluir, entre otros, uno o más inhibidores de PI3K/AKT descritos en Cancers (Basilea) septiembre de 2015; 7(3): 1758-1784. Por ejemplo, los inhibidores PI3K/AKT pueden seleccionarse de uno o más de NVP-BEZ235; BGT226; XL765/SAR245409; SF1126; GDC-0980; PI-103; PF-04691502; PKI-587; GSK2126458.

En algunas modalidades, el agente anticanceroso es un antagonista de PD-1 o PD-L1.

En algunas modalidades, los agentes terapéuticos adicionales incluyen inhibidores de ALK, inhibidores de HER2, inhibidores de EGFR, inhibidores de IGF-1R, inhibidores de MEK, inhibidores de PI3K, inhibidores de AKT, inhibidores de TOR, inhibidores de MCL-1, inhibidores de BCL-2, inhibidores de SHP2, inhibidores de proteasomas, y terapias inmunitarias. En algunas modalidades, un agente terapéutico puede ser un inhibidor de pan-RTK, como afatinib.

Los inhibidores de IGF-1R incluyen linsitinib, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Los inhibidores de EGFR incluyen, entre otros, antagonistas de moléculas pequeñas, inhibidores de anticuerpos o ARNip o nucleótido antisentido específico. Los inhibidores de anticuerpos útiles de EGFR incluyen cetuximab (Erbitux®), panitumumab (Vectibix®), zalutumumab, nimotuzumab y matuzumab. Los inhibidores adicionales de EGFR basados en anticuerpos incluyen cualquier anticuerpo anti-EGFR o fragmento de anticuerpo que puede obstruir de forma parcial o total la activación de EGFR mediante su ligando natural. Los ejemplos no limitantes de inhibidores de EGFR basados en anticuerpos incluyen aquellos descritos en

Modjtahedi, et al., Br. J. Cancer 1993:67-247 (253); Teramoto et al., Cancer 1996:77-639 (645); Goldstein et al., Clin. Cancer Res. 1995, 1:1311-1318; Huang et ál., 1999, Cancer Res. 15:59(8):1935-40; y Yang et ál., Cancer Res.1999, 59:1236-1243. El inhibidor de EGFR puede ser el anticuerpo monoclonal Mab E7.6.3 (Yang, 1999 supra), o Mab C225 (Núm. de Acceso ATCC HB-8508), o un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tenga la especificidad de unión de este.

Los antagonistas de moléculas pequeñas de EGFR incluyen gefitinib (Iressa®), erlotinib (Tarceva®), y lapatinib (TykerB®). Véase, por ejemplo, Yan et al., Pharmacogenetics and Pharmacogenomics In Oncology Therapeutic Antibody Development, BioTechniques 2005, 39(4):565-8; y Paez et al., EGFR Mutations In Lung Cancer Correlation With Clinical Response To Gefitinib Therapy, Science 2004, 304(5676):1497-500. En algunas modalidades, un inhibidor de EGFR es osimertinib (Tagrisso®). Otros ejemplos no limitantes de inhibidores de EGFR de molécula pequeña incluyen cualquiera de los inhibidores de EGFR descritos en las siguientes publicaciones de patente y todas las sales farmacéuticamente aceptables de dichos inhibidores de EGFR: EP 0520722; EP 0566226; WO96/33980; patente estadounidense núm. 5,747,498; WO96/30347; EP 0787772; WO97/30034; WO97/30044; WO97/38994; WO97/49688; EP 837063; WO98/02434; WO97/38983; WO95/19774; WO95/19970; WO97/13771; WO98/02437; WO98/02438; WO97/32881 ; DE 19629652; WO98/33798; WO97/32880; WO97/32880; EP 682027; WO97/02266; WO97/27199; WO98/07726; WO97/34895; WO96/31510; WO98/14449; WO98/14450; WO98/14451 ; WO95/09847; WO97/19065; WO98/17662; U.S. Pat. núm. 5,789,427; patente de EE. UU. núm. 5,650,415; patente de EE. UU. núm. 5,656,643; WO99/35146; WO99/35132; WO99/07701; y WO92/20642. Los ejemplos no limitantes adicionales de inhibidores de EGFR de moléculas pequeñas incluyen cualquiera de los inhibidores de EGFR descritos en Traxler et al., Exp. Opin. Ther. Patents 1998, 8(12):1599-1625. En algunas modalidades, un inhibidor de EGFR es un inhibidor de ERBB. En humanos, la familia ERBB contiene HER1 (EGFR, ERBB1), HER2 (NEU, ERBB2), HER3 (ERBB3) y HER (ERBB4).

Los inhibidores de MEK incluyen, entre otros, pimasertib, selumetinib, cobimetinib (CoteIlic®), trametinib (Mekinist®) y binimetinib (Mektovi®). En algunas modalidades, un inhibidor de MEK se dirige a una mutación de MEK que es una mutación de MEK1 de Clase I seleccionada de D67N; P124L; P124S; y L177V. En algunas modalidades, la mutación de MEK es una mutación de MEK1 de Clase II seleccionada de ΔE51-Q58; ΔF53-Q58; E203K; L177M; C121S; F53L; K57E; Q56P; y K57N.

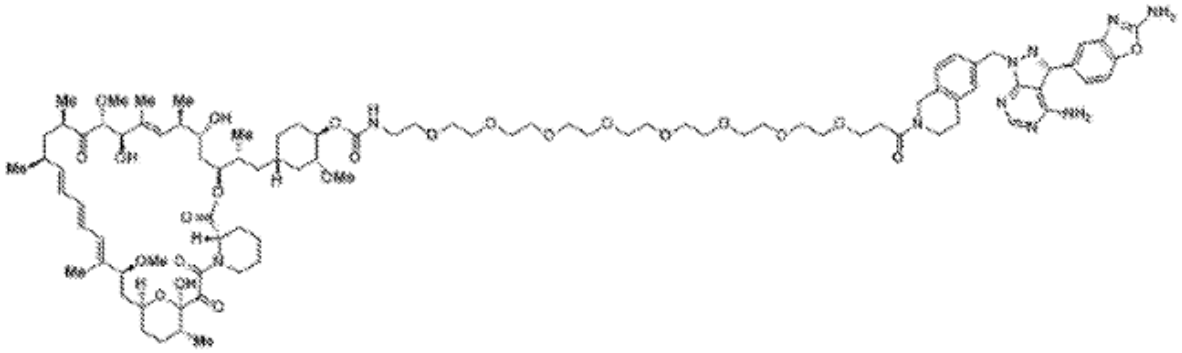
Los inhibidores de PI3K incluyen, entre otros, wortmanina; análogos de 17-hidroxiwortmanina descritos en el documento WO06/044453; 4-[2-(1H-IndazoI-4-il)-6-[[4-(metilIsuIfoniI)piperazin-1-iI]metil]tieno[3,2-d]pirimidin-4-iI]morfolina (también conocida como pictilisib o GDC-0941 y descrito en los documentos WO09/036082 y WO09/055730); 2-metil-2-[4-[3-metil-2-oxo-8-(quinoIin-3-il)-2,3-dihidroimidazo[4,5-c]quinoIin-1-il]fenil]propionitrilo (también conocido como BEZ 235 o NVP-BEZ 235, y descrito en el documento WO06/122806); (S)-I- (4-

((2-(2-aminopirimidin-5-il)-7-metil-4-morfolinotieno[3,2-d]pirimidin-6-il)metil)piperazin-1-il)-2-hidroxipropan-1-ona (descrita en el documento WO08/070740); LY294002 (2-(4-morfolinil)-8-fenil-4H-I-benzopiran-4-ona (disponible en Axon Medchem); clorhidrato de PI 103 clorhidrato de (3-[4-(4-morfolinilpirido-[3',2':4,5]furo[3,2-d]pirimidin-2-il]fenol (disponible en Axon Medchem); PIK 75 (2-metil-5-nitro-2-[(6-bromoimidazo[1,2-a]piridin-3-il)metilen]-1-metilhidrazida-ácido bencenosulfónico, monoclorhidrato) (disponible en Axon Medchem); PIK 90 (N-(7,8-dimetoxi-2,3-dihidro-imidazo[1,2-c]quinazolin-5-il)-nicotinamida (disponible en Axon Medchem); AS-252424 (5-[I-[5-(4-fluoro-2-hidroxifenil)-furan-2-il]-met-(Z)-iliden]-tiazolidin-2,4-diona (disponible en Axon Medchem); TGX-221 (7-metil-2-(4-morfolinil)-9-[1-(fenilamino)etil]-4H-pirido-[1,2-a]pirinidin-4-ona (disponible en Axon Medchem); XL-765; y XL-147. Otros inhibidores de PI3K incluyen demetoxiviridina, perifosina, CAL101, PX-866, BEZ235, SF1126, INK1117, IPI-145, BKM120, XL147, XL765, Palomid 529, GSK1059615, ZSTK474, PWT33597, IC87114, TGI 00-115, CAL263, PI-103, GNE-477, CUDC-907, y AEZS-136.

Los inhibidores de AKT incluyen, entre otros, Akt-1-1 (inhibe Aktl) (Barnett et al., Biochem. J. 2005, 385(Pt. 2): 399-408); Akt-1-1,2 (inhibe Akl y 2) (Barnett et al., Biochem. J. 2005, 385(Pt. 2):399-408); API-59CJ-Ome (p. ej., Jin et al., Br. J. Cancer 2004, 91:1808-12); compuestos de 1-H-imidazo[4,5-c]piridinilo (p. ej., WO 05/011700); indol-3-carbinol y sus derivados (p.ej., patente de EE. UU. núm. 6,656,963; Sarkar y Li J Nutr. 2004, 134(12 Supl):3493S-3498S); perifosina (p. ej., interfiere con la localización de membrana Akt; Dasmahapatra et al. Clin. Cancer Res. 2004, 10(15):5242-52); análogos lipídicos de éter de fosfatidilinositol (p. ej., Gills y Dennis Expert. Opin. Investig. Drugs 2004, 13:787-97); y triciribina (identificador TCN o API-2 o NCI: NSC 154020; Yang et ál., Cancer Res. 2004, 64:4394-9).

Los inhibidores de mTOR incluyen, entre otros, inhibidores de mTORC1/mTORC2 competitivos con ATP, por ejemplo, PI-103, PP242, PP30; Torín 1; potenciadores de FKBP12; derivados de 4H-1-benzopiran-4-ona; y rapamicina (también conocida como sirolimus) y derivados de esta, incluyendo: temsirolimus (Torisel®);everolimus (Afinitor®; WO94/09010); ridaforolimus (también conocido como deforolimus o AP23573); rapalogs, p. ej., como se describe en los documentos WO98/02441 y WO01/14387, p. ej., AP23464 y AP23841; 40-(2-hidroxietil)rapamicina; 40-[3-hidroxi(hidroximetil)metilpropanoato]-rapamicina (también conocida como CC1779); 40-epi-(tetrazolit)-rapamicina (también denominada ABT578); 32-desoxorapamicina; 16-pentiniloxi-32(S)-dihidrorapanicina; derivados divulgados en el documento WO05/005434; derivados divulgados en las patentes de EE. UU. núm. 5,258,389, 5,118,677, 5,118,678, 5,100,883, 5,151,413, 5,120,842, y 5,256,790, y en WO94/090101, WO92/05179, WO93/111130, WO94/02136, WO94/02485, WO95/14023, WO94/02136, WO95/16691, WO96/41807, WO96/41807, y WO2018204416; y derivados de rapamicina que contienen fósforo (p. ej., WO05/016252). En algunas modalidades, el inhibidor de mTOR es un inhibidor bistérico (véase, por ejemplo, WO2018204416, WO2019212990 y WO2019212991), como RMC-5552,

que tiene la estructura



Los inhibores de BRAF que se pueden utilizar en combinación con compuestos de la invención incluyen, por ejemplo, vemurafenib, dabrafenib y encorafenib. Un BRAF puede comprender una mutación de BRAF de Clase 3. En algunas modalidades, la mutación de BRAF de Clase 3 se selecciona de una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos en BRAF humano: D287H; P367R; V459L; G466V; G466E; G466A; S467L; G469E; N581S; N581I; D594N; D594G; D594A; D594H; F595L; G596D; G596R; y A762E.

Los inhibidores de MCL-1 incluyen, entre otros, AMG-176, MIK665 y S63845. La proteína de la leucemia de células mieloides-1 (MCL-1) es uno de los miembros antiapoptóticos clave de la familia de proteínas del linfoma de células B-2 (BCL-2). La sobreexpresión de MCL-1 se ha relacionado estrechamente con la progresión tumoral y con la resistencia, no solo a las quimioterapias tradicionales sino también a terapias dirigidas, incluidos los inhibidores de BCL-2 como ABT-263.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un inhibidor de SHP2. SHP2 es una proteína tirosina fosfatasa no receptora codificada por el gen PTPN11 que contribuye a múltiples funciones celulares que incluyen proliferación, diferenciación, mantenimiento de los ciclos celulares y migración. SHP2 tiene dos dominios de homología Src 2 de extremo N (N-SH2 y C-SH2), un dominio catalítico (PTP) y una cola de extremo C. Los dos dominios SH2 controlan la localización subcelular y la regulación funcional de SHP2. La molécula existe en una conformación inactiva y autoinhibida estabilizada por una red de unión que involucra residuos de los dominios N-SH2 y PTP. La estimulación mediante, por ejemplo, citocinas o factores de crecimiento que actúan a través de receptores tirosina quinasas (RTK) conduce a la exposición del sitio catalítico, lo que da como resultado la activación enzimática de SHP2.

SHP2 participa en la señalización a través de las vías de la proteína quinasa activada por mitógenos RAS (MAPK), JAK-STAT o fosfoinositol 3-quinasa-AKT. Se han identificado mutaciones en el gen PTPN11 y posteriormente en SHP2 en varias enfermedades del desarrollo humano, como el síndrome de Noonan y el síndrome del leopardo, así como en cánceres humanos, como la leucemia mielomonocítica juvenil, el neuroblastoma, el melanoma, la leucemia mieloide aguda y el cáncer de mama, pulmón y colon. Algunas de estas mutaciones

desestabilizan la conformación autoinhibida de SHP2 y promueven la autoactivación o la activación mejorada de SHP2 impulsada por el factor de crecimiento. SHP2, por tanto, representa un objetivo muy atractivo para el desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento de diversas enfermedades, incluido el cáncer. Se ha demostrado que un inhibidor de SHP2 (p. ej., RMC-4550 o SHP099) en combinación con un inhibidor de la vía RAS (p. ej., un inhibidor de MEK) inhibe la proliferación de células cancerosas múltiples in vitro (p. ej., páncreas, pulmón, ovario y cáncer de mama). Por lo tanto, la terapia combinada que involucra un inhibidor de SHP2 con un inhibidor de la vía RAS podría ser una estrategia general para prevenir la resistencia tumoral en una amplia gama de neoplasias malignas.

Los ejemplos no limitantes de dichos inhibidores de SHP2 que se conocen en la técnica incluyen los que se encuentran en las siguientes publicaciones: Chen *et al. Mol Pharmacol.* 2006, *70,* 562; Sarver *et at., J. Med. Chem.* 2017, 62, 1793; Xie *et at., J. Med. Chem.* 2017, 60, 113734; e Igbe *et at., Oncotarget,* 2017, 8, 113734; y solicitudes de patentes: WO 2022063190, WO 2022043685, WO 2022042331 , WO 2022033430, WO 2022033430, WO 2022017444, WO 2022007869, WO 2021259077, WO 2021249449, WO 2021249057, WO 2021244659, WO 2021218755, WO 2021281752, WO 2021197542, WO 2021176072, WO 2021149817, WO 2021148010, WO 2021147879, WO 2021143823, WO 2021143701 , WO 2021143680, WO 2021121397, WO 2021119525, WO 2021115286, WO 2021110796, WO 2021088945, WO 2021073439, WO 2021061706, WO 2021061515, WO 2021043077, WO 2021033153, WO 2021028362, WO 2021033153, WO 2021028362, WO 2021018287, WO 2020259679, WO 2020249079, WO 2020210384, WO 2020201991, WO 2020181283, WO 2020177653, WO 2020165734, WO 2020165733, WO 2020165732, WO 2020156243, WO 2020156242, WO 2020108590, WO 2020104635, WO 2020094104, WO 2020094018, WO 2020081848, WO 2020073949, WO 2020073945, WO 2020072656, WO 2020065453, WO 2020065452, WO 2020063760, WO 2020061103, WO 2020061101, WO 2020033828, WO 2020033286, WO 2020022323, WO 2019233810, WO 2019213318, WO 2019183367, WO 2019183364, WO 2019182960, WO 2019167000, WO 2019165073, WO 2019158019, WO 2019152454, WO 2019051469, WO 2019051084, WO 2018218133, WO 2018172984, WO 2018160731, WO 2018136265, WO 2018136264, WO 2018130928, WO 2018129402, WO 2018081091, WO 2018057884, WO 2018013597, WO 2017216706, WO 2017211303, WO 2017210134, WO 2017156397, WO 2017100279, WO 2017079723, WO 2017078499, WO 2016203406, WO 2016203405, WO 2016203404, WO 2016196591, WO 2016191328, WO 2015107495, WO 2015107494, WO 2015107493, WO 2014176488, WO 2014113584, US 20210085677, US 10858359, US 10934302, US 10954243, US 10988466, US 11001561, US 11033547, US 11034705, US 11044675, CN 114213417, CN 114163457, CN 113896710, CN 113248521, CN 113248449, CN 113135924, CN 113024508, CN 112920131, CN 112823796, CN 112402385, CN 111848599, CN 111704611, CN 111265529, y CN 108113848, o una sal, solvato, isómero (por ejemplo, estereoisómero), profármaco o tautómero farmacéuticamente aceptable de este,

cada uno de los cuales se incorpora a la presente mediante referencia.

En algunas modalidades, un inhibidor de SHP2 se une al sitio activo. En algunas modalidades, un inhibidor de SHP2 es un inhibidor irreversible de tipo mixto. En algunas modalidades, un inhibidor de SHP2 se une a un sitio alostérico, por ejemplo, un inhibidor alostérico no covalente. En algunas modalidades, un inhibidor de SHP2 es un inhibidor de SHP2 covalente, como un inhibidor que se dirige al residuo de cisteína (C333) que se encuentra fuera del sitio activo de la fosfatasa. En algunas modalidades, un inhibidor de SHP2 es un inhibidor reversible. En algunas modalidades, un inhibidor de SHP2 es un inhibidor irreversible. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es SHP099. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es TNO155. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es un inhibidor de RMC-4550. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es RMC-4630. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es JAB-3068. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es un inhibidor de JAB-3312. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es un inhibidor de RLY-1971. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es un inhibidor de ERAS-601. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es un inhibidor de BBP-398.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de MEK, un inhibidor de HER2, un inhibidor de SHP2, un inhibidor de CDK4/6, un inhibidor de mTOR, un inhibidor de SOS1 y un inhibidor de PD-L1. En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de MEK, un inhibidor de SHP2 y un inhibidor de PD-L1. Véase, p. ej., Hallin et al., Cancer Discovery, DOI: 10.1158/2159-8290 (October 28, 2019) y Canon et al., Nature, 575:217 (2019). En algunas modalidades, un inhibidor de Ras de la presente invención se usa en combinación con un inhibidor de MEK y un inhibidor de SOS1. En algunas modalidades, un inhibidor de Ras de la presente invención se usa en combinación con un inhibidor de PD-L1 y un inhibidor de SOS1. En algunas modalidades, un inhibidor de Ras de la presente invención se usa en combinación con un inhibidor de PD-L1 y un inhibidor de SHP2. En algunas modalidades, un inhibidor de Ras de la presente invención se usa en combinación con un inhibidor de MEK y un inhibidor de SHP2. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer colorrectal y el tratamiento comprende la administración de un inhibidor de Ras de la presente invención en combinación con un segundo o tercer agente terapéutico.

Los inhibidores del proteasoma incluyen, entre otros, carfilzomib (Kyprolis®), bortezomib (Velcade®) y oprozomib.

Las terapias inmunitarias incluyen, entre otros, anticuerpos monoclonales, imidas inmunomoduladoras (IMiD), agonistas de GITR, linfocitos T genéticamente modificados (por ejemplo, linfocitos CAR-T), anticuerpos biespecíficos (por ejemplo, BiTE), y agentes anti-PD-1, anti-PD-1, anti-CTLA4, anti-LAGl, y anti-OX40).

Los agentes inmunomoduladores (IMiD) son una clase de fármacos inmunomoduladores (fármacos que ajustan las respuestas inmunitarias) que contienen un grupo imida. La clase de

IMiD incluye talidomida y sus análogos (lenalidomida, pomalidomida y apremilast).

Los ejemplos de anticuerpos anti-PD-1 y los métodos para su uso se describen en Goldberg et ál., Blood 2007, 110(1):186-192; Thompson et ál., Clin. Cancer Res. 2007, 13(6):1757-1761; y WO06/121168 A1), así como también se describe en otra parte del presente documento.

Los agonistas de GITR incluyen, entre otros, proteínas de fusión de GITR y anticuerpos anti-GITR (por ejemplo, anticuerpos anti-GITR bivalentes), tales como una proteína de fusión de GITR descrita en la patente de EE. UU. núm. 6,111,090, patentes de EE. UU. núm. 8,586,023, WO2010/003118 y WO2011/090754; o un anticuerpo anti-GITR descrito, p. ej., en la patente de EE. UU. núm. 7,025,962, EP 1947183, Pat. EE. UU. núm. 7,812,135, la patente de EE. UU. núm. 8,388,967, la patente de EE. UU. núm. 8,591,886, la patente de EE. UU. núm. 7,618,632, EP 1866339, y WO2011/028683, WO2013/039954, WO05/007190, WO07/133822, WO05/055808, WO99/40196, WO01/03720, WO99/20758, WO06/083289, WO05/115451, y WO2011/051726.

Otro ejemplo de agente terapéutico que puede utilizarse en combinación con los compuestos de la invención es un agente antiangiogénico. Los agentes antiangiogénicos incluyen, entre otros, composiciones químicas preparadas sintéticamente in vitro, anticuerpos, regiones de unión a antígeno, radionúclidos y combinaciones y conjugados de estos. Un agente antiangiogénico puede ser un agonista, antagonista, modulador alostérico, toxina o, más generalmente, puede actuar para inhibir o estimular su diana (por ejemplo, activación o inhibición de receptor o enzima), y promover de ese modo la muerte celular o la interrupción del crecimiento celular. En algunas modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen un agente antiangiogénico.

Los agentes antiangiogénicos pueden ser inhibidores de MMP-2 (metaloproteinasa de la matriz 2), inhibidores de MMP-9 (metaloproteinasa de la matriz 9) e inhibidores de COX-II (ciclooxigenasa 11). Los ejemplos no limitantes de agentes antiangiogénicos incluyen rapamicina, temsirolimus (CCI-779), everolimus (RAD001), sorafenib, sunitinib y bevacizumab. Los ejemplos de inhibidores de COX-II útiles incluyen alecoxib, valdecoxib, y rofecoxib. Ejemplos de inhibidores de metaloproteinasas de matriz útiles se describen en los documentos WO96/33172, WO96/27583, WO98/07697, WO98/03516, WO98/34918, WO98/34915, WO98/33768, WO98/30566, WO90/05719, WO99/52910, WO99/52889, WO99/29667, WO99007675, EP0606046, EP0780386, EP1786785, EP1181017, EP0818442, EP1004578, y US20090012085, y patente de EE.UU. núm 5,863,949 y 5,861,510. Los inhibidores de MMP-2 y MMP-9 preferidos son aquellos con poca actividad de inhibición de MMP-1 o sin esta. Son más preferidos los que inhiben selectivamente MMP-2 o AMP-9 con respecto a las otras metaloproteinasas de la matriz (es decir, MAP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP- 7, MMP- 8, MMP-10, MMP-11, MMP-12, y MMP-13). Algunos ejemplos específicos de inhibidores de MMP son AG-3340, RO 32-3555 y RS 13-0830.

Otros agentes antiangiogénicos ejemplares incluyen agentes inhibidores de KDR

(receptor del dominio cinasa) (por ejemplo, anticuerpos y regiones de unión a antígeno que se unen específicamente al receptor del dominio cinasa), agentes anti-VEGF (por ejemplo, anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a VEGF (por ejemplo, bevacizumab), o receptores de VEGF solubles o una región de unión a ligando de estos) tales como VEGF-TRAP™ y agentes anti-receptor VEGF (por ejemplo, anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a estos), agentes inhibidores EGFR (por ejemplo, anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a estos) como Vectibix® (panitumumab), erlotinib (Tarceva®), agentes anti-Angl y anti-Ang2 (por ejemplo, anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a estos o a sus receptores, por ejemplo, Tie2/Tek), y agentes inhibidores de la cinasa anti-Tie2 (por ejemplo, anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a estos). Otros agentes antiangiogénicos incluyen Campath, IL-8, B-FGF, antagonistas de Tek (US2003/0162712; US6,413,932), agentes anti-TWEAK (por ejemplo, anticuerpos que se unen específicamente o regiones de unión a antígeno, o antagonistas solubles del receptor TWEAK; véase US 6,727,225), dominio de distintegrina ADAM para antagonizar la unión de la integrina a sus ligandos (US 2002/0042368), uniendo específicamente anticuerpos anti-receptor eph o anti-efrina o regiones de unión a antígeno (Patentes de EE.UU. núm. 5,981,245; 5,728,813; 5,969,110; 6,596,852;6,232,447; 6,057,124 y miembros de la familia de patentes de estos), y antagonistas anti-PDGF-BB (por ejemplo, anticuerpos que se unen específicamente o regiones de unión a antígeno) así como anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a ligandos de PDGF-BB, y agentes inhibidores de la cinasa PDGFR (por ejemplo, anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a estos). Los agentes antiangiogénicos adicionales incluyen: SD-7784 (Pfizer, EE. UU.); cilengitida (Merck KGaA, Alemania, EPO 0770622); pegaptanib octasodium, (Gilead Sciences, EE. UU.); Alphastatin, (BioActa, Reino Unido); M-PGA, (Celgene, EE. UU, US 5712291); ilomastat, (Arriva, EE. UU., US5892112); emaxanib, (Pfizer, EE. UU., US 5792783); vatalanib, (Novartis, Suiza); 2-metoxiestradiol (EntreMed, EE. UU.); TLC ELL-12 (Elan, Irlanda); acetato de anecortave (Alcon, EE. UU.); Mab alfa-D148 (Amgen, EE. UU.); CEP-7055 (Cephalon, EE. UU.); anti-Vn Mab (Crucell, Países Bajos), DACantiangiogenic (ConjuChem, Canadá); Angiocidina (InKine Pharmaceutical, EE. UU.); KM-2550 (Kyowa Hakko, Japón); SU-0879 (Pfizer, EE. UU); CGP-79787 (Novartis, Suiza, EP 0970070); tecnología ARGENT (Ariad, EE. UU.); YIGSR-Stealth (Johnson & Johnson, EE. UU.); fragmento de fibrinógeno-E (BioActa, Reino Unido); inhibidor angiogénico (Trigen, Reino Unido); TBC-1635 (Encysive Pharmaceuticals, EE. UU.); SC-236 (Pfizer, EE. UU.); ABT-567 (Abbott, EE. UU.); Metastatina (EntreMed, EE. UU.); maspin (Sosei, Japón); 2-metoxiestradiol (Oncology Sciences Corporation, EE. UU.); ER-68203-00 (IV AX, EE. UU.); BeneFin (Lane Labs, EE. UU.); Tz-93 (Tsumura, Japón); TAN-1120 (Takeda, Japón); FR-111142 (Fujisawa, Japón, JP 02233610); factor plaquetario 4 (RepliGen, EE. UU., EP 407122); antagonista del factor de crecimiento endotelial vascular (Borean, Dinamarca); bevacizumab

(pINN) (Genentech, EE. UU.); inhibidores angiogénicos (SUGEN, EE. UU.); XL 784 (Exelixis, EE.UU.); XL 647 (Exelixis, EE.UU.); MAb, integrina alfa5beta3, segunda generación (Applied Molecular Evolution, EE. UU. y Medlmmune, EE. UU.); clorhidrato de enzastaurina (Lilly, EE.UU.); CEP 7055 (Cephalon, EE. UU. y Sanofi-Synthelabo, Francia); BC 1 (Instituto de Investigación del Cáncer de Génova, Italia); rBPI 21 y antiangiogénico derivado de BPI (XOMA, EE. UU.); PI 88 (Progen, Australia); cilengitida (Merck KGaA, Alemania; Universidad Técnica de Munich, Alemania, Clínica y Fundación de Investigación Scripps, EE. UU.); AVE 8062 (Ajinomoto, Japón); AS 1404 (Laboratorio de Investigación del Cáncer, Nueva Zelanda); SG 292, (Telios, EE. UU.); Endostatina (Hospital Infantil de Boston, EE. UU.); ATN 161 (Attenuon, EE. UU.); 2-metoxiestradiol (Boston Childrens Hospital, EE. UU.); ZD 6474, (AstraZeneca, Reino Unido); ZD 6126, (Angiogene Pharmaceuticals, Reino Unido); PPI 2458, (Praecis, EE. UU.); AZD 9935, (AstraZeneca, Reino Unido); AZD 2171, (AstraZeneca, Reino Unido); vatalanib (pINN), (Novartis, Suiza y Schering AG, Alemania); inhibidores de la vía del factor tisular (EntreMed, EE. UU.); pegaptanib (Pinn), (Gilead Sciences, EE. UU.); xantorrizol, (Universidad de Yonsei, Corea del Sur); vacuna basada en genes VEGF-2 (Scripps Clinic and Research Foundation, EE. UU.); SPV5.2, (Supratek, Canadá); SDX 103, (Universidad de California en San Diego, EE. UU.); PX 478, (ProIX, EE. UU.); METASTATINA, (EntreMed, EE. UU.); troponina I, (Universidad de Harvard, EE. UU.); SU 6668, (SUGEN, EE. UU.); OXI 4503, (OXiGENE, EE. UU.); o-guanidinas, (Dimensional Pharmaceuticals, EE. UU.); motuporamina C, (Universidad de Columbia Británica, Canadá); CDP 791, (Celltech Group, Reino Unido); atiprimod (pINN), (GlaxoSmithKline, Reino Unido); E 7820, (Eisai, Japón); CYC 381, (Universidad de Harvard, EE. UU.); AE 941, (Aeterna, Canadá); vacuna , angiogénico, (EntreMed, EE. UU.); inhibidor del activador del plasminógeno uroquinasa, (Dendreon, EE. UU.); oglufanida (pINN), (Melmotte, EE. UU.); inhibidores de HIF-Ialfa, (Xenova, Reino Unido); CEP 5214, (Cephalon, EE. UU.); BAY RES 2622, (Bayer, Alemania); Angiocidina, (InKine, EE. UU.); A6, (Angstrom, EE. UU.); KR 31372, (Instituto de Investigación de Tecnología Química de Corea, Corea del Sur); GW 2286, (GlaxoSmithKline, Reino Unido); EHT 0101, (ExonHit, Francia); CP 868596, (Pfizer, EE. UU.); CP 564959, (OSI, EE. UU.); CP 547632, (Pfizer, EE. UU.); 786034, (GlaxoSmithKline, Reino Unido); KRN 633, (Kirin Brewery, Japón); sistema de administración de fármacos, intraocular, 2-metoxiestradiol; anginex (Universidad de Maastricht, Países Bajos y Universidad de Minnesota, EE. UU.); ABT 510 (Abbott, EE. UU.); AL 993 (Novartis, Suiza); VEGI (ProteomTech, EE. UU.); inhibidores del factor de necrosis tumoral alfa; SU 11248 (Pfizer, EE. UU. y SUGEN EE. UU.); ABT 518, (Abbott, EE. UU.); YH16 (Yantai Rongchang, China); S-3APG (Boston Childrens Hospital, EE. UU. y EntreMed, EE. UU.); MAb, KDR (ImClone Systems, EE. UU.); MAb, alfa5 beta (Protein Design, EE. UU.); inhibidor de la quinasa KDR (Celltech Group, Reino Unido y Johnson & Johnson, EE. UU.); GFB 116 (Universidad del Sur de Florida, EE. UU. y Universidad de Yale, EE. UU.); CS 706 (Sankyo, Japón); profármaco combretastatina A4 (Universidad Estatal de Arizona, EE.UU.); condroitinasa AC (IBEX, Canadá); BAY RES 2690 (Bayer, Alemania); AGM 1470 (Universidad

de Harvard, EE. UU., Takeda, Japón y TAP, EE. UU.); AG 13925 (Agouron, EE.UU.); tetratiomolibdato (Universidad de Michigan, EE.UU.); GCS 100 (Universidad Estatal Wayne, EE. UU.) CV 247 (Ivy Medical, Reino Unido); CKD 732 (Chong Kun Dang, Corea del Sur); irsogladina, (Nippon Shinyaku, Japón); RG 13577 (Aventis, Francia); WX 360 (Wilex, Alemania); escualamina, (Genaera, EE.UU.); RPI 4610 (Sirna, EE. UU.); inhibidores de heparanasa (InSight, Israel); KL 3106 (Kolon, Corea del Sur); Honokiol (Universidad Emory, EE.UU.); ZK CDK (Schering AG, Alemania); ZK Angio (Schering AG, Alemania); ZK 229561 (Novartis, Suiza y Schering AG, Alemania); XMP 300 (XOMA, EE. UU.); VGA 1102 (Taisho, Japón); VE-antagonistas de cadherina-2 (ImCIone Systems, EE. UU.); Vasostatina (Institutos Nacionales de Salud, EE. UU.); FIk-1 (ImClone Systems, EE. UU.); TZ 93 (Tsumura, Japón); TumStatin (Hospital Beth Israel, EE. UU.); FLT 1 soluble truncado (receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular) (Merck & Co, EE. UU.); ligandos Tie-2 (Regeneron, EE. UU.); e inhibidor de la trombospondina 1 (Fundación de Investigación, Educación y Salud de Allegheny, EE. UU.).

Otros ejemplos de agentes terapéuticos que pueden usarse en combinación con compuestos de la invención incluyen agentes (por ejemplo, anticuerpos, regiones de unión a antígenos o receptores solubles) que se unen específicamente e inhiben la actividad de factores de crecimiento, tales como antagonistas del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF, también conocido como factor de dispersión), y anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a su receptor, c-Met.

Otro ejemplo de un agente terapéutico que puede usarse en combinación con compuestos de la invención es un inhibidor de la autofagia. Los inhibidores de la autofagia incluyen, entre otros, cloroquina, 3-metiladenina, hidroxicloroquina (Plaquenil™), bafilomicina A1, ribósido de carboxamida 5-amino-4-imidazol (AICAR), ácido okadaico, toxinas de algas supresoras de la autofagia que inhiben las proteínas fosfatasas de tipo 2A o tipo 1, análogos de cAMP y fármacos que elevan los niveles de cAMP como adenosina, LY204002, ribósido de N6-mercaptopurina y vinblastina. Además, es posible utilizar ARNip o antisentido que inhibe la expresión de proteínas que incluyen, entre otros, ATG5 (las que están involucradas en la autofagia). En algunas modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen un inhibidor de la autofagia.

Otro ejemplo de un agente terapéutico que puede usarse en combinación con compuestos de la invención es un agente antineoplásico. En algunas modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen un agente antineoplásico. Los ejemplos no limitantes de agentes antineoplásicos incluyen acemanano, aclarubicina, aldesleucina, alemtuzumab, alitretinoína, altretamina, amifostina, ácido aminolevulínico, amrubicina, amsacrina, anagrelida, anastrozol, ancer, ancestim, arglabina, trióxido de arsénico, BAM-002 (Novelos), bexaroteno, bicalutamida, broxuridina, capecitabina, celmoleukin, cetrorelix, cladribina, clotrimazol, ocfosfato de citarabina, DA 3030 (Dong-A), daclizumab, denileucina diftitox, deslorelina, dexrazoxano, dilazep, docetaxel, docosanol, doxercalciferol, doxifluridina, doxorrubicina, bromocriptina,

carmustina, citarabina, fluorouracilo, HIT diclofenaco, interferón alfa, daunorrubicina, doxorrubicina, tretinoína, edelfosina, edrecolomab, eflornitina, emitefur, epirrubicina, epoetina beta, fosfato de etopósido, exemestano, exisulind, fadrozol, filgrastim, finasterida, fosfato de fludarabina, formestano, fotemustina, nitrato de galio, gemcitabina, gemtuzumab zogamicina, combinación de gimeracilo/oteracil/tegafur, glicopina, goserelina, heptaplatino, gonadotropina coriónica humana, alfa fetoproteína fetal humana, ácido ibandrónico, idarrubicina, (imiquimod, interferón alfa, interferón alfa natural, interferón alfa-2, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, interferón alfa-N1, interferón alfa-n3, interferón alfacon-1, interferón alfa natural, interferón beta, interferón beta-la, interferón beta-lb, interferón gamma, interferón natural gamma-la, interferón gamma-lb, interleucina-1 beta, iobenguano, irinotecán, irsogladina, lanreotida, LC 9018 (Yakult), leflunomida, lenograstim, sulfato de lentinano, letrozol, interferón alfa leucocitario, leuprorelina, levamisol + fluorouracilo, liarozol, lobaplatino, lonidamina, lovastatina, masoprocol, melarsoprol, metoclopramida, mifepristona, miltefosina, mirimostim, ARN bicatenario no coincidente, mitoguazona, mitolactol, mitoxantrona, molgramostim, nafarelina, naloxona + pentazocina, nartograstim, nedaplatino, nilutamida, noscapina, nueva proteína estimulante de la eritropoyesis, NSC 631570 octreotida, oprelvekin, osaterona, oxaliplatino, paclitaxel, ácido pamidrónico, pegaspargasa, peginterferón alfa-2b, pentosano polisulfato de sodio, pentostatina, picibanil, pirarubicina, anticuerpo policlonal antitimocitos de conejo, polietilenglicol interferón alfa-2a, porfímero sódico, raloxifeno, raltitrexed, rasburiembodiment, etidronato de renio Re 186, retinamida RII, rituximab, romurtida, samario (153 Sm) lexidronam, sargramostim, sizofiran, sobuzoxano, sonermina, cloruro de estroncio-89, suramina, tasonermina, tazaroteno, tegafur, temoporfina, temozolomida, tenipósido, tetraclorodecaóxido, talidomida, timalfasina, tirotropina alfa, topotecán, toremifeno, tositumomabiodo 131, trastuzumab, treosulfán, tretinoína, trilostano, trimetrexato, triptorelina, factor de necrosis tumoral alfa, natural, ubenimex, vacuna contra el cáncer de vejiga, vacuna Maruyama, vacuna lisada de melanoma, valrubicina, verteporfina, vinorelbina, virulizina, estimalámero de zinostatina o ácido zoledrónico; abarélix; AE 941 (Aeterna), ambamustina, oligonucleótido antisentido, bcl-2 (Genta), APC 8015 (Dendreon), decitabina, dexaminoglutetimida, diaziquona, EL 532 (Elan), EM 800 (Endorecherche), eniluracilo, etanidazol, fenretinida, filgrastim SD01 (Amgen), fulvestrant, galocitabina, inmunógeno gastrina 17, terapia génica HLA-B7 (Vical), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, diclorhidrato de histamina, ibritumomab tiuxetan, ilomastat, IM 862 (Cytran), interleucina-2, iproxifeno, LDI 200 (Milkhaus), leridistim, lintuzumab, CA 125 MAb (Biomira), MAb contra el cáncer (Japan Pharmaceutical Development), HER-2 y Fc MAb (Medarex), idiotípico 105AD7 MAb (CRC Technology), idiotípico CEA MAb (Trilex), LYM-1-yodo 131 MAb (clon Techni), mucina epitelial polimórfica-itrio 90 MAb (Antisoma), marimastat, menogaril, mitumomab, motexafina gadolinio, MX 6 (Galderma), nelarabina, nolatrexed, proteína P 30, pegvisomant, pemetrexed, porfiromicina, prinomastat, RL 0903 (Shire), rubitecán, satraplatino, fenilacetato de sodio, ácido esparfosico, SRL 172 (SR Pharma), SU 5416 (SUGEN),

TA 077 (Tanabe), tetratiomolibdato, taliblastina, trombopoyetina, estaño etil etiopurpurina, tirapazamina, vacuna contra el cáncer (Biomira), vacuna contra el melanoma (Universidad de Nueva York), vacuna contra el melanoma (Instituto Sloan Kettering), vacuna contra el oncolisado de melanoma (Colegio Médico de Nueva York), vacuna contra lisados de células de melanoma viral (Hospital Royal Newcastle) o valspodar.

Ejemplos adicionales de agentes terapéuticos que pueden usarse en combinación con compuestos de la invención incluyen ipilimumab (Yervoy®); tremelimumab; galiximab; nivolumab, también conocido como BMS-936558 (Opdivo®); pembrolizumab (Keytruda®); avelumab (Bavencio®); AMP224; BMS-936559; MPDL3280A, también conocido como RG7446; MEDI-570; AMG557; MGA271; IMP321; BMS-663513; PF-05082566; CDX-1127; anti-OX40 (Servicios de Salud de Providence); huMAbox40L; atacicept; CP-870893; lucatumumab; dacetuzumab; muromonab-CD3; ipilumumab; MEDI4736 (Imfinzi®); MSB0010718C; AMP 224; adalimumab (Humira®); ado-trastuzumab emtansina (Kadcyla®); aflibercept (Eylea®); alemtuzumab (Campath®); basiliximab (Simulect®); belimumab (Benlysta®); basiliximab (Simulect®); belimumab (Benlysta®); brentuximab vedotina (Adcetris®); canakinumab (Ilaris®); certolizumab pegol (Cimzia®); daclizumab (Zenapax®); daratumumab (Darzalex®); denosumab (Prolia®); eculizumab (Soliris®); efalizumab (Raptiva®); gemtuzumab ozogamicina (Mylotarg®); golimumab (Simponi®); ibritumomab tiuxetan (Zevalin®); infliximab (Remicade®); motavizumab (Numax®); natalizumab (Tysabri®); obinutuzumab (Gazyva®); ofatumumab (Arzerra®); omalizumab (Xolair®); palivizumab (Synagis®); pertuzumab (Perjeta®); pertuzumab (Perjeta®); ranibizumab (Lucentis®); raxibacumab (Abthrax®); tocilizumab (Actemra®); tositumomab; tositumomab-i-131; tositumomab y tositumomab-i-131 (Bexxar®); ustekinumab (Stelara®); AMG 102; AMG 386; AMG 479; AMG 655; AMG 706; AMG 745; y AMG 951.

Los compuestos descritos en la presente pueden usarse en combinación con los agentes descritos en la presente u otros agentes adecuados, dependiendo de la afección en tratamiento. Por lo tanto, en algunas modalidades, los uno o más compuestos de la invención se administrarán de forma conjunta con otras terapias tal como se describe en la presente. Cuando se usan en terapias de combinación, los compuestos descritos en la presente se pueden administrar con el segundo agente de forma simultánea o separada. Esta administración en combinación puede incluir la administración simultánea de los dos agentes en la misma forma de dosificación, la administración simultánea en formas de dosificación separadas y la administración por separado. Es decir, un compuesto descrito en la presente y cualquiera de los agentes descritos en la presente pueden formularse juntos en la misma forma de dosificación y administrarse de forma simultánea. De manera alternativa, un compuesto de la presente descripción y cualquiera de las terapias descritas en la presente pueden administrarse de forma simultánea, en donde ambos agentes están presentes en formulaciones separadas. En otra alternativa, un compuesto de la presente invención puede administrarse seguido por cualquiera de las terapias descritas en la presente, o viceversa. En algunas modalidades del protocolo de

administración separada, un compuesto de la invención y cualquiera de las terapias descritas en la presente se administran con unos minutos de diferencia, con unas pocas horas de diferencia, o con unos pocos días de diferencia.

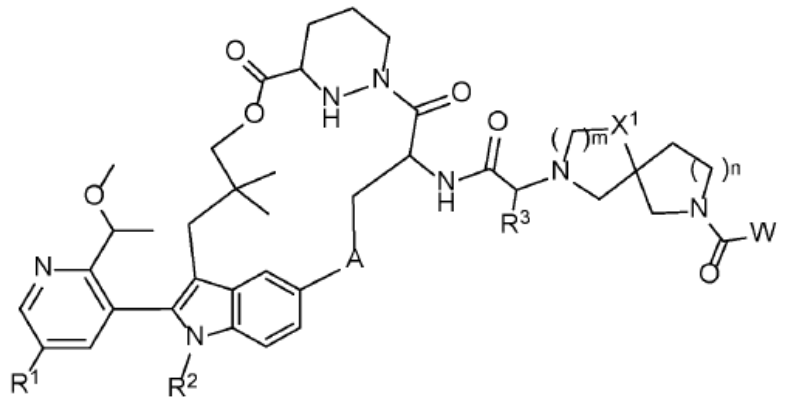
En algunas modalidades de cualquiera de los métodos descritos en la presente, la primera terapia (por ejemplo, un compuesto de la invención) y una o más terapias adicionales se administran de forma simultánea o secuencial, en cualquier orden. El primer agente terapéutico puede administrarse inmediatamente, hasta 1 hora, hasta 2 horas, hasta 3 horas, hasta 4 horas, hasta 5 horas, hasta 6 horas, hasta 7 horas, hasta 8 horas, hasta 9 horas, hasta 10 horas, hasta 11 horas, hasta 12 horas, hasta 13 horas, 14 horas, hasta horas 16, hasta 17 horas, hasta 18 horas, hasta 19 horas, hasta 20 horas, hasta 21 horas, hasta 22 horas, hasta 23 horas, hasta 24 horas, o hasta 1-7, 1-14, 1-21 o 1-30 días antes o después de una o más terapias adicionales.

La invención también presenta kits que incluyen (a) una composición farmacéutica que incluye un agente (por ejemplo, un compuesto de la invención) descrito en la presente, y (b) un prospecto con instrucciones para realizar cualquiera de los métodos descritos en la presente. En algunas modalidades, el kit incluye (a) una composición farmacéutica que incluye un agente (por ejemplo, un compuesto de la invención) descrito en la presente, (b) una o más terapias adicionales (por ejemplo, un tratamiento no farmacológico o un agente terapéutico) y (c) un prospecto de envase con instrucciones para realizar cualquiera de los métodos descritos en este documento.

Debido a que un aspecto de la presente invención contempla el tratamiento de la enfermedad o los síntomas asociados a esta con una combinación de compuestos farmacéuticamente activos que se pueden administrar de forma separada, la invención se relaciona adicionalmente con la combinación de composiciones farmacéuticas separadas en forma de kit. El kit puede comprender dos composiciones farmacéuticas separadas: un compuesto de la presente invención y una o más terapias adicionales. El kit puede comprender un recipiente para contener las composiciones separadas como una botella dividida o un sobre de aluminio con divisiones. Los ejemplos adicionales de recipientes incluyen jeringas, cajas y bolsas. En algunas modalidades, el kit puede comprender instrucciones para el uso de los componentes individuales. La forma de kit es particularmente ventajosa cuando los componentes separados se administran preferiblemente en diferentes formas de dosificación (por ejemplo, oral y parenteral), se administran en diferentes intervalos de dosificación, o cuando el profesional de atención médica que prescribe desea realizar la titulación de los componentes individuales de la combinación.

Modalidades numeradas

1. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptables de este, que tiene la estructura de Fórmula I:



Fórmula I

en donde A es heterocicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

W es un grupo reticulante que comprende una aziridina, un epóxido, una carbodiimida, una oxazolina, una tiazolina, una cloroetil urea, una cloroetil tiourea, un carbamato de cloroetilo, un tiocarbamato de cloroetilo, una trifluorometilcetona, un ácido borónico, un éster borónico, una N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), un iso-EEDQ u otro derivado de EEDQ, un oxazolio o un glical:

X^1 es CH_2 u O;

m es 1 o 2;

n es 0 o 1;

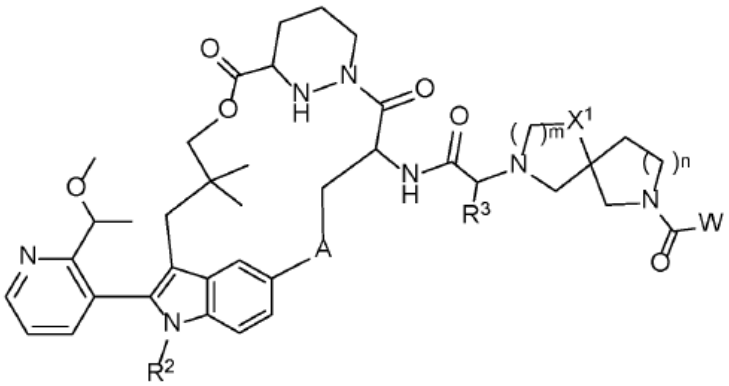
R^1 es hidrógeno o heterocicloalquilo de 3 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

R^2 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido; y

R^3 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

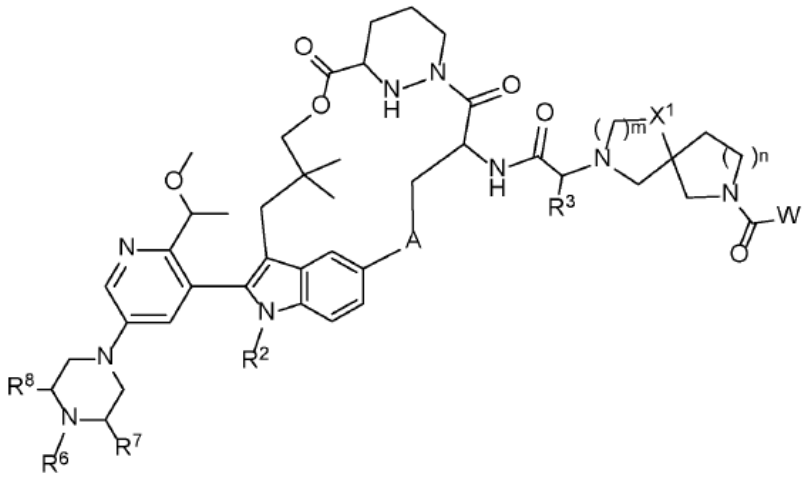
2. El compuesto de la modalidad 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A es tiazol opcionalmente sustituido, oxazol opcionalmente sustituido, morfolino opcionalmente sustituido, pirrolidinilo opcionalmente sustituido, piperidinilo opcionalmente sustituido o fenilo opcionalmente sustituido.

3. El compuesto de la modalidad 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula II-1:



Fórmula II-1.

4. El compuesto de la modalidad 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula II-2:



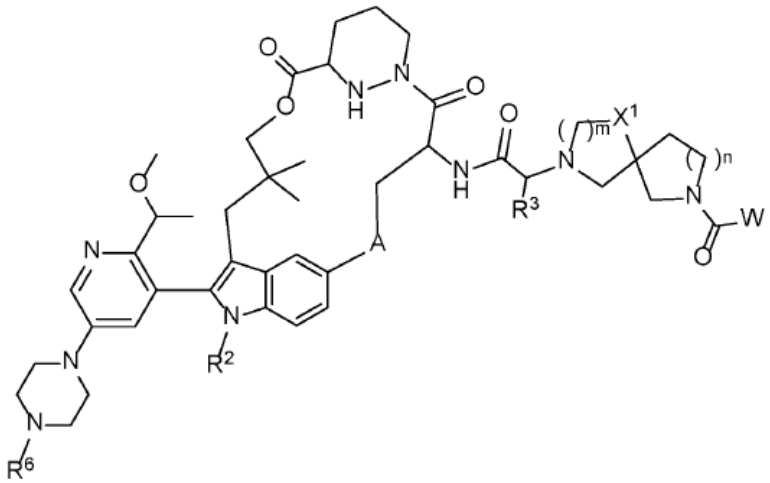
Fórmula II-2.

en donde R^6, R^7, y R^8 se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido; o heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido; o

R^6 y R^7 se combinan con los átomos a los que están unidos para formar un cicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido o un heterocicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido; o

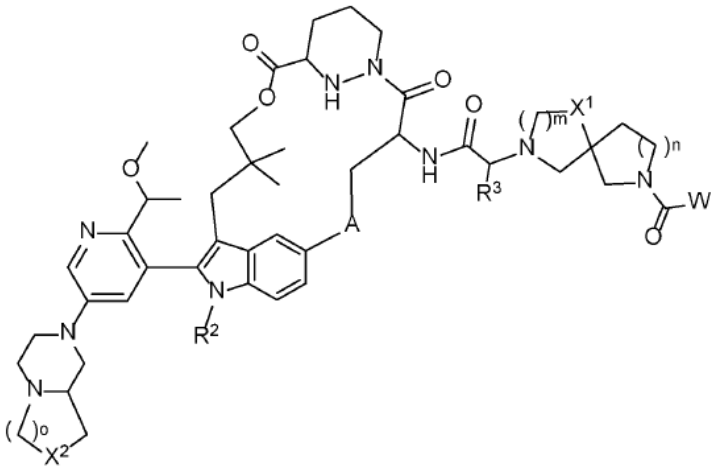
R^6 y R^8 se combinan con los átomos a los que están unidos para formar un cicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido o un heterocicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido.

5. El compuesto de la modalidad 4, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula II-3:



Fórmula II-3.

6. El compuesto de la modalidad 4, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula II-4:



Fórmula II-4.

en donde X^2 es CH_2 u O; y

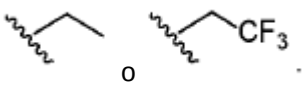
o es 1 o 2.

7. El compuesto de la modalidad 6, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde X^2 es CH_2.

8. El compuesto de la modalidad 7, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde o es 1.

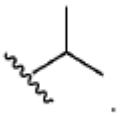
9. El compuesto de la modalidad 6, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde X^2 es O.

10. El compuesto de cualquiera de las modalidades 6, 7 y 9, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde o es 2.

11. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^2 es  o .

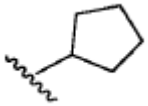
12. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en done R^3 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido.

13. El compuesto de la modalidad 12, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^3 es:



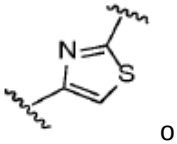
14. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^3 es o está opcionalmente sustituido con cicloalquilo de 3 a 6 miembros.

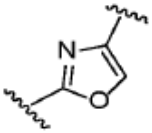
15. El compuesto de la modalidad 14, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^3 es:



16. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 15, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A es heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido.

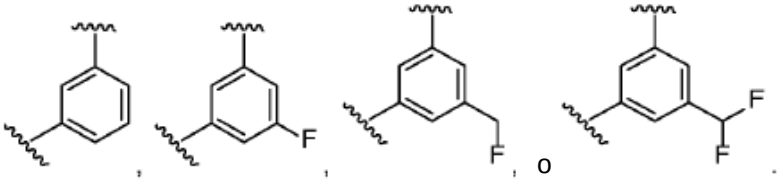
17. El compuesto de la modalidad 16, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A es:



o


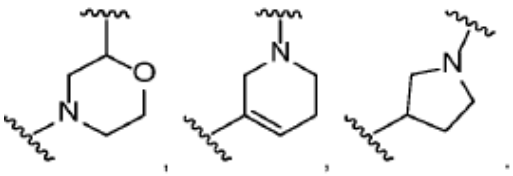
18. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 15, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A es fenilo opcionalmente sustituido.

19. El compuesto de la modalidad 18, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A es:



20. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 15, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A es heterocicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

21. El compuesto de la modalidad 20, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A se selecciona entre el siguientes o un estereoisómero de este:



22. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 21, o una sal farmacéuticamente

aceptable de este, en donde m es 1.

23. El compuesto de la modalidad 22, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde n es 1.

24. El compuesto de la modalidad 23, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde X^1 es CH_2.

25. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 21, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde m es 2.

26. El compuesto de la modalidad 25, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde X^1 es CH_2.

27. El compuesto de la modalidad 26, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde n es 1.

28. El compuesto de la modalidad 26, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde n es 0.

29. El compuesto de la modalidad 25, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde X^1 es O.

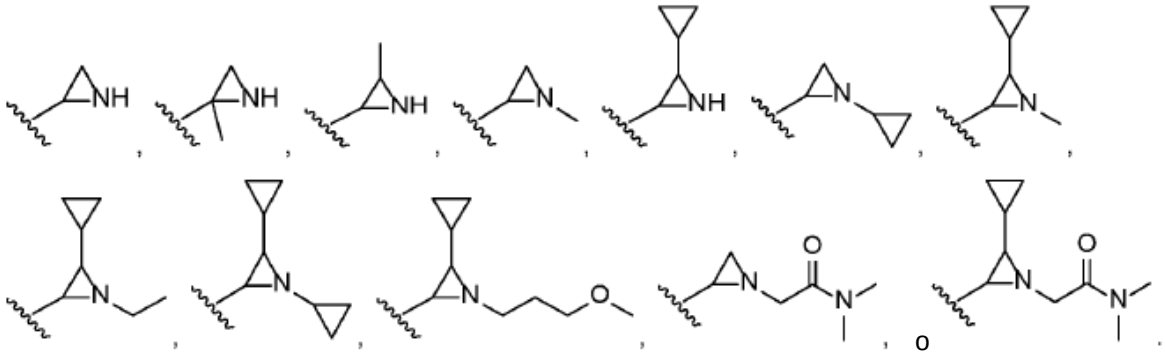
30. El compuesto de la modalidad 29, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde n es 1.

31. El compuesto de la modalidad 29, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde n es 0.

32. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 31, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde W comprende una aziridina.

33. El compuesto de la modalidad 32, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde W comprende un resto ciclopropil-aziridinilo opcionalmente sustituido.

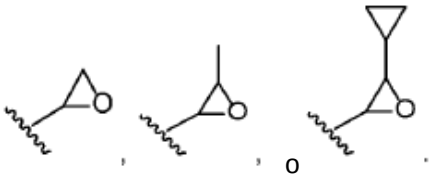
34. El compuesto de la modalidad 32 o 33, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde W se selecciona entre los siguientes, o un estereoisómero de estos:



o

35. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 31, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde W comprende un epóxido.

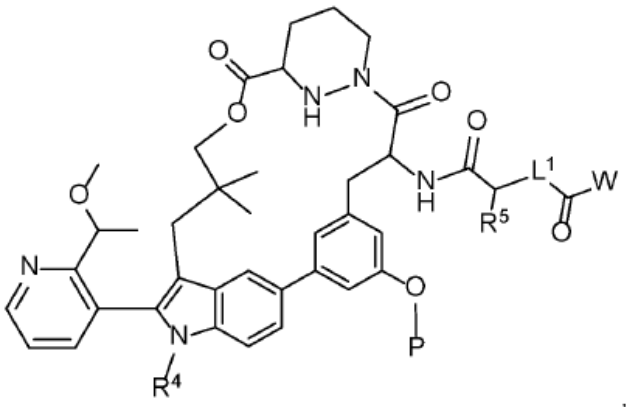
36. El compuesto de la modalidad 35, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde W se selecciona entre los siguientes, o un estereoisómero de estos:



o

37. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 36, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de un compuesto de la Tabla 1 o la Tabla 2.

38. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptables de este, que tiene la estructura de Fórmula III:



Fórmula III

en donde P es $-(CO)R^9$, $-(PO)(OH)_2$, o $-Si(R^{10})_3$;

W es un grupo de reticulación que comprende una aziridina, un epóxido, una carbodiimida, una oxazolina, una tiazolina, una cloroetil urea, una cloroetil tiourea, un carbamato de cloroetilo, un tiocarbamato de cloroetilo, una trifluorometilcetona, un ácido borónico, un éster borónico, una N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), un iso-EEDQ u otro derivado de EEDQ, un oxazolio o un glical;

L^1 es heterocicloalquileno de 3 a 9 miembros opcionalmente sustituido o heteroalquileno C_2-C_4 opcionalmente sustituido;

R^4 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido;

R^5 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido;

R^9 es alquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido; y

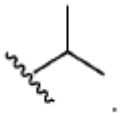
cada R^{10} es, independientemente, alquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido.

39. El compuesto de la modalidad 38, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^4 es:



40. El compuesto de la modalidad 38 o 39, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^5 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido.

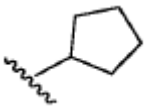
41. El compuesto de la modalidad 40, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en



donde R^5 es:

42. El compuesto de la modalidad 38 o 39, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^5 es cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

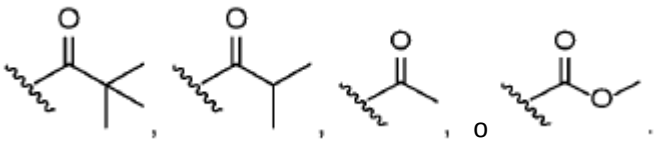
43. El compuesto de la modalidad 42, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en



donde R^5 es:

44. El compuesto de cualquiera de las modalidades 38 a 43, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde P es $-(CO)R^9$.

45. El compuesto de la modalidad 44, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en

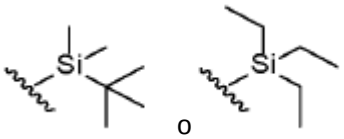


donde P se selecciona entre: , , , o .

46. El compuesto de cualquiera de las modalidades 38 a 43, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde P es $-(PO)(OH)_2$.

47. El compuesto de cualquiera de las modalidades 38 a 43, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde P es $-Si(R^{10})_3$.

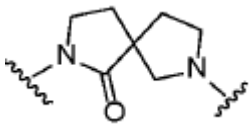
48. El compuesto de la modalidad 47, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en



donde P se selecciona entre: o .

49. El compuesto de cualquiera de las modalidades 38 a 48, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde L^1 es heterocicloalquileno de 3 a 9 miembros.

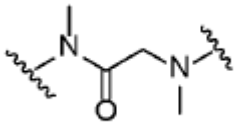
50. El compuesto de la modalidad 49, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en



donde L^1 es, o un estereoisómero de este: .

51. El compuesto de cualquiera de las modalidades 38 a 48, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde L^1 es heteroalquileno C_2-C_4 opcionalmente sustituido.

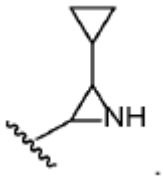
52. El compuesto de la modalidad 51, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en



donde L^1 es:

53. El compuesto de cualquiera de las modalidades 38 a 52, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde W es un resto ciclopropil-aziridinilo opcionalmente sustituido.

54. El compuesto de cualquiera de las modalidades 38 a 53, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde W es, o un estereoisómero de este:



55. El compuesto de cualquiera de las modalidades 38 a 54, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de un compuesto de la Tabla 3 o la Tabla 4.

56. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de un compuesto de la Tabla 5.

57. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable de este, de cualquiera de las modalidades 1 a 56 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

58. Un conjugado, o sal de este, que comprende la estructura de Fórmula IV:

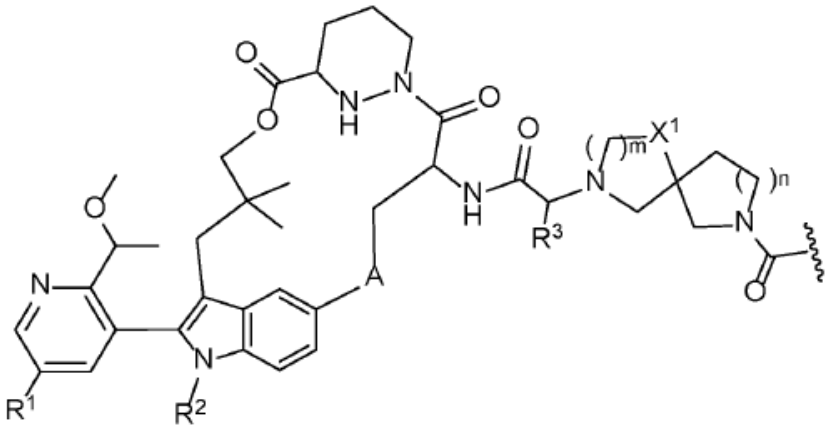
$M\text{-}L^2\text{-}P^1$

Fórmula IV

en donde L^2 es un enlazador;

P^1 es un resto orgánico monovalente; y

M tiene la estructura de la Fórmula V;



Fórmula V,

en donde A es heterocicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

X^1 es CH_2 u O;

m es 1 o 2;

n es 0 o 1;

R^1 es hidrógeno o heterocicloalquilo de 3 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

R^2 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido; y

R^3 alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

59. El conjugado de la modalidad 58, o una sal de este, en donde el resto orgánico monovalente es una proteína.

60. El conjugado de la modalidad 59, o una sal de este, en donde la proteína es una proteína Ras.

61. El conjugado de la modalidad 60, o una sal de este, en donde la proteína Ras es K-Ras G12D o K-Ras G13D.

62. El conjugado de cualquiera de las modalidades 58 a 61, en donde el enlazador, L^2, está unido al resto orgánico monovalente a través de un enlace a un grupo carboxilo de un residuo de aminoácido del resto orgánico monovalente.

63. Un método para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, de una cualquiera de las modalidades 1 a 56 o una composición farmacéutica de la modalidad 57.

64. El método de la modalidad 63, en donde el cáncer es cáncer pancreático, carcinoma broncopulmonar no microcítico, cáncer colorrectal o cáncer de endometrio.

65. El método de la modalidad 63 o 64, en donde el cáncer comprende una mutación de Ras.

66. El método de la modalidad 65, en donde la mutación de Ras es K-Ras G12D o K-Ras G13D.

67. Un método para tratar un trastorno relacionado con la proteína Ras en un sujeto que lo necesita, donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, de una cualquiera de las modalidades 1 a 56 o una composición farmacéutica de la modalidad 57.

68. Un método para inhibir una proteína Ras en una célula, donde el método comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, de cualquiera de las modalidades 1 a 56, o una composición farmacéutica de la modalidad 57.

69. El método de la modalidad 67 o 68, en donde la proteína Ras es K-Ras G12D o K-Ras G13D.

70. El método de la modalidad 68 o 69, en donde la célula es una célula cancerosa.

71. El método de la modalidad 70, en donde la célula cancerosa es una célula de cáncer pancreático, una célula de carcinoma broncopulmonar no microcítico, una célula de cáncer colorrectal, o una célula de cáncer de endometrio.

72. El método o uso de cualquiera de las modalidades 63 a 71, en donde el método comprende además administrar una terapia anticancerosa adicional.

73. El método de la modalidad 72, en donde la terapia anticancerosa adicional es un inhibidor de EGFR, un segundo inhibidor de Ras, un inhibidor de SHP2, un inhibidor de SOS1, un inhibidor de Raf, un inhibidor de MEK, un inhibidor de ERK, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de PTEN, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de BRAF, un inhibidor de PD-L1, un inhibidor de PD-1, un inhibidor de CDK4/6, un inhibidor de HER2 o una combinación de estos.

74. El método de la modalidad 72 o 73, en donde la terapia anticancerosa adicional es un inhibidores de SHP2.

Ejemplos

La invención se ilustra con más detalle mediante los siguientes ejemplos y ejemplos de síntesis, que no deben interpretarse como limitantes de esta invención en alcance o espíritu a los procedimientos específicos descritos en la presente. Debe entenderse que los ejemplos se proporcionan para ilustrar ciertas modalidades y que con ello no se pretende limitar el alcance de la invención. Debe entenderse además que se puede recurrir a otras diversas modalidades, modificaciones y equivalentes de estas que puedan sugerirse a los expertos en la técnica sin apartarse del espíritu de la presente invención o del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

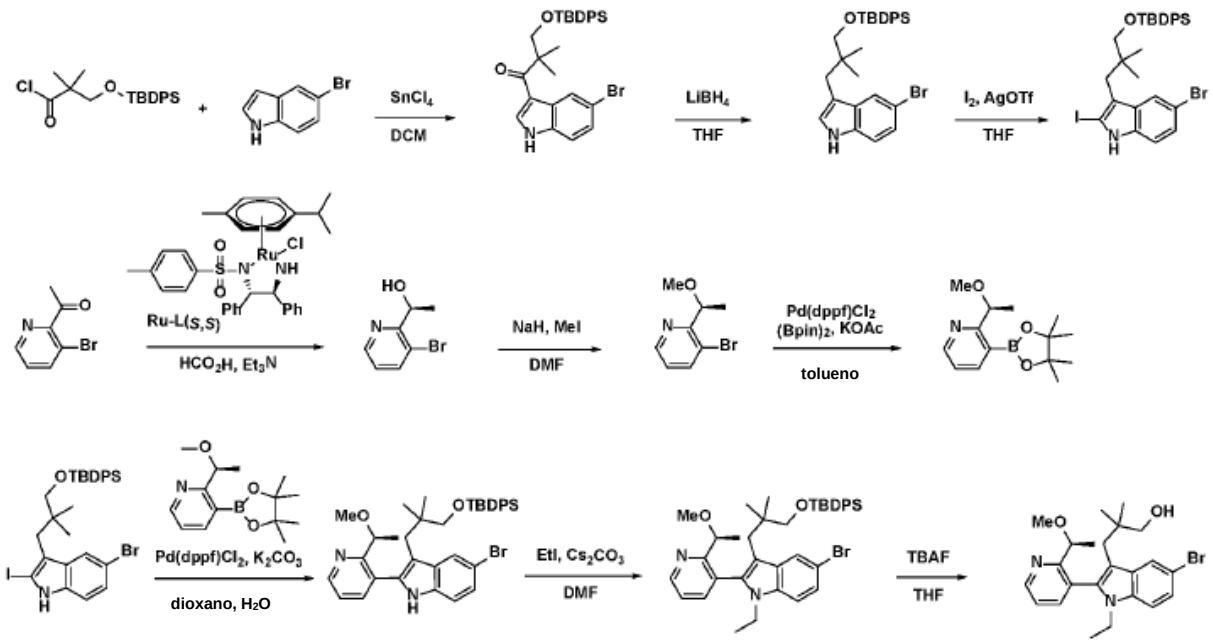
Síntesis químicas

Las definiciones que se utilizan en los siguientes ejemplos y en otras partes en la presente son:

CH_2Cl_2, DCM	Cloruro de metileno, Diclorometano
CH_3CN, MeCN	Acetonitrilo
CuI	Yoduro de cobre (I)
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMF	N,N-Dimetilformamida
EtOAc	Acetato de etilo
hS	hora
H_2O	Agua
HCl	Ácido clorhídrico
K_3PO_4	Fosfato de potasio (tribásico)
MeOH	Metanol
Na_2SO_4	Sulfato de sodio
NMP	N-metil pirrolidona
Pd(dppf)Cl_2	[1,1-Bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(ll)

Síntesis de intermedios

Intermedio 1. Síntesis de 3-(5-bromo-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol



Paso 1: Síntesis de 1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropan-1-ona

A una mezcla de cloruro 3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropan (65 g, 137 mmol, bruto) en DCM (120 mL) a 0 °C en una atmósfera de N_2 se añadió 1 M de $SnCl_4$ en DCM (137mL,137 mmol) lentamente. La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min, luego se añadió una solución de 5-bromo-1H-indol (26,8 g, 137 mmol) en DCM (40 mL) gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 45 min, luego se diluyó con EtOAc (300 ml), se lavó con salmuera (4 x 100 ml), se secó en Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (55 g, 75 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + Na] calculado para $C_{29}H_{32}BrNO_2SiNa$ 556,1; se encontró 556,3.

Paso 2: Síntesis de 1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropan-1-ona

A una mezcla de 1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropan-1-ona (50 g, 93,6 mmol) en THF (100 mL) a 0 °C en una atmósfera de N_2 se añadió $LiBH_4$ (6,1 g, 281 mmol). La mezcla se calentó hasta 60 °C y se agitó durante 20 h, luego se añadió MeOH (10 mL) y EtOAc (100 mL) y la mezcla se lavó con salmuera (50 mL), se secó en Na_2SO_4, se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con DCM (50 mL), se enfrió a 10 °C y se añadió diludina (9,5 g, 37,4 mmol) y TsOH●H_2O (890 mg, 4,7 mmol). La mezcla se agitó a 10 °C durante 2 h, se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (41 g, 84 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{29}H_{34}BrNOSi$; 519,2; se encontró 520,1.

Paso 3: Síntesis de 5-bromo-3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1H-

indol

A una mezcla de 1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropan-1-ona (1,5 g, 2,9 mmol) e I_2 (731 mg, 2,9 mmol) en THF (15 mL) a temperatura ambiente se añadió AgOTf (888 mg, 3,5 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, después se diluyó con EtOAc (200 ml) y se lavó con $Na_2S_2O_3$ (100 ml) acuoso sat., se secó en Na_2SO_4 anhidro y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (900 mg, 72 % de rendimiento) en forma de un sólido.

Paso 4: Síntesis de (1S)-1-(3-bromopiridin-2-il)etanol

A una mezcla agitada de HCO_2H (66,3 g, 1,44 mol) en Et_3N (728 g, 7,2 mol) a 0 °C en una atmósfera de Ar se añadió (4S,5S)-2-cloro-2-metil-1-(4-metilbencenosulfonil)-4,5-difenil-1,3-diaza-2-rutenacicIopentano cimeno (3,9 g, 6,0 mmol) en porciones. La mezcla se calentó a 40 °C y se agitó a 15 min, luego se enfrió a temperatura ambiente y se añadió 1-(3-bromopiridin-2-il)etanona (120 g, 600 mmol) en porciones. La mezcla se calentó hasta 40 °C y se agitó durante 2 h más, luego el solvente se concentró a presión reducida. Se añadió salmuera (2 L) al residuo, la mezcla se extrajo con EtOAc (4 x 700 ml), se secó en Na_2SO_4 anhidro y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (100 g, 74 % de rendimiento) en forma de un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para C_7H_8BrNO: 201,98; se encontró 201,9.

Paso 5: Síntesis de 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina

A una mezcla agitada de (1S)-1-(3-bromopiridin-2-il)etanol (100 g, 495 mmol) en DMF (1 L) a 0 °C se añadió NaH, dispersión al 60 % en aceite (14,25 g, 594 mmol) en porciones. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Se añadió Mel (140,5 g, 990 mmol) gota a gota a 0 °C y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió NH_4Cl acuoso sat. (5 L). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 L), se secó en Na_2SO_4 anhidro y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (90 g, 75 % de rendimiento) en forma de un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_8H_{10}BrNO$: 215,99; se encontró 215,9.

Paso 6: Síntesis de 2-[(1S)-1-metoxietil]-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroIan-2-il)piridina

A una mezcla agitada de 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (90 g, 417 mmol) en tolueno (900 ml) a temperatura ambiente en una atmósfera de Ar se le añadió bis(pinacoIato)diboro (127 g, 500 mmol) y KOAc (81,8 g, 833 mmol) y Pd(dppf)Cl_2 (30,5 g, 41,7 mmol). La mezcla se calentó a 100 °C y se agitó durante 3 h. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de Al_2O_3 para proporcionar el producto (100 g, 63 % de rendimiento) en forma de un semisólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{14}H_{22}BNO_3$; 264,17; se encontró 264,1.

Paso 7: Síntesis de 5-bromo-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1H-indol

A una mezcla agitada de 5-bromo-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-yodo-1H-indol (140 g, 217 mmol) y 2-[(1S)-1-metoxietil]-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (100 g, 380 mmol) en dioxano (1,4 L) a temperatura ambiente en atmósfera de Ar, se añadió K_2CO_3 (74,8 g, 541 mmol), $Pd(dppf)Cl_2$ (15,9 g, 21,7 mmol) y H_2O (280 ml) en porciones. La mezcla se calentó a 85 °C y se agitó durante 4 h, luego se enfrió, se añadió H_2O (5 L) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 2 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 1 L), se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (71 g, 45 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{37}H_{43}BrN_2O_2Si$: 655,23; se encontró 655,1.

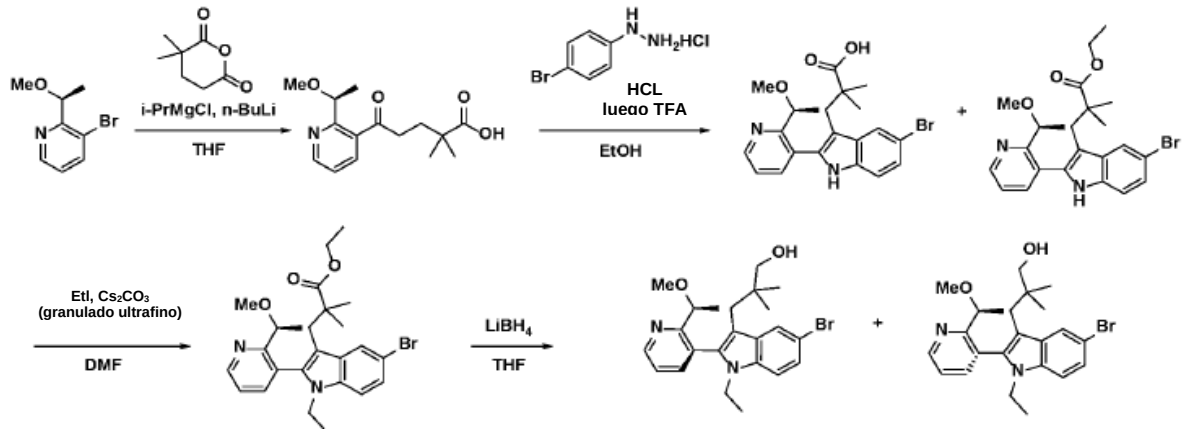
Paso 8: Síntesis de 5-bromo-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol

A una mezcla agitada de 5-bromo-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1H-indol (71 g, 108 mmol) en DMF (0,8 L) a 0 °C en una atmósfera de N_2 se añadió Cs_2CO_3 (70,6 g, 217 mmol) y EtI (33,8 g, 217 mmol) en porciones. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h, luego se añadió H_2O (4 L) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 1 L), se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (66 g, 80 % de rendimiento) en forma de un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{39}H_{47}BrN_2O_2Si$: 683,26; se encontró 683,3.

Paso 9: Síntesis de 3-(5-bromo-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indoI-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-oI

A una mezcla agitada de TBAF (172,6 g, 660 mmol) en THF (660 mL) a temperatura ambiente en una atmósfera de N_2 se añadió 5-bromo-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol (66 g, 97 mmol) en porciones. La mezcla se calentó a 50 °C y se agitó durante 16 h, se enfrió, se diluyó con H_2O (5 L) y se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 1 L), se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (30 g, 62 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{23}H_{29}BrN_2O_2$: 445,14; se encontró 445,1.

Intermedio 2. Síntesis alternativa a través de la ruta Fisher Indol.



Paso 1: Síntesis de ácido 5-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-2,2-dimetil-5-oxopentanoico

A una mezcla de i-PrMgCl (2 M en THF, 0,5 L) a -10 °C en una atmósfera de N_2 se añadió n-BuLi, 2,5 M en hexano (333 ml, 833 mmol) gota a gota durante 15 min. La mezcla se agitó durante 30 min a -10 °C y luego se añadió gota a gota 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (180 g, 833 mmol) en THF (0,5 L) durante 30 min a -10 °C. La mezcla resultante se calentó a -5 °C y se agitó durante 1 h, después se añadió gota a gota 3,3-dimetiloxano-2,6-diona (118 g, 833 mmol) en THF (1,2 L) durante 30 min a -5 °C. La mezcla se calentó a 0 °C y se agitó durante 1,5 h, luego se inactivó con la adición de 4 M de HCl preenfriado en dioxano (0,6 L) a 0 °C para ajustar el pH a ~5. La mezcla se diluyó con H_2O (3 L) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (3 x 2,5 L). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (87 g, 34 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{15}H_{21}NO_4$: 280,15; se encontró 280,1.

Paso 2: Síntesis de ácido 3-(5-bromo-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoico y etilo (S)-3-(5-bromo-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoato

A una mezcla de ácido 5-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-2,2-dimetil-5-oxopentanoico (78 g, 279 mmol) en EtOH (0,78 L) a temperatura ambiente en una atmósfera de N_2 se añadió sal HCl de (4-bromofenil)hidrazina (68,7 g, 307 mmol) en porciones. La mezcla se calentó a 85 °C y se agitó durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y después se añadió gota a gota 4 M de HCl en dioxano (69,8 ml, 279 mmol). La mezcla se calentó hasta 85 °C y se agitó 3 h más, luego se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en TFA (0,78 L). La mezcla se calentó a 60 °C y se agitó durante 1,5 h, se concentró a presión reducida y el residuo se ajustó a pH ~5 con $NaHCO_3$ acuoso sat., luego se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 L). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (78 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{21}H_{23}BrN_2O_3$: 430,1 y $C_{23}H_{27}BrN_2O_3$: 459,12; se encontró 431,1 (ácido carboxílico) y 459,1.

Paso 3: Síntesis de etilo 3-(5-bromo-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-3-il)-2,2-

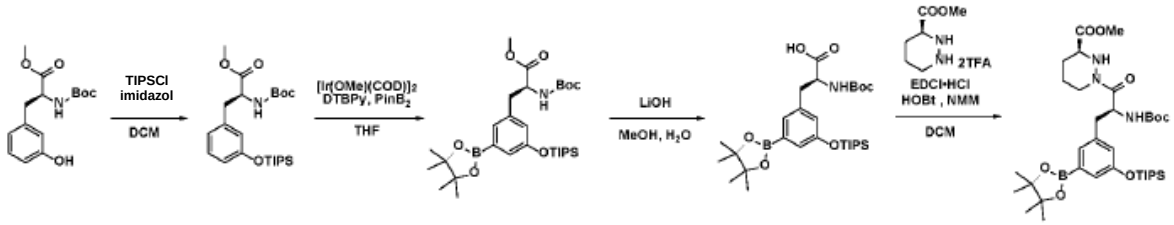
dimetilpropanoato

A una mezcla de ácido 3-(5-bromo-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoico y etilo (S)-3-(5-bromo-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoato (198 g, 459 mmol) en DMF (1,8 L) a 0 °C en una atmósfera de N_2 se añadió Cs_2CO_3 (449 g, 1,38 mol) en porciones. Luego se agregó EtI (215 g, 1,38 mmol) en DMF (200 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 h, luego se diluyó con salmuera (5 L) y se extrajo con EtOAc (3 x 2,5 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 1,5 L), se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (160 g, 57 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{25}H_{31}BrN_2O_3$: 487,17; se encontró 487,2.

Paso 4: Síntesis de 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol

A una mezcla de 3-(5-bromo-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoato (160 g, 328 mmol) en THF (1,6 L) a 0 °C en una atmósfera de N_2 se añadió $LiBH_4$ (28,6 g, 1,3 mol). La mezcla se calentó a 60 °C durante 16 h, se enfrió y se inactivó con NH_4Cl acuoso sat. (5 L) preenfriado (0 °C). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 2 L) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 1 L), se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar dos atropisómeros de 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (como atropisómeros individuales) (60 g, 38 % de rendimiento) y (40 g, 26 % de rendimiento), ambos como sólidos. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{23}H_{29}BrN_2O_2$: 445,14; se encontró 445,2.

Intermedio 3. Síntesis de (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-((triisopropilsilil)oxi)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato



Paso 1: Síntesis de (S)-metil-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(3-(triisopropilsililoxi)fenil)-propanoato

A una mezcla de (S)-metil-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(3-(triisopropilsililoxi)fenil)-propanoato (10,0 g, 33,9 mmol) en DCM (100 mL) se añadió imidazol (4,6 g, 67,8 mmol) y TIPSCl (7,8 g, 40,7 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, después se

diluyó con DCM (200 mL) y se lavó con H_2O (3 x 150 mL). La capa orgánica se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró, se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (15,0 g, 98 % de rendimiento) en forma de un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + Na] calculado para $C_{24}H_{41}NO_5SiNa$: 474,22; se encontró 474,2.

Paso 2: Síntesis de (S)-metil 2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroIan-2-il)-5-(triisopropilsililoxi))fenilI)-propanoato

Una mezcla de (S)-metil 2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(3-(triisopropilsililoxi)fenil)-propanoato (7,5 g, 16,6 mmol), $PinB_2$ (6,3 g, 24,9 mmol), $[Ir(OMe)(COD)]_2$ (1,1 g, 1,7 mmol) y 4-terc-butil-2-(4-terc-butil-2-piridil)piridina (1,3 g, 5,0 mmol) se purgó con Ar, después se añadió THF (75 mL) y la mezcla se colocó en una atmósfera de Ar y se selló. La mezcla se calentó a 80 °C y se agitó durante 16 h, se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (7,5 g, 78 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + Na] calculado para $C_{30}H_{52}BNO_7SiNa$: 600,35; se encontró 600,4

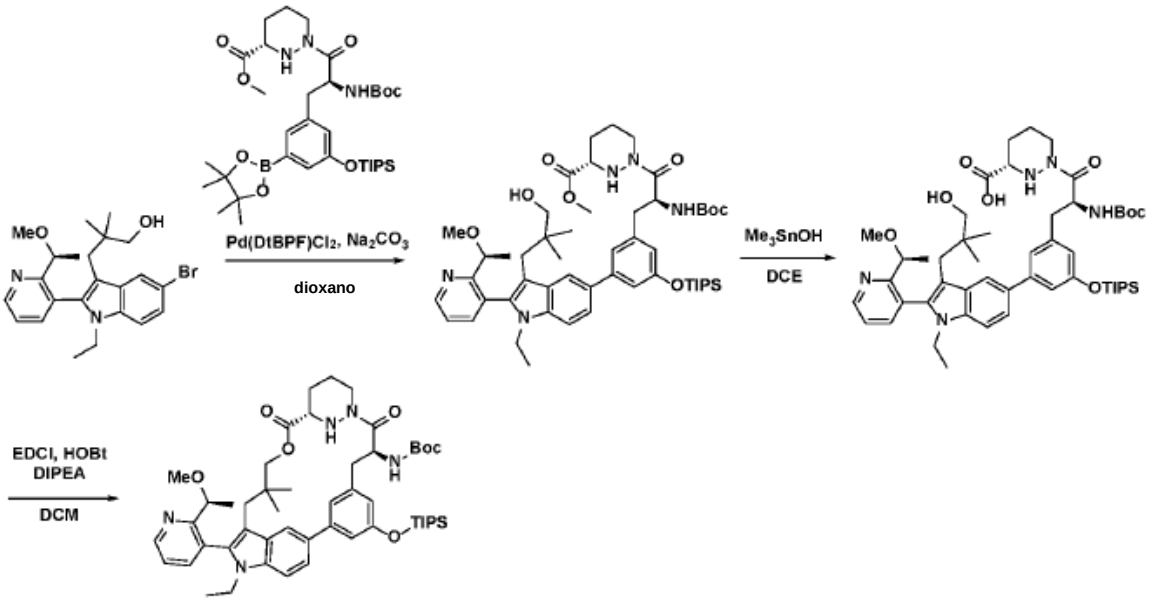
Paso 3: Síntesis de ácido (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroIan-2-iI)-5-((triisopropilsilil)oxi)fenil)propanoico

A una mezcla de triisopropilsilil (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroIan-2-il)-5-((triisopropilsilil)oxi)fenil)propanoato (4,95 g, 6,9 mmol) en MeOH (53 mL) a 0 °C se añadió LiOH (840 mg, 34,4 mmol) en H_2O (35 mL). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se acidificó a pH ~5 con 1 M de HCl y se extrajo con EtOAc (2 x 250 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (3,7 g, 95 % de rendimiento), que se usó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + NH_4] calculado para $C_{29}H_{50}BNO_7SiNH_4$: 581,38; se encontró 581,4.

Paso 4: Síntesis de metil (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroIano)-2-il)-5-((triisopropilisil)oxi)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una mezcla de metilo (S)-hexahidropiridazina-3-carboxilato (6,48 g, 45,0 mmol) en DCM (200 mL) a 0 °C se añadió NMM (41,0 g, 405 mmol), ácido (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroan-2-il)-5-((triisopropilIsil)oxi)fenil)propanoico (24 g, 42,6 mmol) en DCM (50 mL) y luego HOBt (1,21 g, 9,0 mmol) y sal HCl EDCI (12,9 g, 67,6 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h, luego se diluyó con DCM (200 mL) y se lavó con H_2O (3 x 150 mL). Las capas orgánicas se secaron en Na_2SO anhidro, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (22 g, 71 % de rendimiento) en forma de un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{35}H_{60}BN_3O_8Si$: 690,42; se encontró 690,5.

Intermedio 4. Síntesis de ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclounde cafano-4-il)carbamato.



Paso 1: Síntesis de metilo (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-5-[(triisopropilsilil)oxi]fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato

A una mezcla agitada de 3-(5-bromo-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (30 g, 67 mmol) y metilo (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-(4,4,5,5-tetrametilo)-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-[(triisopropilsilil)oxi]fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato (55,8 g, 80,8 mmol) en dioxano (750 ml) a temperatura ambiente en una atmósfera de Ar se añadió Na_2CO_3 (17,9 g, 168,4 mmol), $Pd(DtBPF)Cl_2$ (4,39 g, 6,7 mmol) y H_2O (150 mL) en porciones. La mezcla se calentó hasta 85 °C y se agitó durante 3 h, luego se enfrió, se diluyó con H_2O (2 L) y se extrajo con EtOAc (3 x 1 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 500 mL), se secaron en Na_2CO_3 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (50 g, 72 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{77}N_5O_8Si$: 928,56; se encontró 928,8.

Paso 2: Síntesis de ácido (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-5-[(triisopropilsilil)oxi]fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico

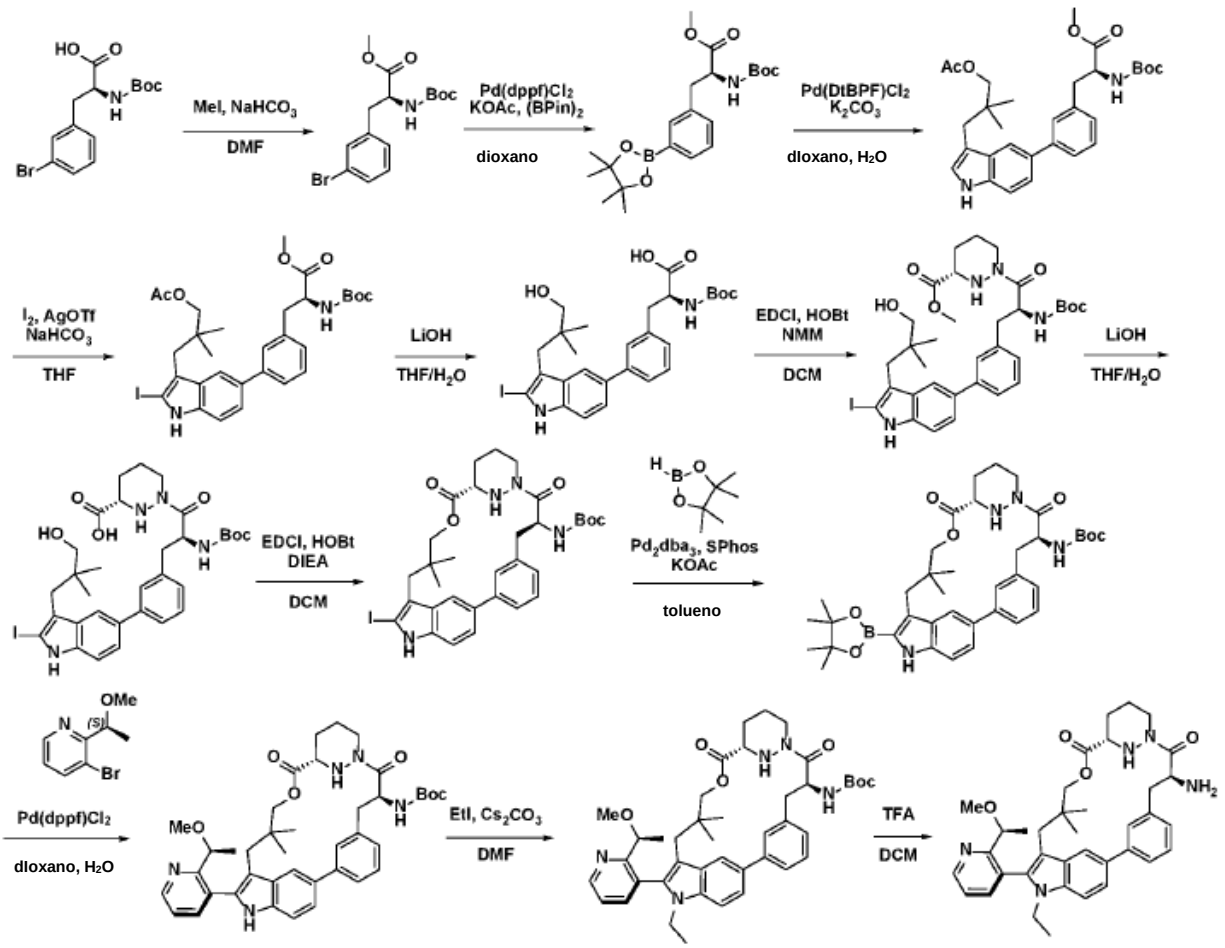
A una mezcla agitada de metilo (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-5-[(triisopropilsilil)oxi]fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico (50 g, 54 mmol) en DCE (500 mL) a temperatura ambiente se añadió hidróxido de trimetilestaño (48,7 g, 269 mmol) en porciones.

La mezcla se calentó a 65 °C y se agitó a 16 h, luego se filtró y la torta de filtro se lavó con DCM (3 X 150 mL). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (70 g, bruto), que se usó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{75}N_5O_8Si$: 914,55; se encontró 914,6.

Paso 3: Síntesis de terc-butil ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1-H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)carbamato

A una mezcla agitada de ácido (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-5-[(triisopropilsilil)oxi]fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico (70 g) en DCM (5 L) a 0 °C en una atmósfera de N_2 se añadió DIPEA (297 g, 2,3 mol), HOBT (51,7 g, 383 mmol) y EDCI (411 g, 2,1 mol) en porciones. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h, luego se diluyó con DCM (1 L), se lavó con salmuera (3 x 1 L), se secó en Na_2SO_4 anhidro y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (36 g, 42 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{51}H_{73}N_5O_7Si$: 896,54; se encontró 896,5.

Intermedio 5. Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-3-(3-bromofenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoato

A una solución de ácido (2S)-3-(3-bromofenil)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoico (100 g, 290 mmol) en DMF (1 L) a temperatura ambiente se añadió $NaHCO_3$ (48,8 g, 581,1 mmol) y MeI (61,9 g, 435,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h y luego se inactivó con H_2O (1 L) y se extrajo con EtOAc (3 x 1 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 × 500 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 13 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto final (109 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M+Na] calculado para $C_{15}H_{20}BrNO_4$ 380,05; se encontró: 380,0.

Paso 2: Síntesis de metilo (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroIan-2-il)fenil)propanoato

A una solución agitada de metilo (2S)-3-(3-bromofenil)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoato (108 g, 301,5 mmol) y bis(pinacoIato)diboro (99,53 g, 391,93 mmol) en dioxano (3,2 L) se añadió KOAc (73,97 g, 753,70 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (22,06 g, 30,15 mmol). La mezcla de reacción se calentó hasta 90 °C durante 3 h y luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se extrajo con EtOAc (2 x 3 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 × 800 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice

(EtOAc al 5 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto (96 g, rendimiento del 78,6 %). LCMS (ESI) *m/z* [M+Na] calculado para $C_{21}H_{32}BNO_6$ 428,22; se encontró: 428,1.

Paso 3: Síntesis de metilo (S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoato

A una mezcla de metilo (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]propanoato (94 g, 231,9 mmol) y acetato de 3-(5-bromo-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (75,19 g, 231,93 mmol) en dioxano (1,5 L) y H_2O (300 mL) se añadió K_2CO_3 (64,11 g, 463,85 mmol) y Pd(DtBPF)Cl_2 (15,12 g, 23,19 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 70 °C y se agitó durante 4 h. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 2 L) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 600 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 20 %/éter de petróleo) para dar el producto (130 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{30}H_{38}N_2O_6$ 523,28; se encontró: 523,1.

Paso 4: Síntesis de metilo (S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-iodo-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoato

A una solución de metilo (2S)-3-(3-[3-[3-(acetiloxi)-2,2-dimetilpropil]-1H-indol-5-il]fenil)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoato (95,0 g, 181,8 mmol) y yodo (36,91 g, 145,41 mmol) en THF (1 L) a -10 °C se añadió AgOTf (70,0 g, 272,7 mmol) y $NaHCO_3$ (22,9 g, 272,65 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min y luego se inactivó mediante la adición de $Na_2S_2O_3$ acuoso sat. (100 Ml) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 1 L) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 500 Ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/éter de petróleo) para dar metilo (S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-iodo-1H-indol-5-Ii)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoato (49,3 g, 41,8 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{30}H_{37}IN_2O_6$: 649,18; se encontró 649,1.

Paso 5: Síntesis de ácido (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1H-indol-5-il)fenilI)propanoico

A una solución de metilo (2S)-3-(3-[3-[3-(acetiloxi)-2,2-dimetilpropil]-2-yodo-1H-indol-5-Ii]fenil)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoato (60 g, 92,5 mmol) en THF (600 ml) se añadió una solución de $LiOH \cdot H_2O$ (19,41 g, 462,5 mmol) en H_2O (460 ml). La solución resultante se agitó durante la noche y luego el Ph se ajustó a 6 con HCl (1 M). La solución resultante se extrajo con EtOAc (2 x 500 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 500 Ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (45 g, 82,1 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M+Na] calculado para $C_{27}H_{33}IN_2O_6$ 615,13; se encontró: 615,1.

Paso 6: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de ácido (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[3-(3-hidroxi-2,2-

dimetilpropil)-2-yodo-1H-indol-5-il]fenil]propanoico (30 g, 50,6 mmol) y metilo (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato (10,9 g, 75,9 mmol) en DCM (400 ml) se añadió NMM (40,97 g, 405,08 mmol), HOBt (2,05 g, 15,19 mmol) y EDCI (19,41 g, 101,27 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche y luego la mezcla se lavó con NH_4Cl acuoso sat. (2 x 200 mL) y salmuera (2 x 200 Ml), y la mezcla se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (14 g, 38,5 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{33}H_{43}IN_4O_6$ 718,23; se encontró: 719,4.

Paso 7: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (92 g, 128,0 mmol) en THF (920 ml) a 0 °C se añadió una solución de $LiOH\bullet H_2O$ (26,86 g, 640,10 mmol) en H_2O (640 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h y después se concentró a presión reducida para dar el producto (90 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{32}H_{41}IN_4O_6$ 705,22; se encontró: 705,1.

Paso 8: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^2-yodo-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)carbamato

A una solución de ácido (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1H-indol-5-il]fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico (90 g, 127,73 mmol) en DCM (10 L) a 0 °C se añadió HOBt (34,52 g, 255,46 mmol), DIPEA (330,17 g, 2554,62 mmol) y EDCI (367,29 g, 1915,96 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h y luego se concentró a presión reducida. La mezcla se extrajo con DCM (2 x 2 L) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 1 L), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto (70 g, 79,8 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{32}H_{39}IN_4O_5$ 687,21; se encontró: 687,1.

Paso 9: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-12-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)carbamato

Se cargó un matraz de fondo redondo de 1 L con terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^2-yodo-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)carbamato (22,0 g, 32,042 mmol), tolueno (300,0 mL), $Pd_2(dba)_3$ (3,52 g, 3,845 mmol), S-Phos (3,95 g, 9,613 mmol) y KOAc (9,43 g, 96,127 mmol) a temperatura ambiente. A la mezcla se le añadió gota a gota 4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroano (26,66 g, 208,275 mmol) con agitación a temperatura ambiente. La solución resultante se agitó durante 3 h a 60 °C. La mezcla resultante se filtró, y la torta de filtro se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo restante se purificó mediante cromatografía en columna

de gel de sílice para proporcionar el producto (22 g, 90 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{38}H_{51}BN_4O_7$ 687,3; se encontró: 687,4.

Paso 10: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)carbamato

Una mezcla de terc-butil ((6^{3}S,4S)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)carbamato (2,0 g, 2,8 mmol), 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (0,60 g, 2,8 mmol), Pd(dppf)Cl_2 (0,39 g, 0,5 mmol), y K_3PO_4 (1,2 g, 6,0 mmol) en dioxano (50 ml) y H_2O (10 ml) en una atmósfera de N_2 se calentó a 70 °C y se agitó durante 2 h. La mezcla se diluyó con H_2O (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (1,5 g, 74 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{40}H_{49}N_5O_6$ 695,4; se encontró: 696,5.

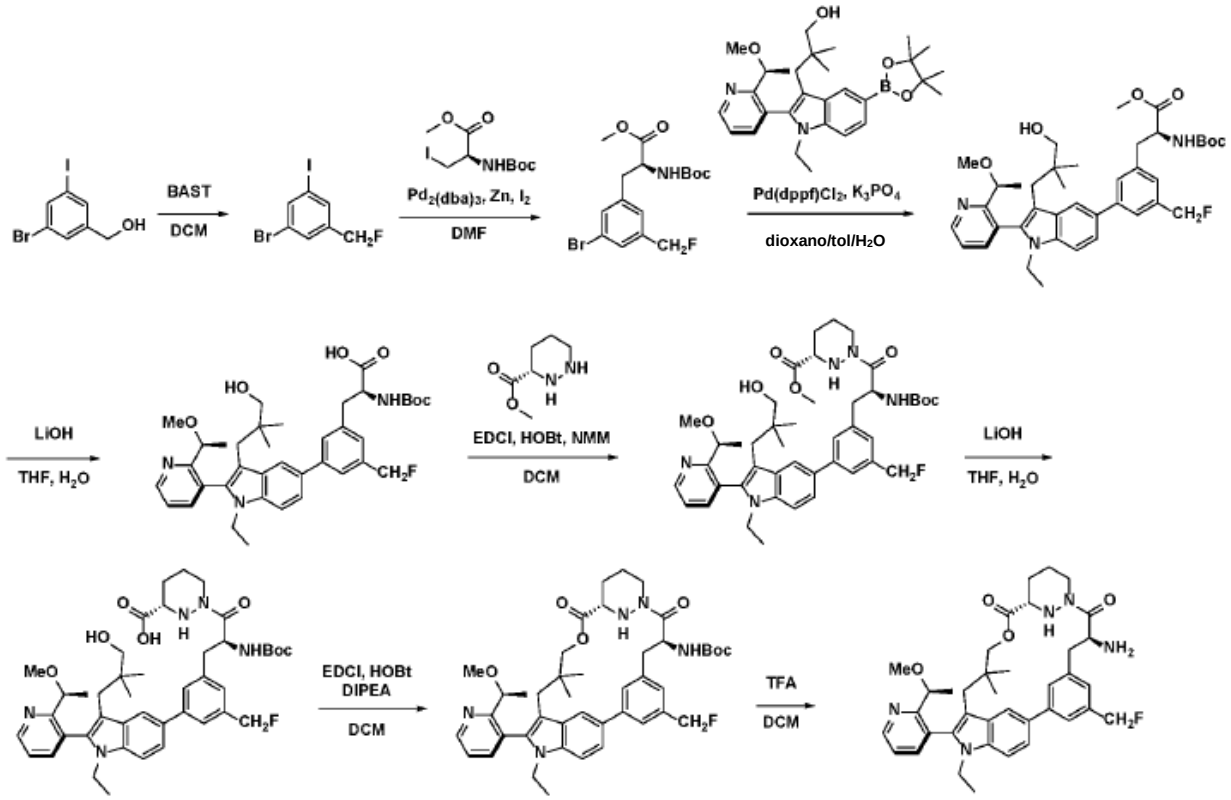
Paso 11: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etilo-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)carbamato

A una solución de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)carbamato (20 g, 28,7 mmol) y Cs_2CO_3 (18,7 g, 57,5 mmol) en DMF (150 mL) a 0 °C se añadió una solución de EtI (13,45 g, 86,22 mmol) en DMF (50 mL). La mezcla resultante se agitó durante la noche a 35 °C y luego diluyó con H_2O (500 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (4,23 g, 18,8 % de rendimiento) y el atropisómero (5,78 g, 25,7 % de rendimiento) como sólidos. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{42}H_{53}N_5O_6$ 724,4; se encontró: 724,6.

Paso 12: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-5,7-diona

Una mezcla de terc-butilo (6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)carbamato (1,3 g, 1,7 mmol) en TFA (10 mL) y DCM (20 Ml) se agitó a 0 °C durante 2 h. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (1,30 g, bruto) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{37}H_{45}N_5O_4$ 623,3; se encontró: 624,4.

Intermedio 6. Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7- diona



Paso 1: Síntesis de 1-bromo-3-(fluorometil)-5-yodobenceno

A una solución de (3-bromo-5-yodofenil)metanol (175,0 g, 559,23 mmol) en DCM (2 L) se añadió gota a gota BAST (247,45 g, 1118,45 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con $NaHCO_3$ acuoso sat. a 0 °C. Las capas orgánicas se lavaron con H_2O (3 x 700 ml) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 3 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (120 g, 68 % de rendimiento).

Paso 2: Síntesis de metilo (2S)-3-[3-bromo-5-(fluorometil)fenil]-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoato

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 1000 ml se añadió polvo de Zn (32,40 g, 495,358 mmol) en DMF (350,0 ml) e I_2 (967,12 mg, 3,810 mmol). A la mezcla se añadió una solución de metilo (2R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-yodopropanoato (27,0 g, 82,03 mmol) en DMF (10 mL). La mezcla se calentó a 30 °C durante 10 min. Después se añadió a la mezcla una solución de (2R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-yodopropanoato de metilo (54,0 g, 164,07 mmol) en DMF (20 mL). La mezcla resultante se agitó durante 30 min a temperatura ambiente y se filtró. La solución resultante se añadió a una mezcla de 1-bromo-3-(fluorometil)-5-yodobenceno (60 g, 190,522 mmol), tris(furan-2-il)fosfano (2,65 g, 11,431 mmol) y $Pd_2(dba)_3$

(3,49 g, 3,810 mmol) en DMF (400 ml) a temperatura ambiente en atmósfera de argón y la mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 10 min y luego se eliminó el baño de aceite. La mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 1 h hasta que la temperatura se enfrió a 50 °C. La reacción se inactivó con NH_4Cl acuosa sat. (3000 mL) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 1000 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 1000 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 9 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (45 g, 60 % de rendimiento).

Paso 3: Síntesis de metilo (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenil)propanoato

Una mezcla de metilo (2S)-3-[3-bromo-5-(fluorometil)fenil]-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoato (75,28 g, 192,905 mmol), (S)-3-(1-etil-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (95 g, 192,905 mmol), $Pd(dppf)Cl_2$ (14,11 g, 19,291 mmol) y K_2CO_3 (53,32 g, 385,810 mmol) en dioxano (900 mL) y H_2O (180 mL) se agitó durante 2 h a 80 °C. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y luego se diluyó con H_2O. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 1200 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (3 x 500 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (105 g, 80 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{39}H_{50}FN_3O_6$: 676,38; se encontró 676,1.

Paso 4: Síntesis de ácido (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenil)propanoico

A una solución agitada de metilo (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-fluorometil)fenil)propanoato (108 g, 159,801 mmol) en THF (500 mL) se añadió una solución de $LiOH•H_2O$ (11,48 g, 479,403 mmol) en H_2O (500 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0 °C y luego se acidificó a pH 6 con 1 M de HCl (ac.). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 800 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 200 ml) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (101 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{38}H_{48}FN_3O_6$: 662,36; se encontró 662,1.

Paso 5: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución agitada de ácido (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenilo)propanoico (103 g, 155,633 mmol) y NMM (157,42 g, 1556,330 mmol) en DCM

(1200 ml) se añadió metilo (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato (33,66 g, 233,449 mmol), HOBt (10,51 g, 77,816 mmol) y EDCI (59,67 g, 311,265 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Luego se lavaron las capas orgánicas con 0,5 M de HCl (2 x 1000 mL) y salmuera (2 x 800 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (103 g, 83 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{58}FN_5O_7$: 788,44; se encontró 788,1.

Paso 6: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución agitada de metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (103 g, 130,715 mmol) en THF (700 mL) se añadió una solución de $LiOH•H_2O$ (27,43 g, 653,575 mmol) en H_2O (700 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0 °C y luego se neutralizó a pH 6 con 1 M de HCl. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 800 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 600 mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (101 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{56}FN_5O_7$: 774,43; se encontró 774,1.

Paso 7: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxano-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)carbamato

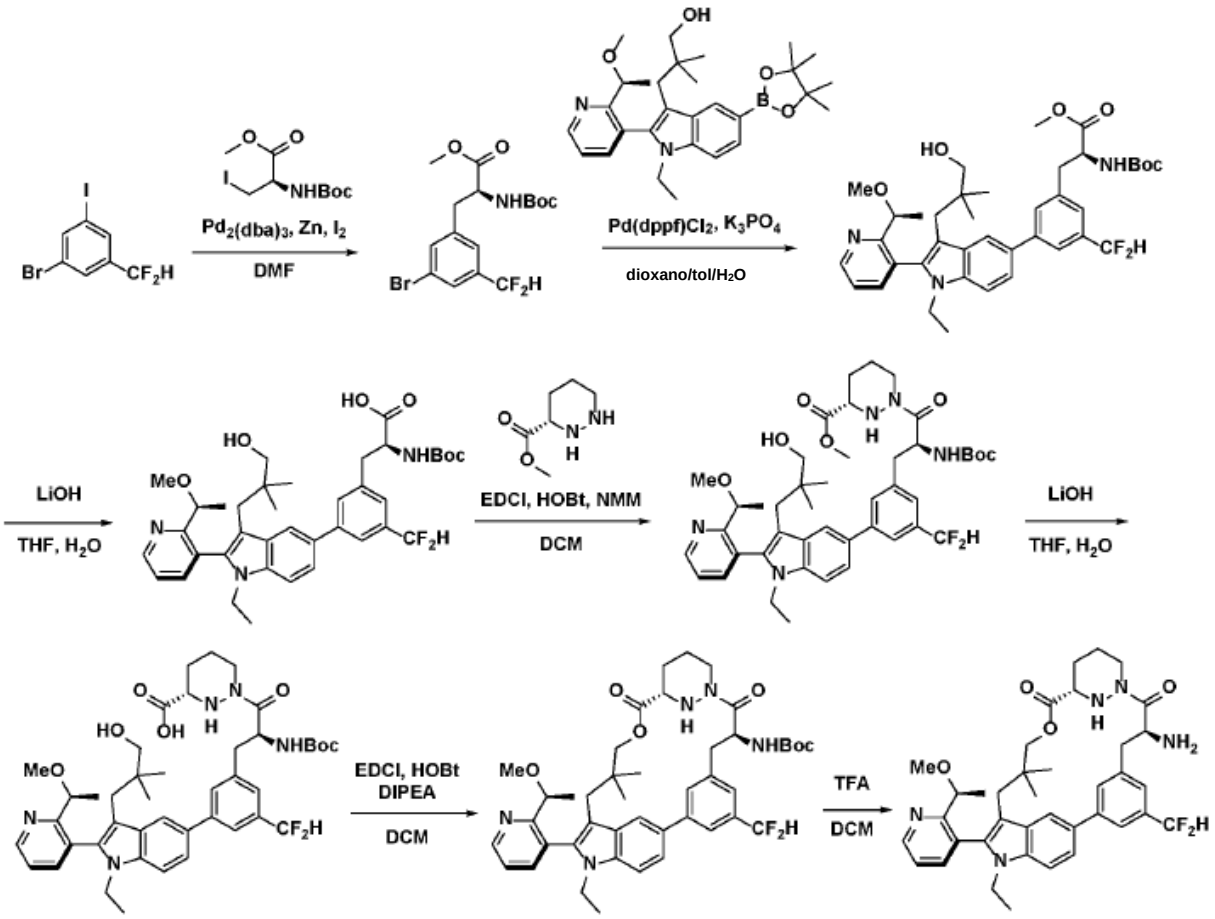
A una solución agitada de ácido (S)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (101 g, 130,50 mmol) en DCM (5500 mL) se añadió DIPEA (227,31 mL, 1305,0 mmol), HOBt (88,17 g, 652,499 mmol), y EDCI (375,26 g, 1957,498 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Luego la mezcla se lavó con 0,5 M de HCl (2 x 2000 ml), salmuera (2 x 2000 ml), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (68 g, 65 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{54}FN_5O_6$: 756,42; se encontró 756,4.

Paso 8: Síntesis de (2S)-N-((6^{3}S, 4S)-1^1-etilo-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)-3-metil-2-(metilamino)butanamida

A una solución agitada de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxano-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-

indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)carbamato (350 mg, 0,403 mmol) en DCM (4 mL) se añadió TFA (1,5 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h y luego se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado. (600 mg, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{38}H_{46}FN_5O_4$: 656,36; se encontró 656,4.

Intermedio 7. Síntesis de (6³S,4S)-4-amino-2⁵-(difluorometil)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-3-(3-bromo-5-(difluorometil)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoato

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 1000 mL se añadió polvo de Zn (43,42 g, 663,835 mmol) e I_2 (1,30 g, 5,106 mmol) en DMF (400 mL) a temperatura ambiente. A la mezcla anterior se añadió una solución de metilo (2R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-yodopropanoato (36,42 g, 110,64 mmol) en DMF (10 mL). La mezcla se calentó a 30 °C durante 10 min. Después se añadió, gota a gota, a la mezcla una solución de metilo (2R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-yodopropanoato (72,83 g, 221,28 mmol) en DMF (20 mL) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 30 min. La mezcla se filtró y la solución se añadió a una mezcla de 1-

bromo-3-(difluorometil)-5-yodobenceno (85,0 g, 255,321 mmol), tris(furan-2-il)fosfano (3,56 g, 15,319 mmol) y $Pd_2(dba)_3$ (4,68 g, 5,106 mmol) en DMF (400 mL) a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 10 min y luego se retiró del baño de aceite y se agitó durante 1 h hasta que la temperatura de la mezcla resultante se enfrió a 50 °C. La reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso sat. (3000 ml) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1000 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 1000 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron, y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 9 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (59 g, 56,6 % de rendimiento).

Paso 2: Síntesis de metil (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoato

Una mezcla de metilo (2S)-3-[3-bromo-5-(difluorometil)fenil]-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoato (90,0 g, 220,459 mmol), (S)-3-(1-etil-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (1,50 g, 3,046 mmol), $Pd(dppf)Cl_2$ (16,13 g, 22,046 mmol) y K_3PO_4 (116,99 g, 551,148 mmol) en dioxano (600 ml), H_2O (200 ml) y tolueno (200 ml) se agitó durante 2 h a 70 °C. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y luego se diluyó con H_2O (300 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (3 x 500 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (128 g, 83,7% de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{39}H_{49}F_2N_3O_6$: 694,37; se encontró 694,2.

Paso 3: Síntesis de ácido (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoico

A una solución agitada de metilo (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoato (125,0 g, 180,159 mmol) en THF (800 ml) se añadió $LiOH·H_2O$ (11,48 g, 479,403 mmol) en H_2O (200 ml) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0 °C. La mezcla se acidificó a pH 6 con 1 M de Hcl (acuoso) y luego se extrajo con EtOAc (3 x 800 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 200 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (125 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{38}H_{47}F_2N_3O_6$: 680,37; se encontró 680,2.

Paso 4: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución agitada de metilo (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato (39,77 g, 275,814 mmol) y NMM (185,98 g, 1838,760 mmol) en DCM (1500 ml) se añadió (S)-2-((terc-

butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoico (125,0 g, 183,876 mmol), HOBt (12,42 g, 91,938 mmol) y EDCI (70,50 g, 367,752 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Luego se lavó la mezcla de reacción con 0,5 M de HCl (2 x 1000 mL) y salmuera (2 x 800 mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (110 g, 74,2 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{57}F_2N_5O_7$: 806,43; se encontró 806,2.

Paso 5: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución agitada de metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (110,0 g, 136,482 mmol) en THF (800 mL) se añadió una solución de $LiOH{\bullet}H_2O$ (17,18 g, 409,446 mmol) en H_2O (200 mL) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0 °C y luego se neutralizó a pH 6 con 0,5 M de HCl. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 800 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 600 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (100 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{55}F_2N_5O_7$: 792,42; se encontró 792,4.

Paso 6: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxano-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)carbamato

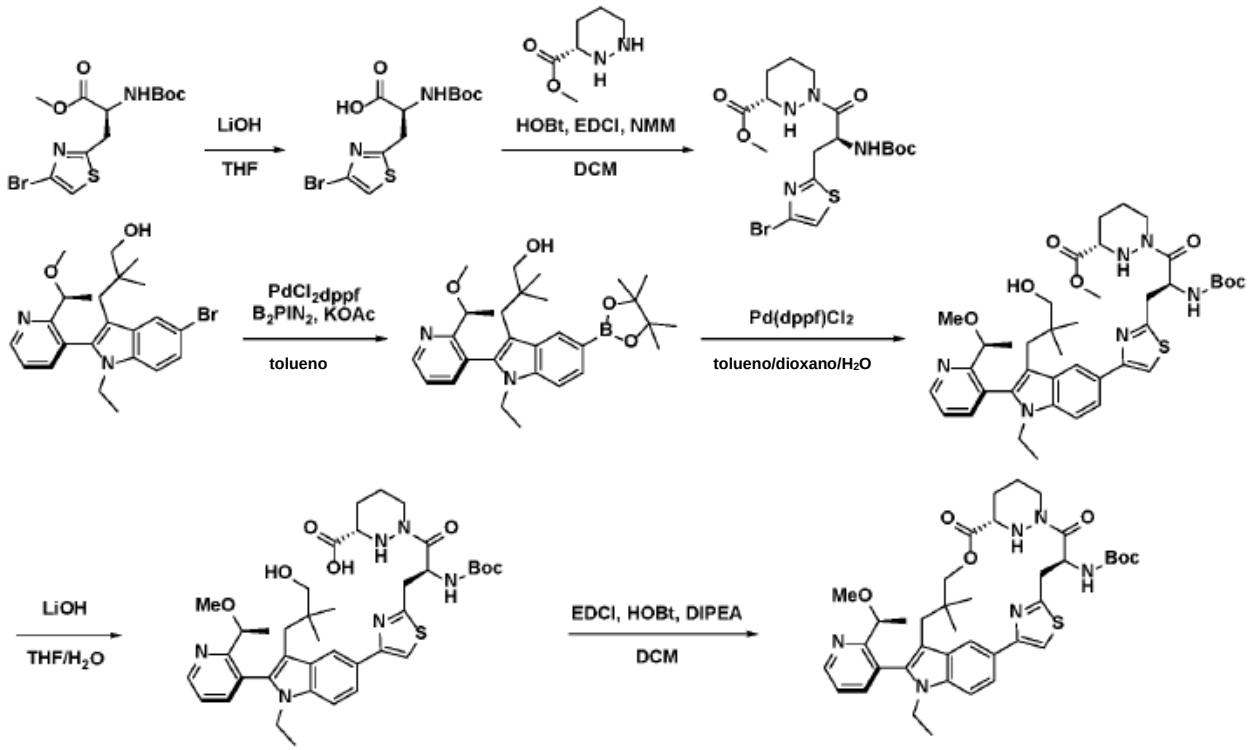
A una solución agitada de (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (100,0 g, 126,273 mmol) en DCM (6000 mL) se añadió DIPEA (163,20 g, 1262,730 mmol), HOBt (85,31 g, 631,365 mmol), y EDCI (363,10 g, 1894,095 mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Luego la mezcla se lavó con 0,5 M de HCl (2 x 2000 ml), salmuera (2 x 2000 ml), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (70 g, 71,6 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{53}F_2N_5O_6$: 774,41; se encontró 774,0.

Paso 7: Síntesis de ((6^{3}S,4S)-4-amino-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-5,7-diona

A una solución agitada de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxano-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-

1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)carbamato (202,0 mg, 0,261 mmol) en DCM (2 mL) se añadió TFA (1,0 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a 0 °C y luego se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{38}H_{45}F_2N_5O_4$: 674,35; se encontró 674,5.

Intermedio 8. Síntesis de terc-butilo ((6³S,4S,Z)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)carbamato



Paso 1: Síntesis de ácido (S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoico.

A una solución de metilo (2S)-3-(4-bromo-1,3-tiazol-2-il)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoato (110 g, 301,2 mmol) en THF (500 mL) y H_2O (200 mL) a temperatura ambiente se añadió LiOH (21,64 g, 903,6 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h y luego se concentró a presión reducida. El residuo resultante se ajustó a pH 6 con 1 M de HCl y luego se extrajo con DCM (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (108 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{11}H_{15}BrN_2O_4S$: 351,00; se encontró 351,0.

Paso 2: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de ácido (S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-((terc-

butoxicarbonil)amino)propanoico (70 g, 199,3 mmol) en DCM (500 mL) a 0°C se añadió sal de metilo (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato bis(ácido trifluoroacético) (111,28 g, 298,96 mmol), NMM (219,12 mL, 1993,0 mmol), EDCI (76,41 g, 398,6 mmol) y HOBt (5,39 g, 39,89 mmol). La solución resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Luego la reacción se inactivó con H_2O (500 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 0-50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (88,1 g, 93 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{17}H_{25}BrN_4O_5S$: 477,08; se encontró 477,1.

Paso 3: Síntesis de (S)-3-(1-etil-2-(2-1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol

A una solución de 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropano-1-ol (60 g, 134,7 mmol) en tolueno (500 mL) a temperatura ambiente se añadió bis(pinacolato)diboro (51,31 g, 202,1 mmol), $Pd(dppf)Cl_2$ (9,86 g, 13,48 mmol) y KOAc (26,44 g, 269,4 mmol). Luego la mezcla de reacción se calentó a 90 °C y se agitó durante 2 h. Luego, la solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. La purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 0-50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (60,6 g, 94 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{29}H_{41}BN_2O_4$: 493,32; se encontró 493,3.

Paso 4: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de (S)-3-(1-etil-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (30 g, 60,9 mmol) en tolueno (600 ml), dioxano (200 ml) y H_2O (200 mL) a temperatura ambiente se añadió metilo (S)-1-((S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (43,62 g, 91,4 mmol), K_3PO_4 (32,23 g, 152,3 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (8,91 g, 12,18 mmol). La solución resultante se calentó hasta 70 °C y se agitó durante la noche. Luego, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se inactivó con H_2O (200 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 1000 mL) y las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 0-90 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (39,7 g, 85% de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{40}H_{54}N_6O_7S$: 763,39; se encontró 763,3.

Paso 5: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

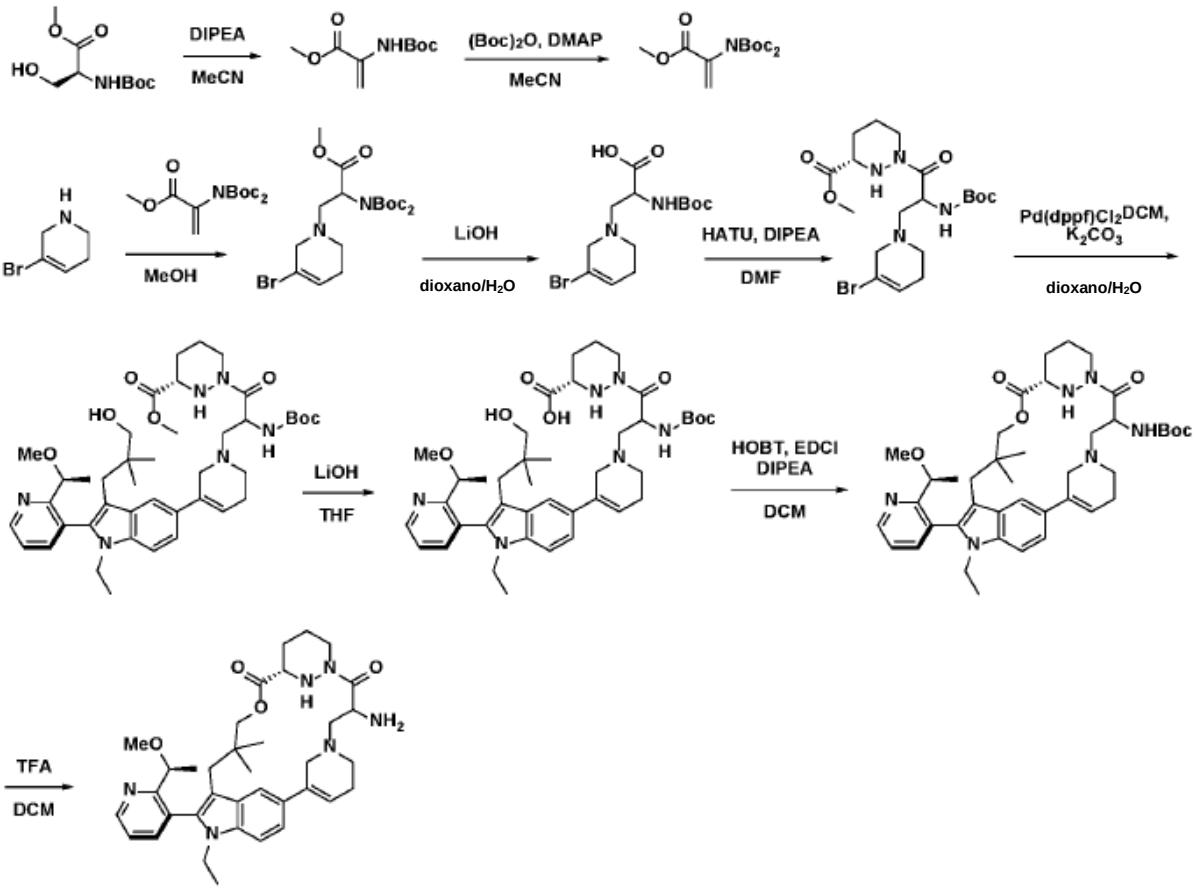
A una solución de metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-3-(3-hidroxi-

2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (39,7 g, 52,0 mmol) en THF (400 ml) y H_2O (100 ml) a temperatura ambiente se añadió $LiOH \cdot H_2O$ (3,74 g, 156,2 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 1,5 h y luego se concentró a presión reducida. El residuo se acidificó a pH 6 con HCl 1 M y se extrajo con DCM (3 x 1000 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (37,9 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{39}H_{52}N_6O_7S$: 749,37; se encontró 749,4.

Paso 6: Síntesis de terc-butilo ($(6^3S,4S,Z)$-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)carbamato

A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropi)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (37,9 g, 50,6 mmol), HOBt (34,19 g, 253,0 mmol) y DIPEA (264,4 ml, 1518 mmol) en DCM (4 L) a 0 °C se añadió EDCI (271,63 g, 1416,9 mmol). La mezcla resultante se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Luego, la mezcla de reacción se inactivó con H_2O y se lavó con 1 M de HCl (4 x 1 L). La capa orgánica se separó y concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 0-70 % /éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (30 g, 81 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{39}H_{50}N_6O_6S$: 731,36; se encontró 731,3.

Intermedio 9. Síntesis de (6^3S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-$2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-decahidro-$1^1$H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo 2-((terc-butoxicarbonil)amino)acrilato

A una solución de metilo (terc-butoxicarbonil)-L-serina (10 g, 45 mmol) en MeCN anhidro (150 mL) se añadió DIPEA (17 g, 137 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 45 °C durante 2 h para proporcionar el producto en solución. LCMS (ESI) *m/z* [M + Na] calculado para $C_9H_{15}NO_4$ 201,1; se encontró: 224,1.

Paso 2: Síntesis de metilo 2-(bis(terc-butoxicarbonil)amino)acrilato

A una solución de metilo 2-((terc-butoxicarbonil)amino)acrilato de metilo (12 g, 60 mmol) en MeCN anhidro (150 mL) a 0 °C, se agregó DMAP (13 g, 90 mmol) y $(Boc)_2$º (26 g, 120 mmol). La reacción se agitó durante 6 h más y luego se inactivó con H_2O (100 mL) y se extrajo con DCM (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (12,5 g, 65 % de rendimiento) en forma de sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + Na] calculado para $C_{14}H_{23}NO_6$ 301,2; se encontró: 324,1.

Paso 3: Síntesis de metilo 2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-bromo-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoato

A una mezcla de 5-bromo-1,2,3,6-tetrahidropiridina (8,0 g, 49 mmol) en MeOH (120 mL) en una atmósfera de Ar se agregó 2-{bis[(terc-butoxi)carbonil]amino)prop-2-enoato de metilo (22

g, 74 mmol). La mezcla se agitó durante 16 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (12 g, 47 % de rendimiento) en forma de un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{19}H_{31}BrN_2O_6$ 462,1; se encontró: 463,1.

Paso 4: Síntesis de ácido 3-(5-bromo-3,6-dihidropiridina-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoico

A una mezcla de metilo 2-(bis(terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-bromo-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoato (14 g, 30 mmol) en dioxano (30 mL) y H_2O (12 mL) se añadió LiOH (3,6 g, 151 mmol). La mezcla se calentó a 35 °C y se agitó durante 12 h, luego se agregó 1M de HCl y el pH se ajustó hasta ~3-4. La mezcla se extrajo con DCM (2 x 300 mL) y las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (10 g, 85 % rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{13}H_{21}BrN_2O_4$ 348,1; se encontró: 349,0.

Paso 5: Síntesis de metilo (3S)-1-(3-(5-bromo-3,6-dihidropiridina-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una mezcla de ácido 3-(5-bromo-3,6-dihidropiridina-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoico (10 g, 30 mmol), DIPEA (12 g, 93 mmol) y metilo (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato (5,4 g, 37 mmol) en DMF (100 mL) a 0 °C en atmósfera de Ar se añadió HATU (13 g, 34 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se añadió H_2O y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa para proporcionar el producto (9,0 g, 55 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{19}H_{31}BrN_4O_5$ 474,1; se encontró: 475,1.

Paso 6: Síntesis de metilo (3S)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

Una mezcla de metilo (3S)-1-(3-(5-bromo-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (9,0 g, 18 mmol), K_2CO_3 (4,5 g, 32 mmol), Pd(dppf)Cl_2.DCM (1,4 g, 2 mmol), 3-(1-etil-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (9,8 g, 20 mmol) en dioxano (90 ml) y H_2O (10 ml) en una atmósfera de Ar se calentó a 75 °C y se agitó durante 2h. Se añadió H_2O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (4,0 g, 25 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{42}H_{60}N_6O_7$ 760,5; se encontró: 761,4.

Paso 7: Síntesis de ácido (3S)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-

il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una mezcla de metilo (3S)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (4,1 g, 5,0 mmol) en THF (35 mL) a 0 °C se añadió LiOH (0,60 g, 27 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1,5 h, luego se añadió 1 M de HCl para ajustar el PH a 6-7 y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (3,6 g, 80% rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{41}H_{58}N_6O_7$ 746,4; se encontró: 747,4.

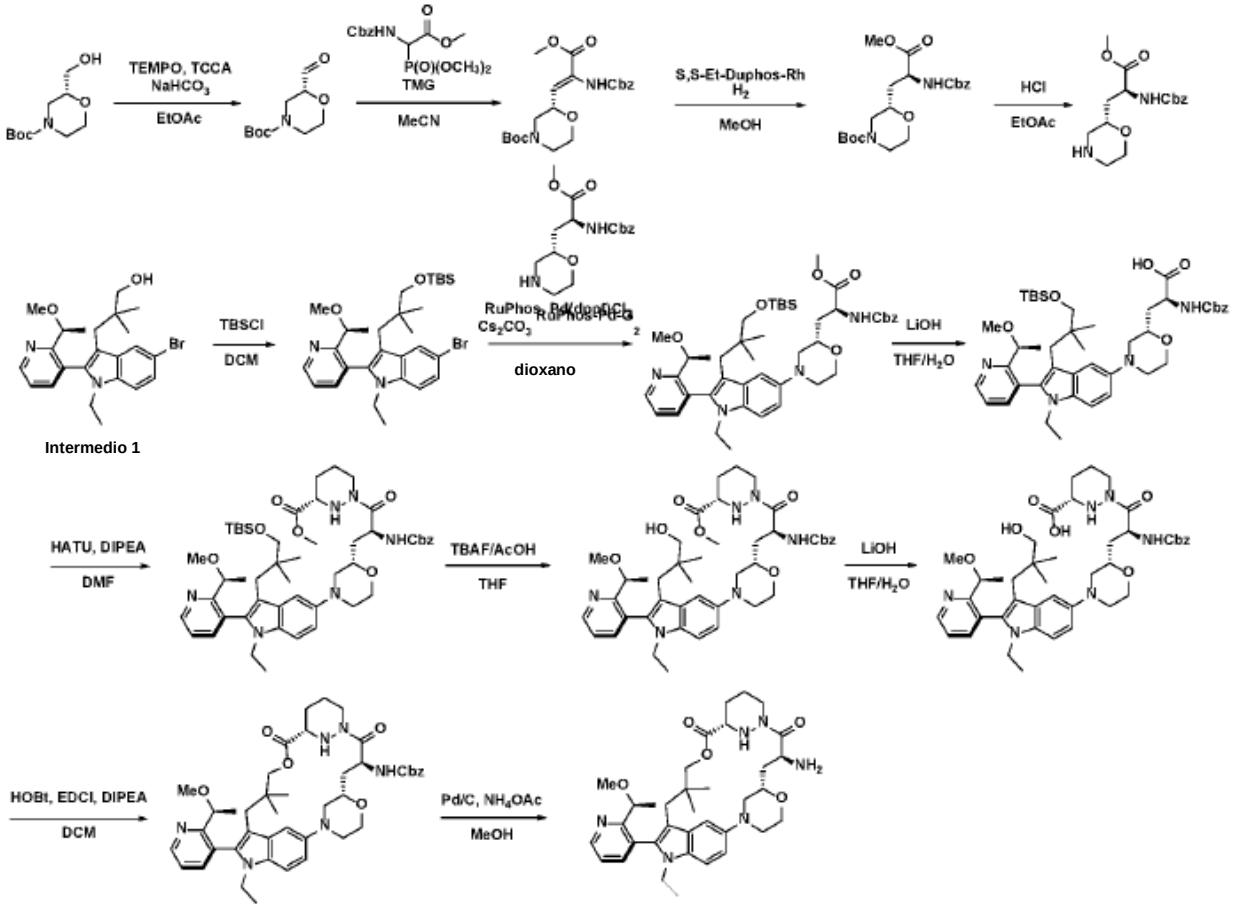
Paso 8: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil-piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-4-il)carbamato

A una mezcla de ácido (3S)-1-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (3,6 g, 5,0 mmol) y DIPEA (24 g, 190 mmol) en DCM (700 mL) en una atmósfera de Ar se añadió EDCI·HCl (28 g, 140 mmol) y HOBt (6,5 g, 50 mmol). La mezcla se calentó a 30 °C y se agitó durante 16 h a 30 °C, luego se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc (200 mL) y se lavó con H_2O (2 x 200 mL), salmuera (200 mL), se secó en Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (1,45 g, 40 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{41}H_{56}N_6O_6$ 728,4; se encontró: 729,4.

Paso 9: Síntesis de ((6^{3}S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-5,7-diona

A una mezcla de terc-butilo ((6^{3}S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil—5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-4-il)carbamato (130 mg, 0,20 mmol) en DCM (1,0 mL) a 0 °C se añadió TFA (0,3 mL). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, luego se concentró a presión reducida para proporcionar el producto, que se usó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{36}H_{48}N_6O_4$ 628,4; se encontró: 629,4.

Intermedio 10. Síntesis de (2^{2}S, 6^{3}S, 4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2).morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (2R)-2-formilmorfolin-4-il-formato

A una solución de terc-butilo (2R)-2-(hidroximetil)morfolin-4-il formato (50 g, 230 mmol) en EtOAc (1 L) se añadió TEMPO (715 mg, 4,6 mmol) y $NaHCO_3$ (58 g, 690 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se enfrió hasta -50 °C, luego se añadió TCCA (56 g, 241 mmol) en EtOAc (100 mL) gota a gota durante 30 min. La mezcla de reacción se calentó a 5 °C durante 2 h, luego se inactivó con $Na_2S_2O_3$ al 10 % (200 mL) y se agitó durante 20 min. La mezcla resultante se filtró y la fase orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (100 ml) y salmuera (100 ml), luego se secaron en Na_2SO_4 anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (50 g, bruto) como un aceite.

Paso 2: Síntesis del producto terc-butilo (S,Z)-2-(2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)morfolin-4-carboxilato

A una solución de terc-butilo (2R)-2-formilmorfolin-4-il formato (49 g, 153 mmol) y metilo 2-{[(benciloxi)carbonil]amino}-2-(dimetoxifosforil)acetato (60 g, 183 mmol) en MeCN (300 ml) se añadió tetrametilguanidina (35 g, 306 mmol) a 0-10 °C. La mezcla de reacción se agitó a 10 °C durante 30 min y luego se calentó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (200 ml) y se lavó con ácido cítrico al 10 % (200 ml) y $NaHCO_3$ acuoso sat. al 10 % (200 mL). La fase orgánica se concentró a presión reducida, y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (36 g, 90 % de

rendimiento) en forma de sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + Na] calculado para $C_{21}H_{28}N_2O_4$ 420,2; se encontró: 443,1

Paso 3: Síntesis de terc-butilo (S)-2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-metoxi-3-oxopropil)morfolina-4-carboxilato

A una solución de terc-butilo (S,Z)-2-(2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)morfolina-4-carboxilato (49 g, 0,12 mol) en MeOH (500 ml) se añadió (S,S)-Et-DUPHOS-Rh (500 mg, 0,7 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de H_2 (60 psi) durante 48 h. La reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (44 g, 90 % de rendimiento) en forma de sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + Na] calculada para $C_{21}H_{30}N_2O_7$ 422,2; se encontró: 445,2.

Paso 4: Síntesis de metilo (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-morfolin-2-il)propanoato.

A una solución agitada de terc-butil (S)-2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-metoxi-3-oxopropil)morfolina-4-carboxilato (2,2 g, 5,2 mmol) en EtOAc (2 ml) se añadió HCl/EtOAc (25 mL) a 15 °C. La reacción se agitó a 15 °C durante 2 h, luego se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (1,51 g, 90 % de rendimiento), en forma de un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{16}H_{22}N_2O_5$ 322,1; se encontró: 323,2.

Paso 5: Síntesis de (S)-5-bromo-3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol

A una solución de 3-(5-bromo-1-etil-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il)indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (100 g, 0,22 mol) e imidazol (30,6 g, 0,45 mol) en DCM (800 ml) se añadió TBSCl (50,7 g, 0,34 mol) en DCM (200 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución resultante se lavó con H_2O (3 x 300 ml) y salmuera (2 x 200 ml), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (138 g, 90 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{29}H_{43}BrN_2O_2Si$ 558,2; se encontró: 559,2.

Paso 6: Síntesis de metilo (2S)-2-{[(benciloxi)carbonil]amino)-3-[(2S)-4-(3-{3-[(terc-butildimetilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il)indol-5-il)morfolin-2-il]propanoato

A una solución agitada de (S)-5-bromo-3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol (50 g, 89,3 mmol) en dioxano (500 ml) y metilo (2S)-2-{[(benciloxi)carbonil]amino)-3-[(2S)-morfolin-2-il]propanoato (31,7 g, 98,2 mmol), RuPhos (16,7 g, 35,7 mmol), di-μ-clorobis(2-amino-1,1-bifenil-2-il-C,N)dipaladio(II) (2,8 g , 4,4 mmol) y carbonato de cesio (96 g, 295 mmol) seguido de RuPhos-Pd-G2 (3,5 g, 4,4 mmol) a 105 °C en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se agitó durante 6 h a 105 °C en una atmósfera de N_2. La mezcla resultante se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía TLC preparativa para proporcionar el producto (55 g, 73 % de

rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{45}H_{64}N_4O_7Si$ 800,5; se encontró: 801,5.

Paso 7: Síntesis de ácido (2S)-2-{[(benciloxi)carbonil]amino)-3-[(2S)-4-(3-{3-[(terc-butildimetilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il)indol-5-il)morfolin-2-il]propanoico

A una solución de metilo (2S)-2-{[(benciloxi)carbonil]amino)-3-[(2S)-4-(3-{3-[(terc-butildimetilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il)indol-5-il)morfolin-2-il]propanoato (10 g, 12 mmol) en THF (270 mL) se añadió LiOH (1,3 g, 31 mmol) en H_2O (45 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se trató con 1 N de HCl para ajustar el PH a 4~5 a 0~5 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Luego la fase orgánica se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (9,5 g, 97 % de rendimiento) en forma de sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{62}N_4O_7Si$ 786,4; se encontró: 787,4.

Paso 8: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución agitada de ácido (2S)-2-{[(benciloxi)carbonil]amino)-3-[(2S)-4-(3-{3-[(terc-butildimetilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il)indol-5-il)morfolin-2-il]propanoico (10 g, 12,7 mmol) en DMF (150 ml) se añadió metilo (S)-hexahidropiridazina-3-carboxilato (2 g, 14 mmol), luego se enfrió a 0 °C, se añadió DIPEA (32,8 g, 254 mmol) seguido de HATU (9,7 g, 25,4 mmol) a 0~5 ºC. La mezcla de reacción se agitó a 0~5 °C durante 1 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (500 ml) y H_2O (200 ml). La capa orgánica se separó y se lavó con H_2O (2 x 100 mL) y salmuera (100 mL), se secó en sulfato de sodio anhidro. La solución se filtró y se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{72}N_6O_8Si$ 912,5; se encontró: 913,4.

Paso 9: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de metilo (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (8,5 g, 9 mmol) en THF (8 ml) se añadió una mezcla de fluoruro de tetrabutilamonio (1 M en THF, 180 ml, 180 mmol) y AcOH (11 g, 200 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 75 °C durante 3 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (150 mL) y se lavó con H_2O (6 x 20 mL). La fase orgánica se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (7,4 g, 100 % de rendimiento) en forma de sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{58}N_6O_8$ 799,4; se encontró: 798,4.

Paso 10: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (8 g, 10 mmol) en THF (200 ml) se añadió LiOH (600 mg, 25 mmol) en H_2O (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se trató con 1 N de Hcl para ajustar el pH a 4~5 °C a 0~5 °C, y se extrajo con EtOAc (2 x 500 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (8 g, bruto) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{56}N_6O_8$ 784,4; se encontró: 785,4.

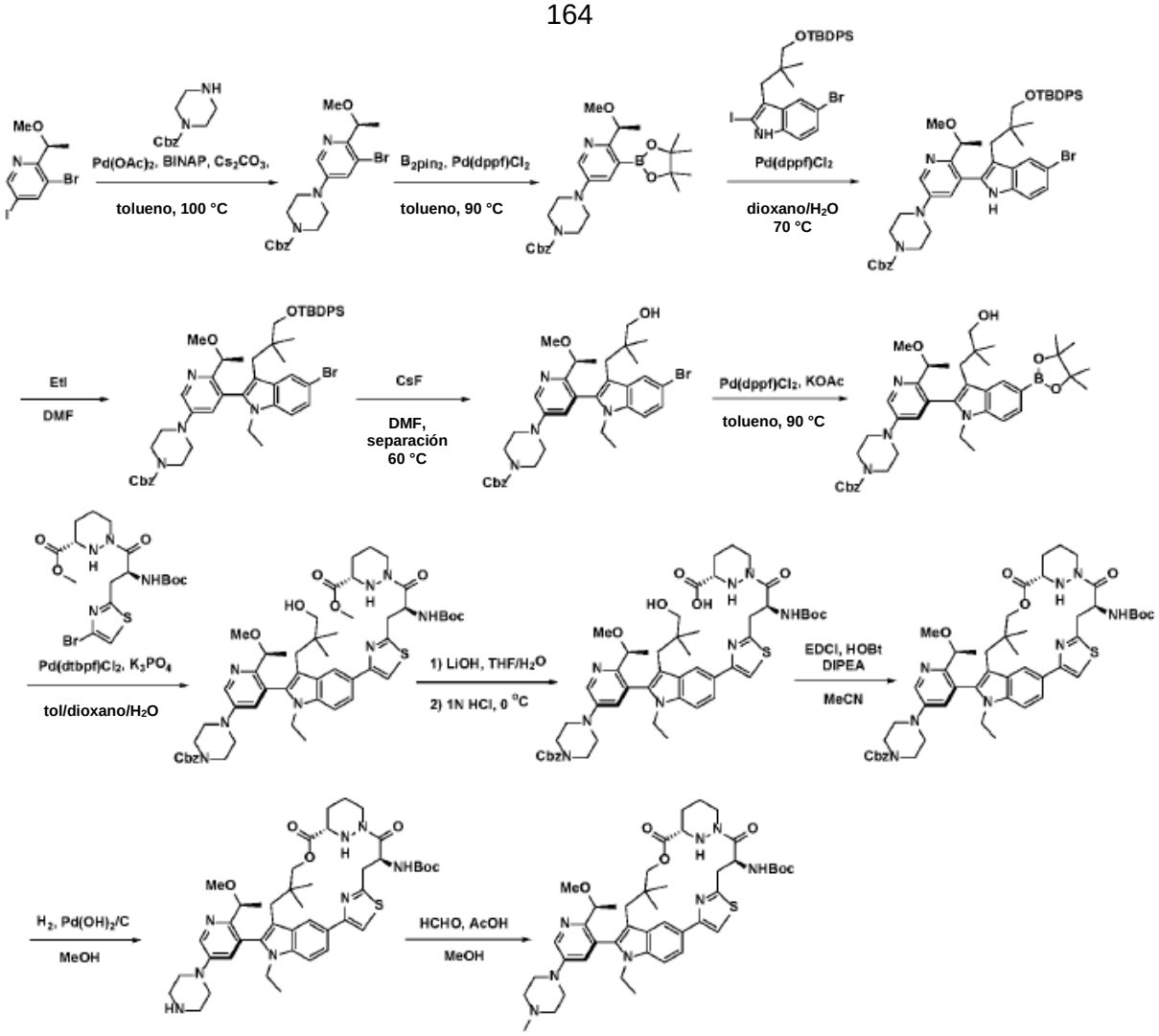
Paso 11: Síntesis de producto bencilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)carbamato

A una solución agitada de ácido (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (8 g, 10,2 mmol) y DIPEA (59 g, 459 mmol) en DCM (800 mL) se añadió EDCI (88 g, 458 mmol) y HOBt (27,6 g, 204 mmol) a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla resultante se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto (5 g, 66 % de rendimiento) en forma de un sólido; LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{54}N_6O_7$ 766,4; se encontró: 767,4.

Paso 12: Síntesis de (2^{2}S,6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución de bencilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-carbamato (400 mg, 0,5 mmol) en MeOH (20 mL) se añadió Pd/C (200 mg) y acetato de amonio (834 mg, 16 mmol) a temperatura ambiente en una atmósfera de H_2 y la mezcla se agitó durante 2 h. La mezcla resultante se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se volvió a disolver en DCM (20 mL) y se lavó con H_2O (5 mL x 2), luego se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (320 mg, 97% de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{35}H_{48}N_6O_5$ 632,4; se encontró: 633,3.

Intermedio 11. Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S,Z)-11-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)carbamato



Paso 1: Síntesis de bencilo (S)-4-(5-bromo-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 3 L purgado y mantenido con una atmósfera inerte de argón, se colocó 3-bromo-5-yodo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (147 g, 429,8 mmol), bencilo 1-carboxilato de piperazina (94,69 g, 429,8 mmol), $Pd(OAc)_2$ (4,83 g, 21,4 mmol), BINAP (5,35 g, 8,6 mmol), Cs_2CO_3 (350,14 g, 1074,6 mmol), tolueno (1 L). La solución resultante se agitó durante la noche a 100 °C en un baño de aceite. Luego, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/hexanos) para proporcionar el producto (135 g, 65 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) ***m /z*** [M + H] calculado para $C_{20}H_{24}BrN_3O_3$ 433,1; se encontró: 434,1.

Paso 2: Síntesis de bencilo (S)-4-(6-(1-metoxietil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 3 L purgado y mantenido con una atmósfera inerte de argón, se colocó bencilo 4-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-

il]piperazina-1-carboxilato (135 g, 310,8 mmol), bis(pinacolato)diboro (86,82 g, 341,9 mmol), Pd(dppf)Cl_2 (22,74 g, 31,0 mmol), KOAc (76,26 g, 777,5 mmol), tolueno (1 L). La solución resultante se agitó durante 2 días a 90 °C en un baño de aceite. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de alúmina neutra (EtOAC/hexano al 30 %) para dar el producto (167 g, bruto) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{26}H_{36}BN_3O_5$ 481,3; se encontró: 482,1.

Paso 3: Síntesis de bencilo (S)-4-(5-(5-bromo-3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 3 L, purgado y mantenido con una atmósfera inerte de argón, se colocó (S)-4-(6-(1-metoxietil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato (167 g, 346,9 mmol), 5-bromo-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-yodo-1H-indol (224,27 g, 346,9 mmol), Pd(dppf)Cl_2 (25,38 g, 34,6 mmol), dioxano (600 ml), H_2O (200 ml), K_3PO_4 (184,09 g, 867,2 mmol), tolueno (200 ml). La solución resultante se agitó durante la noche a 70 ºC en un baño de aceite. La mezcla de reacción se enfrió luego hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/hexano) para proporcionar el producto (146 g, 48 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{57}BrN_4O_4Si$ 872,3; se encontró: 873,3.

Paso 4: Síntesis de bencilo (S)-4-(5-(5-bromo-3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato

A una mezcla agitada de bencilo (S)-4-(5-(5-bromo-3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato (146 g, 167,0 mmol) y Cs_2CO_3 (163,28 g, 501,1 mmol) en DMF (1200 ml) se añadió yoduro de etilo (52,11 g, 334,0 mmol) en porciones a 0 °C en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción final se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (1 L) y se lavó con salmuera (3 x 1,5 L). Las capas orgánicas se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (143 g, bruto) en forma de un sólido, el cual se usó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{61}BrN_4O_4Si$ 900,4; se encontró: 901,4.

Paso 5: Síntesis de bencilo (S)-4-(5-(5-bromo-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato

A una mezcla agitada de bencilo (S)-4-(5-(5-bromo-3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato (143 g, 158,5 mmol) en DMF (1250 mL) se añadió CsF (72,24 g, 475,5 mmol). Luego la mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 2 días en atmósfera de N_2. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (1 L) y se lavó con salmuera (3 x 1 L). Luego la fase orgánica se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 30

%/éter de petróleo) para proporcionar dos atropisómeros A (38 g, 36 % rendimiento) y B (34 g, 34 % rendimiento) ambos como sólidos. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{35}H_{43}BrN_4O_4$ 663,2; se encontró: 662,2.

Paso 6: Síntesis de bencilo (S)-4-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indoI-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 500 mL purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó bencilo (S)-4-(5-(5-bromo-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-iI)piperazina-1-carboxilato (14 g, 21,1 mmol), bis(pinacoIato)diboro (5,89 g, 23,21 mmol), Pd(dppf)Cl_2 (1,54 g, 2,1 mmol), KOAc (5,18 g, 52,7 mmol), tolueno (150 mL). La solución resultante se agitó durante 5 h a 90 ºC en un baño de aceite. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 30 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto (12 g, 76 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{41}H_{55}BN_4O_6$ 710,4; se encontró: 711,3.

Paso 7: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(2-(5-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)tiazoI-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de 250 mL, purgado y matenido con una atmósfera inerte de argón, se colocó bencilo (S)-4-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indoI-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato (10,8 g, 15,2 mmol), metilo (3S)-1-[(2S)-3-(4-bromo-1,3-tiazoI-2-il)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato (7,98 g, 16,7 mmol), Pd(dtbpf)Cl_2 (0,99 g, 1,52 mmol), K_3PO_4 (8,06 g, 37,9 mmol), tolueno (60 ml), dioxano (20 ml), H_2O (20 ml). La solución resultante se agitó durante 3 h a 70 °C en un baño de aceite. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. La solución resultante se extrajo con EtOAc (2 x 50 mL) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 10 %/hexano). El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar el producto (8 g, 51 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{68}N_8O_9S$ 980,5; se encontró: 980,9.

Paso 8: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-3-(4-(2-(5-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-iI)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-iI)tiazoI-2-iI)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una mezcla agitada de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(2-(5-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)tiazoI-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (12 g, 12,23 mmol) en THF (100 mL)/H_2O (100 mL) se añadió LiOH (2,45 g, 61,1 mmol) en una atmósfera de N_2 y la mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Se eliminó THF a presión

reducida. El pH de la fase acuosa se acidificó hasta 5 con 1 N de HCl a 0 °C. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 100 mL). La fase orgánica se concentró a presión reducida para proporcionar un producto (10 g, 85 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{66}N_8O_9S$ 966,5; se encontró: 967,0.

Paso 9: Síntesis de bencilo 4-(5-((6^{3}S,4S,Z)-4-((terc-butoxicarbonil)amino)-1^1-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-1^2-il)-6-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de 3 L, purgado y matenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó ácido (S)-1-((S)-3-(4-(2-(5-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (18 g, 18,61 mmol), MeCN (1,8 L), DIPEA (96,21 g, 744,4 mmol), EDCI (107,03 g, 558,3 mmol) y HOBt (25,15 g, 186,1 mmol). La solución resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se concentró a presión reducida. La solución resultante se diluyó con DCM (1 L) y se lavó con 1 M de HCl (3 x 1 L), y H_2O (3 x 1 L). Luego la capa orgánica se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50 %/hexano) para proporcionar el producto (10,4 g, 55 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{64}N_8O_8S$ 948,5; se encontró: 949,3.

Paso 10: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-(piperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indolа-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)carbamato

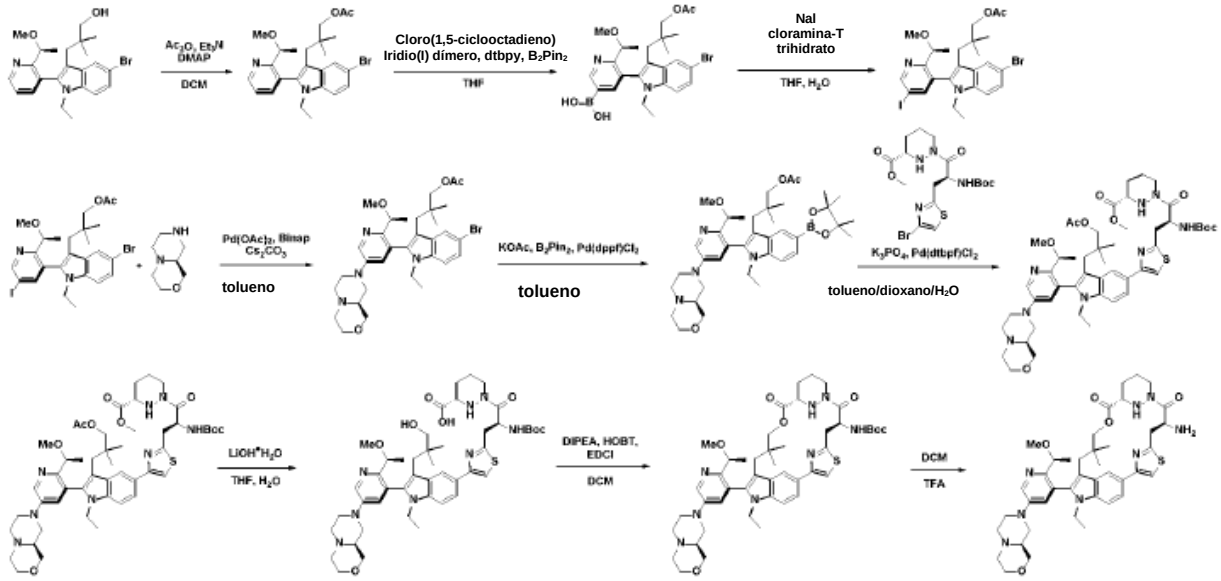
En un matraz de fondo redondo de 250 mL, purgado y matenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó bencilo 4-(5-((6^{3}S,4S,Z)-4-((terc-butoxicarbonil)amino)-1^1-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazolа-1(5,3)-indolа-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-1^2-il)-6- ((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato (10,40 g, 10,9 mmol), $Pd(OH)_2$/C (5 g,46,9 mmol), MeOH (100 mL). La solución resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente en una atmósfera de H_2 a 2 atm. Los sólidos se retiraron mediante filtración y la torta de filtro se lavó con MeOH (3 x 100 mL). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (8,5 g, 90 % rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{58}N_8O_6S$ 814,4; se encontró: 815,3.

Paso 11: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-(4-(metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazolа-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)carbamato

En un matraz de fondo redondo de 1000 mL, purgado y matenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó terc-butilo ((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-(piperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazolа-1(5,3)-indolа-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)carbamato (8,5 g, 10,4 mmol), MeOH (100 ml), AcOH (1,88 g, 31,2 mmol). La solución se agitó durante 15 min y luego se añadió HCHO

(1,88 g, 23,15 mmol, 37 % de solución acuosa) y $NaBH_3CN$ (788 mg, 12,5 mmol) a temperatura ambiente. La solución resultante se agitó durante 3 h. Luego la mezcla se inactivó con H_2O (100 mL) y se concentraron a presión reducida para eliminar MeOH. La solución resultante se diluyó con DCM (300 mL) y se lavó con H_2O (3 x 100 mL). La solución se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (8,2 g, 90 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{60}N_8O_6S$ 828,4; se encontró: 829,3.

Intermedio 12: Síntesis de (6[3]S,4S,Z)-4-amino-1[1]-etil-1[2]-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6[1],6[2],6[3],6[4],6[5],6[6]-hexahidro-1[1]H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de acetato de (S)-3-(5-bromo-1-etil-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de (S)-3-(5-bromo-1-etil-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (100 g, 224,517 mmol) y Et_3N (45,44 g, 449,034 mmol) en DCM (1 L) se añadió DMAP (2,74 g, 22,452 mmol) y AC_2O (27,50 g, 269,420 mmol) en porciones a 0 °C en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y luego se diluyó con EtOAc (1000 mL). La mezcla resultante se lavó con 1 M de HCl (500 ml), luego se lavó con $NaHCO_3$ sat. (500 mL) y salmuera (500 mL) y se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante trituración con éter de petróleo (500 ml) para producir el producto (93,3 g, 85 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. LCMS (ESI) ***m/z*** [M + H] calculado para $C_{25}H_{31}BrN_2O_3$: 487,16; se encontró 489,2

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-5-bromo-1-etil-1H-indol-

2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)borónico

A una solución agitada de acetato de (S)-3-(5-bromo-1-etil-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (93,3 g, 191,409 mmol) y B_2PIN_2 (72,91 g, 287,113 mmol) en THF (370 ml) se añadió dtbpy (7,71 g, 28,711 mmol) y dímero de cloro(1,5-ciclooctadieno)iridio(I) (6,43 g, 9,570 mmol) en porciones a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche a 75 °C. La mezcla resultante se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (190 g, bruto) en forma de un aceite. LCMS(ESI) ***m /z*** [M + H]; calculado para $C_{25}H_{32}BBrN_2O_5$: 531,17; se encontró 533,3

Paso 3: Síntesis de acetato (S)-3-(5-bromo-1-etil-2-(5-yodo-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de ácido (S)-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-5-bromo-1-etil-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridina-3-il)borónico (110 g, 207,059 mmol) y cloramina-T trihidrato (349,96 g, 1242,354 mmol) en THF (550 ml) se añadió una solución de NaI (186,22 g, 1242,354 mmol) en H_2O (225 mL) en porciones a 0 °C en atmósfera de aire. La mezcla resultante se agitó durante la noche a 50 °C en atmósfera de aragón. La mezcla resultante se concentró la presión reducida y luego se lavó con $CHCl_3$ (500 mL). La mezcla resultante se filtró, se lavó la torta de filtro con $CHCl_3$ (3 x 250 mL). El filtrado se extrajo con $CHCl_3$ (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con $Na_2S_2O_3$ (500 mL), se lavaron con salmuera (2 x 200 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 18%/éter de petróleo) para proporcionar el producto (24 g, 18 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS(ESI) m/z [M + H]; calculado para $C_{25}H_{30}BrIN_2O_3$: 613,06; se encontró 614,7

Paso 4: Síntesis de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)- 2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indoI-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-{5-yodo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il)indoI-3-il)-2,2-dimetilpropilo (9 g, 14,674 mmol), (S)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (2,469 g, 17,609 mmol), Cs_2CO_3 (11,953 g, 36,685 mmol) y BINAP (456,9 mg, 0,734 mmol) en tolueno (63 ml) se añadió $Pd(OAc)_2$ (329,44 mg, 1,467 mmol) a temperatura ambiente en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 6 h a 100 ºC. Después de la filtración, la torta de filtro se lavó con EtOAc (100 mL). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (6,9 g, 75 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{32}H_{43}BrN_4O_4$: 627,25; se encontró 627,4.

Paso 5: Síntesis de acetato de 3-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indoI-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-iI)-1H-indoI-3-iI)-2,2-dimetilpropilo (3,2 g,

5,115 mmol), KOAc (1,51 g, 15,345 mmol) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(tetrametil-1,3,2-dioxaboroIan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (2,60 g, 10,230 mmol) en tolueno (48 ml) se añadió $Pd(dppf)Cl_2$ (0,37 g, 0,512 mmol) en porciones a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a 90 °C. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (100 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (3,0 g, 88 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{38}H_{55}BN_4O_6$: 675,43; se encontró 675,1

Paso 6: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-iI)-1H-indoI-5-iI)tiazoI-2-iI)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una mezcla agitada de acetato 3-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-iI)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-iI)-1H-indoI-3-iI)-2,2-dimetilpropil (5 g, 7,433 mmol) y K_3PO_4 (4,26 g, 20,067 mmol) en tolueno (54 mL) se añadió dioxano (17,82 mL, 210,307 mmol) y H_2O (17,82 mL) a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 °C. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (100 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (4,6 g, 66 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{68}N_8O_9S$: 945,49; se encontró 945,7

Paso 7: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)tiazoI-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución agitada de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-iI)-1H-indoI-5-iI)tiazoI-2-iI)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (6 g, 6,361 mmol) en THF (43 ml) se añadió $LiOH \cdot H_2O$ (573,92 mg, 13,677 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla se acidificó hasta pH 6 con HCl (ac.). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (4 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{45}H_{60}N_8O_9S$: 889,43 se encontró: 889,7

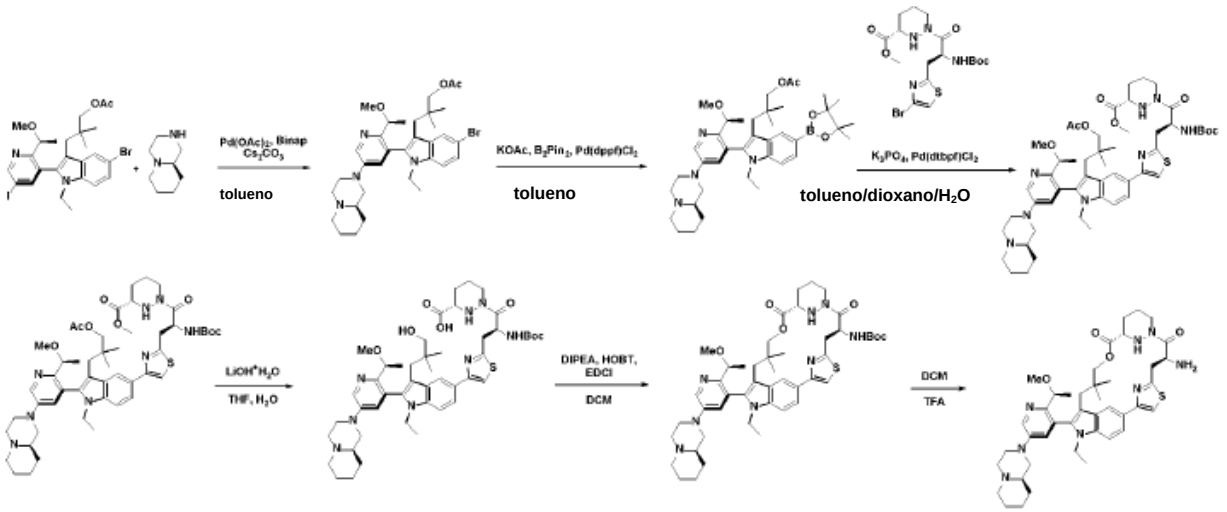
Paso 8: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinacicIoundecafano-4-iI)carbamato

A una solución agitada de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (4 g, 4,51 mmol), HOBt (6,09 g, 45,09 mmol) y DIPEA (23,31 g, 180,36 mmol) en DCM (200 mL) se añadió EDCI (25,93 g, 135,27 mmol) en DCM (200 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente y luego se concentró a presión reducida. La reacción se inactivó con H_2O a 0 °C y se extrajo con EtOAc (500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (2,0 g, 52 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{46}H_{62}N_8O_7S$: 870,4; se encontró:871,8

Paso 9: Síntesis de (6^3S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución agitada de terc-butilo ((6^3S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)carbamato (316 mg, 0,345 mmol) en DCM (3 mL,) se añadió TFA (1 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 80 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 40 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla de producto bruto se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{41}H_{54}N_8O_5S$: 771,4; se encontró 771,6

Intermedio 13: Síntesis de (6^3S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de acetato 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-{5-yodo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il)indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (9 g, 14,674 mmol), (R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazina (2,469 g, 17,609 mmol), Cs_2CO_3 (11,9523 g, 36,685 mmol) y BINAP (456,85 mg, 0,734 mmol) en tolueno (63 mL) se añadió Pd(OAc)2 (329,44 mg, 1,467 mmol) en porciones a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 6 h a 100 °C, luego la mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (100 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (6 g, 65 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{33}H_{45}BrN_4O_3$: 625,28; se encontró 627,4.

Paso 2: Síntesis de acetato de 3-(1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridina-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropil (3,2 g, 5,115 mmol), KOAc (1,51 g, 15,345 mmol) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (2,60 g, 10,230 mmol) en tolueno (48 ml) se añadió $Pd(dppf)Cl_2$ (0,37 g, 0,512 mmol) en porciones a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a 90 °C. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (100 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (3,1 g, 81 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{39}H_{57}BN_4O_5$: 673,45; se encontró 673,4

Paso 3: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una mezcla agitada de acetato de 3-(1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-

pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (5 g, 7,433 mmol), metilo (S)-1-((S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (3,89 g, 8,176 mmol) y K_3PO_4 (4,26 g, 20,067 mmol) en tolueno (54 ml), dioxano (18 ml) y H_2O (18 ml) se añadió $Pd(dtbpf)Cl_2$ (969 mg, 1,486 mmol) a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 °C. Luego la mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (100 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (6,8 g, 83 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{70}N_8O_8S$: 943,51; se encontró 943,4

Paso 4: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución agitada de metil (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (6 g, 6,361 mmol) en THF (43 ml) se añadió $LiOH•H_2O$ (573,92 mg, 13,677 mmol) a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla se acidificó hasta pH 6 con HCl (ac.). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 150 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (4 g, bruto) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{47}H_{66}N_8O_7S$: 887,49; se encontró 887,6

Paso 5: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)carbamato

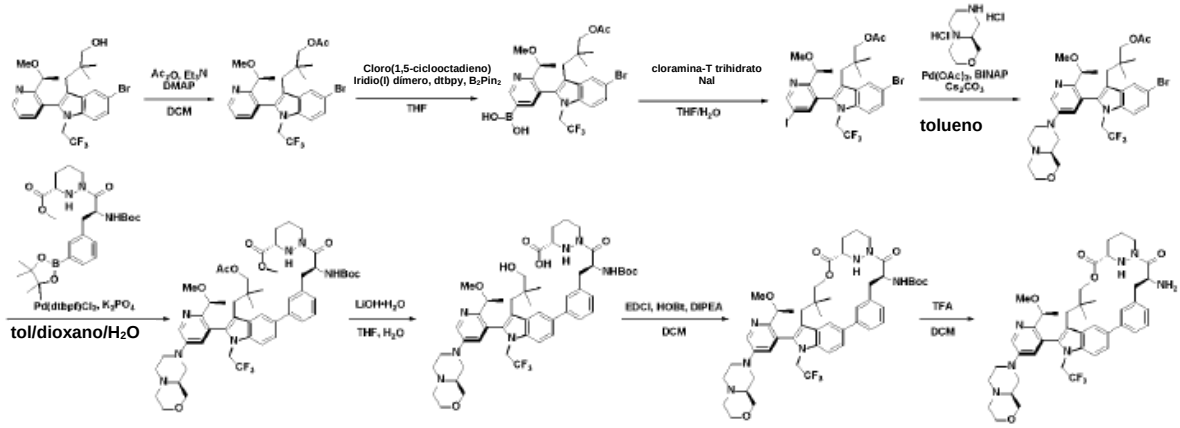
A una solución agitada de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (4 g, 4,509 mmol), HOBt (6,09 g, 45,090 mmol) y DIPEA (23,31 g, 180,360 mmol) en DCM (200 mL) se añadió EDCI (25,93 g, 135,270 mmol) en DCM (200 mL) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y se inactivó con H_2O a 0 °C y se extrajo con EtOAc (500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (2,0 g, 49 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{47}H_{64}N_8O_6S$: 869,47;

se encontró 869,8

Paso 6: Síntesis de (6^3S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución agitada de terc-butilo (6^3S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)carbamato (900 mg, 1,035 mmol) en DCM (9 mL) se añadió TFA (3 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se basificó hasta pH=8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. y se extrajo con EtOAc (3 X 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Luego de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto (800 mg), que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) ***m /z*** [M + H] calculado para $C_{42}H_{56}N_8O_4S$: 769,42; se encontró: 769,5

Intermedio 14: Síntesis de (6^3S,4S)-4-amino-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de (S)-3-(5-bromo-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo-1-ol (60 g, 0,12 mol) y Et_3N (24,33 g, 0,24 mol) en DCM (600 mL) se añadió DMAP (1,46 g, 0,012 mol) y anhídrido acético (14,7 g, 144 mmol) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y se lavó con HCl (500 mL). La mezcla resultante se lavó con Na_2HCO_3 acuoso sat. (500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el

filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (59,6 g, 92 % de rendimiento) en forma de un aceite. LCMS (ESI) *m /z* [M + H] calculado para $C_{25}H_{28}BrF_3N_2O_3$: 541,13; se encontró 543,2

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-5-bromo-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)borónico

A una mezcla agitada de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (55,1 g, 101,771 mmol) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (38,77 g, 152,656 mmol) en THF (40 ml) se añadió dtbpy (4,10 g, 15,266 mmol) y dímero de cloro(1,5-ciclooctadieno)iridio(I) (3,42 g, 5,089 mmol) en porciones a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 5 h a 75 °C. La mezcla resultante se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (102,4 g, bruto) como un aceite. LCMS (ESI) ***m /z*** [M + H] calcuado para $C_{25}H_{29}BBrF_3N_2O_5$: 585,14; se encontró 585,2

Paso 3: Síntesis de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(5-yodo-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H- indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de ácido (S)-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-5-bromo-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)borónico (51,2 g, 87,487 mmol) y cloro de sodio[(4-metilbenceno)sulfonil]azanida (197 g, 699,896 mmol) en THF (258 ml) se añadió NaI (104,91 g, 699,896 mmol) en H_2O (129 ml) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a 55 °C. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y se extrajo con CH_3Cl (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 20 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto (15,3 g, 26 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{32}H_{40}BrF_3N_4O_4$: 666,0; se encontró 667,3

Paso 4: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una mezcla agitada de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(5-yodo-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (2,70 g, 4,046 mmol) y diclorhidrato de (S)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (1,044 g, 4,855 mmol) en tolueno (18,9 ml) se añadió Cs_2CO_3 (5932,38 mg, 18,207 mmol) y BINAP (125,97 mg, 0,202 mmol) en porciones a temperatura ambiente en una atmósfera de argón. A la mezcla anterior se añadió $Pd(OAc)_2$ (90,84 mg, 0,405 mmol) en porciones. La mezcla resultante se agitó por 16 h adicionales a 90 °C. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, luego se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (2 x 20 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto

(2,3 g, 83 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{32}H_{40}BrF_3N_4O_4$: 681,23; se encontró 681,4

Paso 5: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 ml se añadió metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((tercbutoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (2,33 g, 4,512 mmol) y K_3PO_4 (1,59 g, 7,490 mmol) a temperatura ambiente en una atmósfera de aire. A una mezcla agitada de H_2O (8,20 mL) y dioxano (8,20 mL) en tolueno se añadió Pd(dtbpf)Cl_2 (0,29 g, 0,451 mmol) en porciones a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 65 °C. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (2 x 100 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 150 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3-4 %) para proporcionar el producto (2,7 g, 90 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{68}F_3N_7O_9$: 991,5; se encontró 992,7

Paso 6: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

En un matraz de fondo redondo con tres bocas de 100 mL se añadió metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (3 g, 3,024 mmol) y THF (30 ml) a temperatura ambiente. Seguido de LiOH (0,30 g, 12,701 mmol) en H_2O (12,7 ml) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla se acidificó a pH 5 con 1 N de HCl. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (2,7 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{64}F_3N_7O_8$: 936,48; se encontró 936,7

Paso 7: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-12-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato

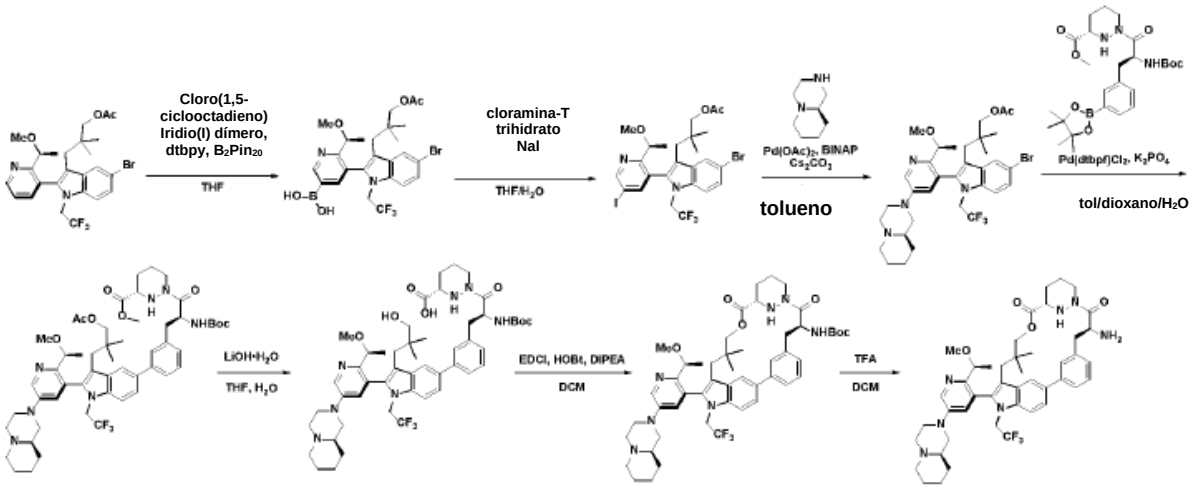
En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 2 L se añadió ácido (S)-1-((S)-2-((terc-

butoxicarbonil)amino)-3-(3-(2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (3,12 g, 3,333 mmol) y DCM (624 ml) a temperatura ambiente. A la mezcla anterior se le añadió DIPEA (17,23 g, 133,320 mmol) y HOBt (4,50 g, 33,330 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 30 min más. A la mezcla anterior se añadió EDCI (19,17 g, 99,990 mmol) en porciones durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. La reacción se inactivó con H_2O a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3-4 %) para proporcionar el producto (3 g, 98 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{62}F_3N_7O_7$: 918,47; se encontró 918,8

Paso 8: Síntesis de ((6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución agitada de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-12-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato (930 mg, 1,013 mmol) en DCM (15 ml) se añadió gota a gota TFA (5 ml, 67,315 mmol) disuelto en DCM (5 ml) a 0 °C en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0 °C. El residuo se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM, las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (880 mg, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{54}F_3N_7O_5$: 818,42; se encontró 818,6

Intermedio 15: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-12-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de ácido (S)-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-5-bromo-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)borónico

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 ml se añadió acetato de 3-(5-bromo-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (10 g, 18,470 mmol), 4,4,5,5-tetrametil-2-(tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (8,44 g, 33,25 mmol) y dtbpy (0,89 g, 3,325 mmol) a temperatura ambiente. A la mezcla anterior se añadió dímero de cloro(1,5-ciclooctadieno)iridio(I) (0,74 g, 1,108 mmol) y THF (40 ml). La mezcla resultante se agitó durante 16 h adicionales a 80 °C. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El producto bruto se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{25}H_{29}BBrF_3N_2O_5$: 585,14; se encontró 585,0

Paso 2: Síntesis de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(5-yodo-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de ácido (S)-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-5-bromo-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)borónico (17,9 g, 30,586 mmol) en THF (89,5 ml) se añadió cloro de sodio[(4-metilbenceno)sulfonil]azanuro (68,93 g, 244,688 mmol) y NaI (36,68 g, 244,688 mmol) en H_2O (44,75 ml) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 20 min más a temperatura ambiente y luego se calentó a 50 °C durante 16 h. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y se lavó con $CHCl_3$ (300 ml). Después de la filtración, la torta de filtro se lavó con $CHCl_3$ (3 x 100 ml). El filtrado se extrajo con $CHCl_3$ (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con $Na_2S_2O_3$ (300 ml) y salmuera (2 x 150 ml), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 16 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto (6,6 g, 32 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{25}H_{27}BrF_3IN_2O_3$: 667,03; se encontró 668,7

Paso 3: Síntesis de acetato de 3-(5-bromo-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-

pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una mezcla agitada de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(5-yodo-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (1,4 g, 2,098 mmol) y (R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazina (353,04 mg, 2,518 mmol) en tolueno (10 ml) se añadió Cs_2CO_3 (3076,05 mg, 9,441 mmol), BINAP (65,32 mg, 0,105 mmol) y $Pd(OAc)_2$ (47,10 mg, 0,210 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a 90 ˚C en atmósfera de argón. La reacción se inactivó con H_2O (100 mL). La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (3 X 100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 5 %) para proporcionar el producto (1 g, 49 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{33}H_{42}BrF_3N_4O_3$: 679,25; se encontró 679,5

Paso 4: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H- indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una mezcla agitada de acetato de 3-(5-bromo-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (1 g, 1,471 mmol) y metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (913,62 mg, 1,765 mmol) en tolueno (9 ml) se añadió dioxano (6 mL), H_2O (3 ml), K_3PO_4 (780,82 mg, 3,678 mmol) y $Pd(dtbpf)Cl_2$ (95,90 mg, 0,147 mmol), la mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (3 x 30 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 20 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto (1,2 g, 74 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{53}H_{70}F_3N_7O_8$: 990,53; se encontró 990,8

Paso 5: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una mezcla agitada de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,2 g, 1,212 mmol) y LiOH (252 mg, 10,523 mmol) en THF (6 ml) se añadió H_2O (6 ml) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a 0 °C. La mezcla se acidificó a pH 7 con 1 N de HCl (acuoso). La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (1,2 g, 84% de

rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{66}F_3N_7O_7$: 934,51; se encontró 935,0

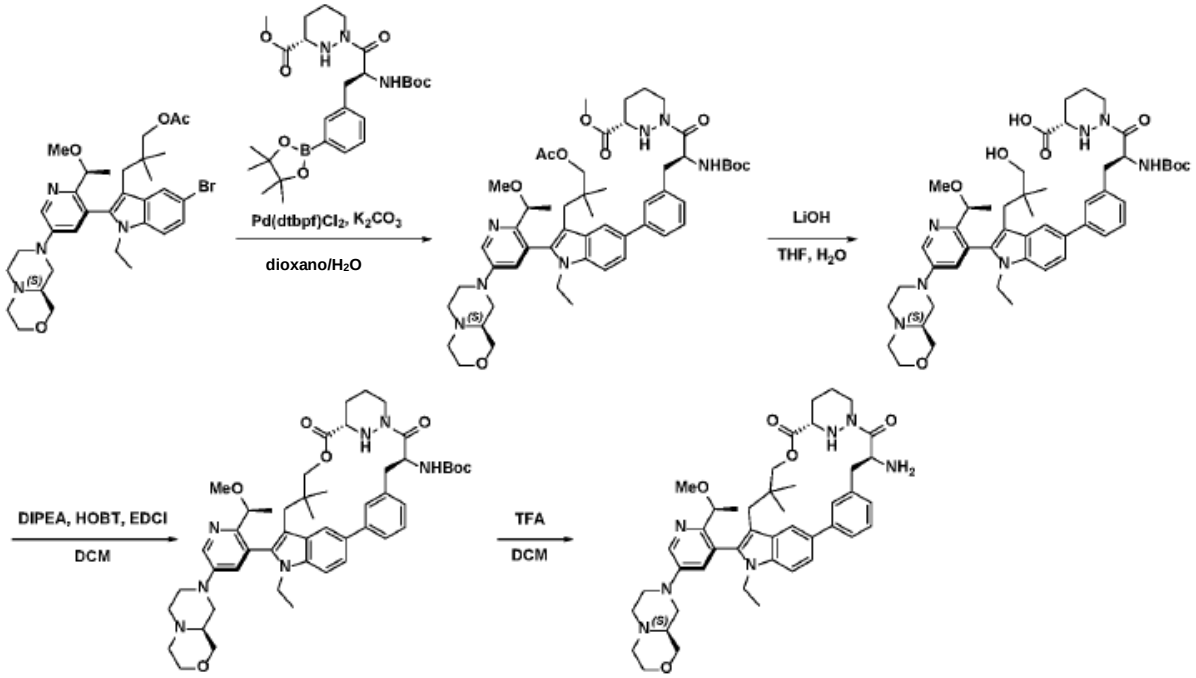
Paso 6: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-12-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato

A una mezcla agitada de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (1,2 g, 1,285 mmol) y DIPEA (7,83 ml, 44,975 mmol) en DCM (100 ml) se añadió HOBt (0,87 g, 6,425 mmol) y EDCI·HCl (5,58 g, 35,980 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a 0 °C. La mezcla se diluyó con DCM (30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (3 x 30 ml), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 5 %) para proporcionar el producto (850 mg, 65 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{50}H_{64}F_3N_7O_6$: 916,49; se encontró 917,0

Paso 7: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-12-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona

A una mezcla agitada de terc-butilo (6^{3}S,4S)-12-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato (1000 mg, 1,092 mmol) en DCM (4 ml) se añadió TFA (4 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. $NaHCO_3$ sat. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 X 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (800 mg, 80 % de rendimiento) en forma de sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{45}H_{56}F_3N_7O_4$: 816,44 se encontró: 816,6

Intermedio 16: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 500 mL se añadió acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (14,2 g, 22,625 mmol), metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroIano-2-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (17,56 g, 33,938 mmol), H_2O (30 ml) en dioxano (150 ml), Pd(dtbpf)Cl_2 (1,47 g, 2,263 mmol) a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 65 ºC y luego se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla se filtró, la torta de filtro se lavó con EtOAc (2 x 200 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y luego se extrajo con EtOAc (2 × 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 250 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3-4 %) para proporcionar el producto (17,2 g, 81 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{71}N_7O_9$: 938,54; se encontró 938,8

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-iI)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 mL se añadió (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indoI-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (17,2 g, 18,33 mmol) y THF

(175 mL) a temperatura ambiente. A una mezcla agitada de LiOH (1,88 g, 78,343 mmol) en H_2O (78,34 mL, 4348,526 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla se acidificó a pH 5 con 1 N de HCl. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 200 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla bruta (17 g, bruto) en forma de sólido se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{67}N_7O_8$: 882,51; se encontró 882,8

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-11H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)carbamato

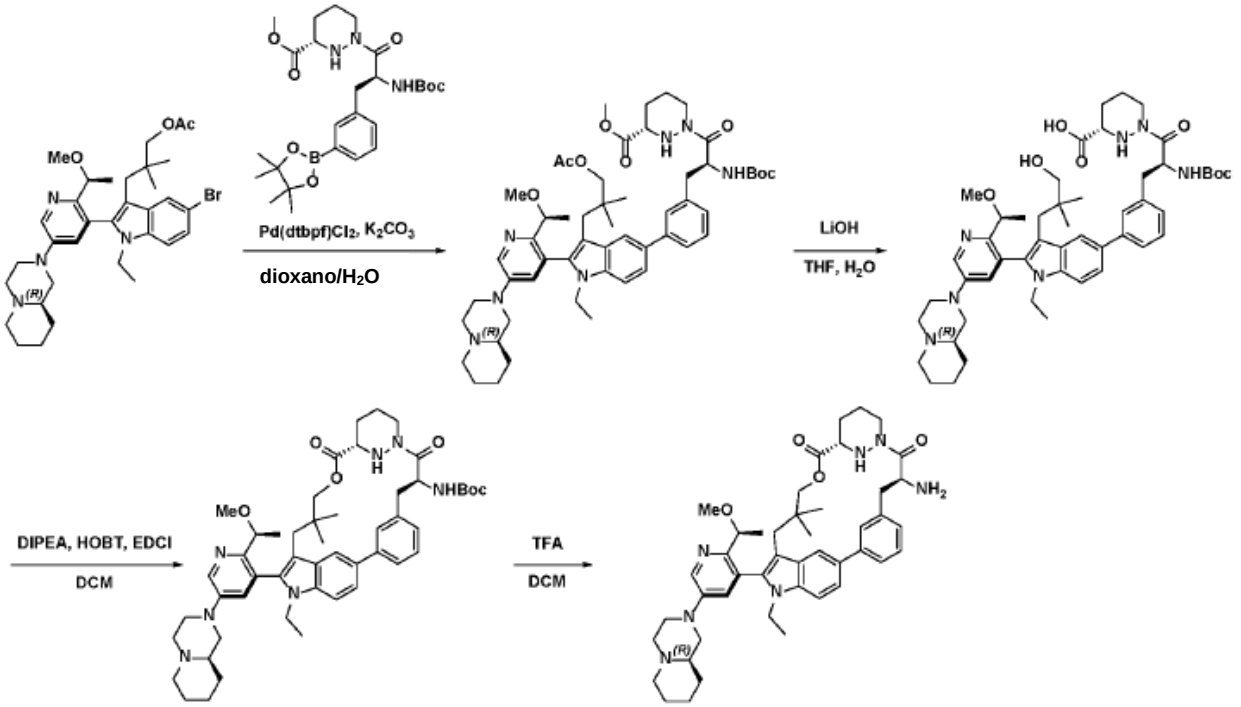
En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 5 L se añadió ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1- c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (16,8 g, 19,045 mmol) y DCM (2,52 L) a temperatura ambiente. A la mezcla anterior se añadió DIPEA (98,46 g, 761,800 mmol) y HOBt (25,73 g, 190,450 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 30 min más a 0 °C. Seguido de la adición de EDCI (109,53 g, 571,350 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla se agitó durante 16 h a temperatura ambiente y luego se concentró a presión reducida. La reacción se inactivó con H_2O frío (500 mL) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 500 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3-4 %) para proporcionar el producto (13,4 g, 81 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{65}N_7O_7$: 864,50; se encontró 864,8

Paso 4: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-5,7-diona

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se añadió terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina)-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)carbamatobutilo (300 mg, 0,347 mmol) y DCM (3 ml), se añadió TFA (1,5 mL) a la solución anterior a 0 °C. Después de 1 h, la mezcla se basificó a pH 9 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (242 mg, bruto) como un sólido. El producto bruto se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{57}N_7O_5$: 764,45; se encontró:

764,4

Intermedio 17: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

En un vial de 40 mL se añadió acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropil (2 g, 3,196 mmol), metilo (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil))amino]-3-[3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato (1,98 g, 3,836 mmol) y H_2O (5 ml) en dioxano (20 ml) a temperatura ambiente. A la mezcla anterior se añadió K_2CO_3 (883 mg, 6,392 mmol) y Pd(dtbpf)Cl_2 (208 mg, 0,32 mmol) en porciones. La mezcla resultante se agitó durante 4 h adicionales a 65 °C, luego se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (2 x 200 mL). El filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (50 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (2,11 g, 70 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{53}H_{73}N_7O_8$: 936,56; se encontró 936,7

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-

hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 mL se añadió metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (2,1 g, 2,245 mmol) y THF (21 mL) a temperatura ambiente. A la mezcla anterior se añadió $LiOH•H_2O$ (283 mg, 6,735 mmol) en H_2O (7 mL) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se acidificó a pH 5 con 1 N de HCl. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 150 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 150 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, se concentró el filtrado a presión reducida para proporcionar el producto (1,8 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{69}N_7O_7$: 880,53; se encontró 880,8

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)fenil)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato

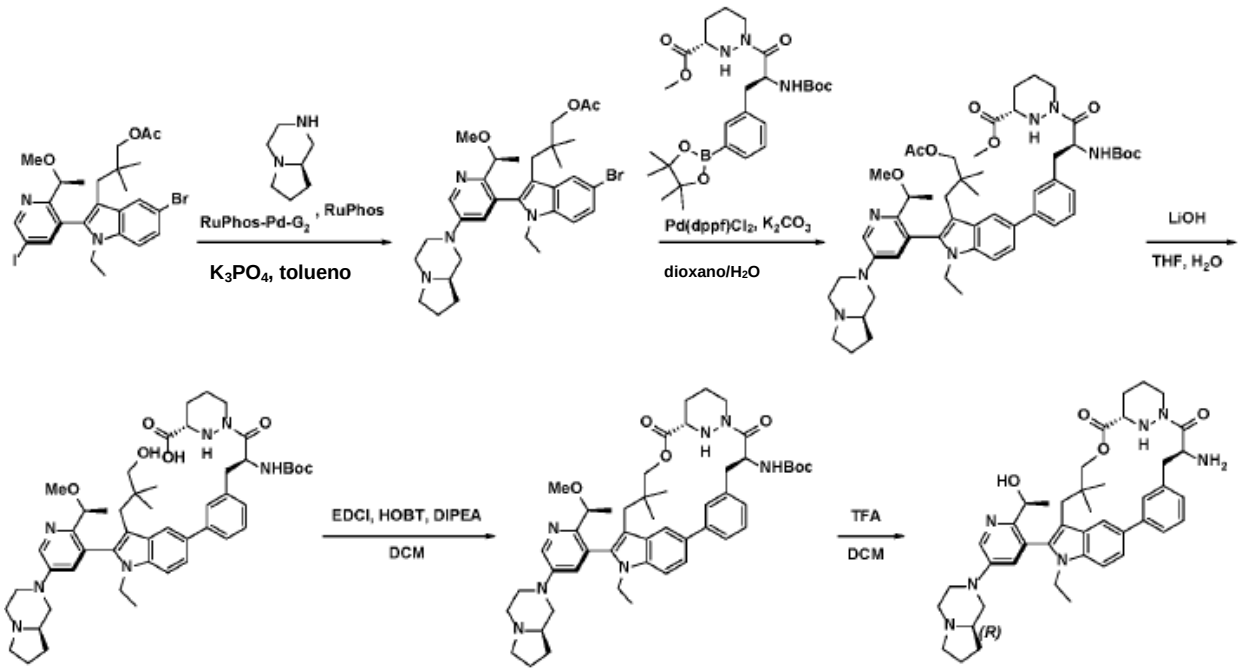
En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 2 L se añadió ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (1,8 g, 2,09 mmol) y DCM (360 mL) a temperatura ambiente seguido de DIPEA (24,28 ml, 139,394 mmol) y HOBt (4,71 g, 34,857 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 30 min más a 0 °C. A la mezcla anterior se le añadió EDCI (8,67 g, 37,63 mmol) en porciones durante 5 min a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se concentró a presión reducida. La reacción se inactivó con H_2O a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 300 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 250 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para el producto (623 mg, 34 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{68}N_6O_6$: 861,53; se encontró 862,8

Paso 4: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazina-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se añadió terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)fenil)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclounde cafano-4-il)carbamato (350 mg, 0,406 mmol) y DCM (4 mL) a 0 °C. Luego se añadió TFA (1 ml) a la mezcla anterior. Después de 1 h, la mezcla se basificó hasta pH 9 con

$NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 5 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (300 mg, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{45}H_{59}N_7O_4$: 762,47; se encontró 762,3

Intermedio 18: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H-il)-2-((S)- 1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropil

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 mL se añadió acetato de (S)-3-(5-bromo-1-etil-2-(5-yodo-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (10 g, 16,304 mmol), K_3PO_4 (8,65 g, 40,760 mmol), (R)-octahidropirrolo[1,2-a]pirazina (2,67 g, 21,195 mmol) en tolueno (100 mL) a temperatura ambiente. A la mezcla anterior se le añadió RuPhos-Pd-G2 (2,53 g, 3,261 mmol), RuPhos (2,28 g, 4,891 mmol) en porciones durante 1 min. La mezcla resultante se agitó durante 3 h más a 90 °C. La reacción se inactivó mediante la adición de H_2O (50 ml) a temperatura ambiente. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 600 mL). La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 12 %) para proporcionar el producto (7 g, 70 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{32}H_{43}BrN_4O_3$: 611,26; se encontró 611,3

Paso 2: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-

butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirroIo[1,2-a]pirazin-2(1H-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-iI)-1H-indoI-3-il)-2,2-dimetilpropilo (5 g, 8,175 mmol) y (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato (5,07 g, 9,81 mmol) en dioxano (125 ml) y H_2O (25 ml) se añadió K_2CO_3 (2824 mg, 20,438 mmol) y Pd(dppf)Cl_2 (1196 mg, 1,635 mmol). Después se agitó durante 2 h a 70 °C en atmósfera de a nitrógeno. Los sólidos precipitados se recogieron por filtración y se lavaron con EtOAc (3 x 100 mL). La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 13 %) para proporcionar el producto (4 g, 53 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{71}N_7O_8$: 922,54; se encontró 922,6

Paso 3: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-iI)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-iI)fenilI)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se añadió metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirroIo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-iI)-1H-indoI-5-iI)fenil)-2-((terc-butoxicarbonilo)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (3 g, 3,2501 mmol) y THF (30 ml) y LiOH·H_2O (0,55 g, 13,012 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla se acidificó hasta pH 6 con HCl (ac.). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). La mezcla resultante se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (2,96 g, 92 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{67}N_7O_7$: 866,52; se encontró 866,6

Paso 4: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirroIo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato

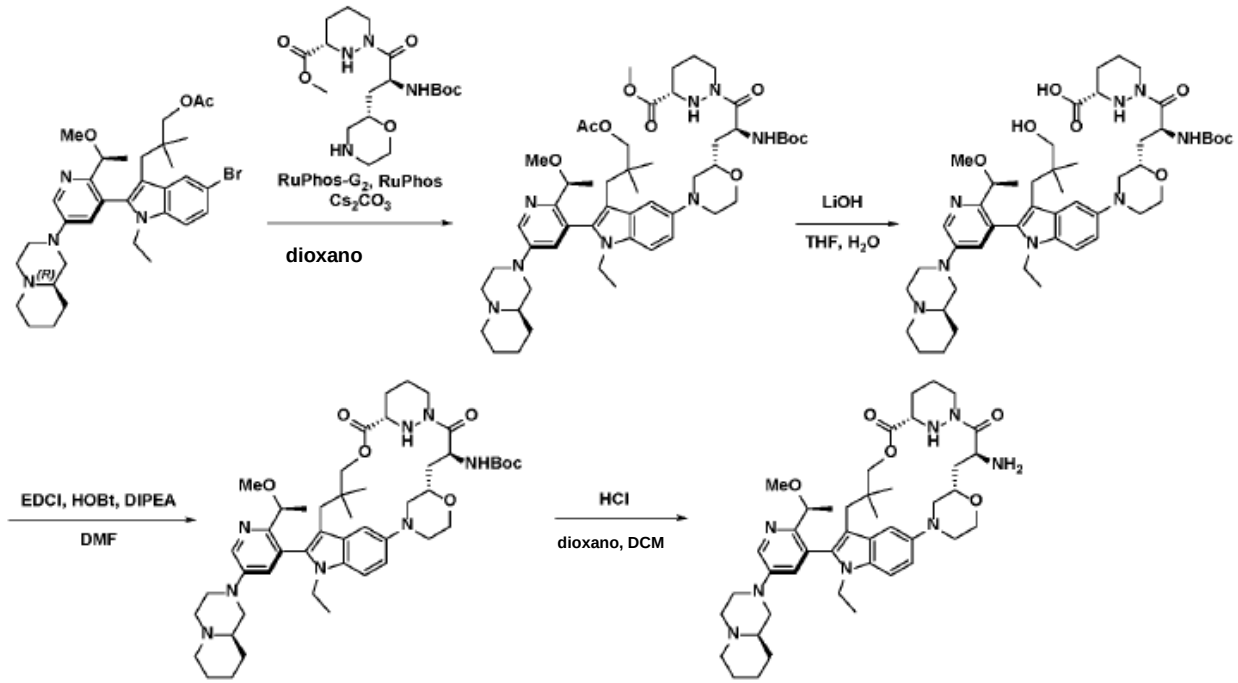
En un matraz de fondo redondo de 500 mL se añadió ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirroIo[1,2-a]pirazin-2(1H-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-iI)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (2,9 g, 3,348 mmol), DCM (200 ml) y DIPEA (8,65 g, 66,960 mmol) a 0 °C. A la mezcla anterior se le añadió HOBt (2,26 g, 16,740 mmol), EDCI (6,42 g, 33,480 mmol) en porciones durante 5 min a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla resultante se lavó con H_2O (3 x 200 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto (1,2 g, 42 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{65}N_7O_6$: 848,51; se encontró 847,6

Paso 5: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((R)- hexahidropirroIo[1,2-a]pirazin-

2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-5,7-diona

En un vial de 40 mL se añadió terc-butilo ((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)carbamato (400 mg, 0,472 mmol), DCM (8 ml) y TFA (4 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 0 °C. La mezcla resultante se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (300 mg, 85 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{57}N_7O_4$: 747,4; se encontró 748,4

Intermedio 19: Síntesis de (2^2S,6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounDecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(S)-1-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)piperidin-3-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución agitada de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (13 g, 20,778 mmol) y metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (10,82 g, 27,011 mmol) en dioxano (130 mL) se añadió cloro(2-diciclohexilfosfino-2',6'-diisopropoxi-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paladio(II) (1,61 g, 2,078 mmol), RuPhos (1,94 g, 4,156 mmol) y CS_2CO_3 (13,54 g, 41,556 mmol) a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 3 h

a 80 °C. La mezcla resultante se diluyó con H_2O (300 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 8 %) para proporcionar el producto (18,8 g, 95 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{78}N_8O_8$: 945,58; se encontró 945,5

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución agitada de metilo (S)-1-((S)-3-((S)-1-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)piperidin-3-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (18,8 g, 19,890 mmol) en THF (85 mL) y H_2O (85 mL) se añadió $LiOH·H_2O$ (4,17 g, 99,450 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente y luego se diluyó con H_2O (300 mL). La mezcla resultante se lavó con MTBE (3 x 100 mL) y se extrajo con DCM (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (200 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (11,2 g, bruto) como un sólido. El producto bruto se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{48}H_{72}N_8O_8$: 889,56; se encontró 889,5

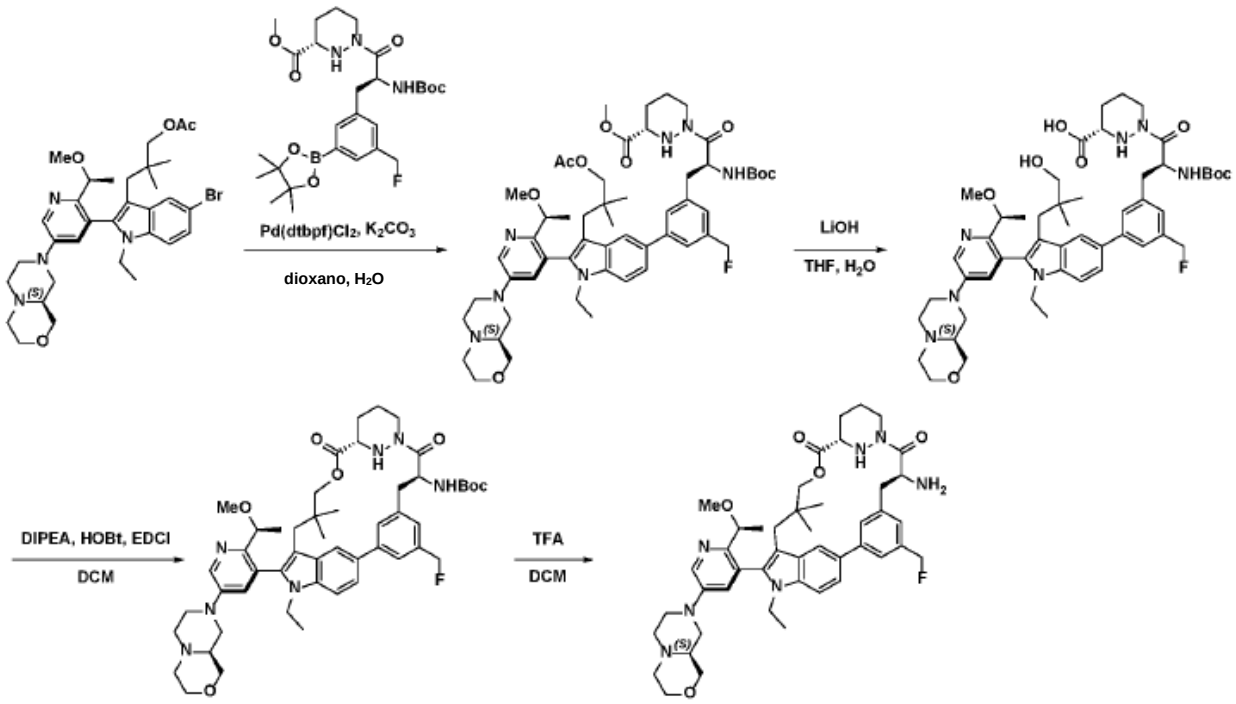
Paso 3: Síntesis de terc-butilo ($(2^2S,6^3S,4S)$-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)carbamato

A una solución agitada de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (5,57 g, 6,264 mmol) y DIPEA (64,77 g, 501,120 mmol) en DMF (557 mL) se añadió HOBt (33,86 g, 250,560 mmol) y EDCI (72,05 g, 375,840 mmol) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla resultante se diluyó con H_2O (1 L). La mezcla resultante se extrajo EtOAc (3 x 1 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (5 x 1 L), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto (4 g, 73 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{48}H_{70}N_8O_7$: 871,54; se encontró 871,6

Paso 4: Síntesis de ($2^2S,6^3S,4S$)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-5,7-diona

A una mezcla agitada de terc-butilo (2^2S,6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounDecafano-4-il)carbamato (750 mg, 0,861 mmol) en DCM (5 mL) se añadió HCl (4 M en dioxano) (5 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y luego se concentró a presión reducida. Esto resultó en el producto (830 mg, bruto) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{62}N_8O_5$: 771,49; se encontró 771,7

Intermedio 20: Síntesis de (6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H-il)-2-(S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (700 mg, 1,115 mmol), K_3PO_4 (592 mg, 2,788 mmol) y metilo (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-(fluorometil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato (1,225 g, 2,230 mmol) en tolueno (6 mL), dioxano (4 mL) y H_2O (2 mL) se añadió Pd(dtbpf)Cl_2 (73 mg, 0,112 mmol) a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 °C. La mezcla se concentró a presión reducida, se diluyó con H_2O (200 mL), se extrajo con (DCM:MeOH al 10 %) (4 x 100 mL). Las capas orgánicas

combinadas se lavaron con salmuera (3 x 200 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto (1,062 g, 98 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{53}H_{72}FN_7O_9$: 970,55; se encontró 970,4

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2 dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1 g, 1,031 mmol) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se añadió LiOH (0,12 g, 5,155 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche. La mezcla se ajustó hasta pH 7 con 0,5 N de HCl (ac.). La mezcla resultante se extrajo con MeOH/DCM al 10 % (4 x 100 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (5 x 20 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (810 mg, 86% de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{68}FN_7O_8$: 914,52; se encontró 914,4

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-16-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)carbamato

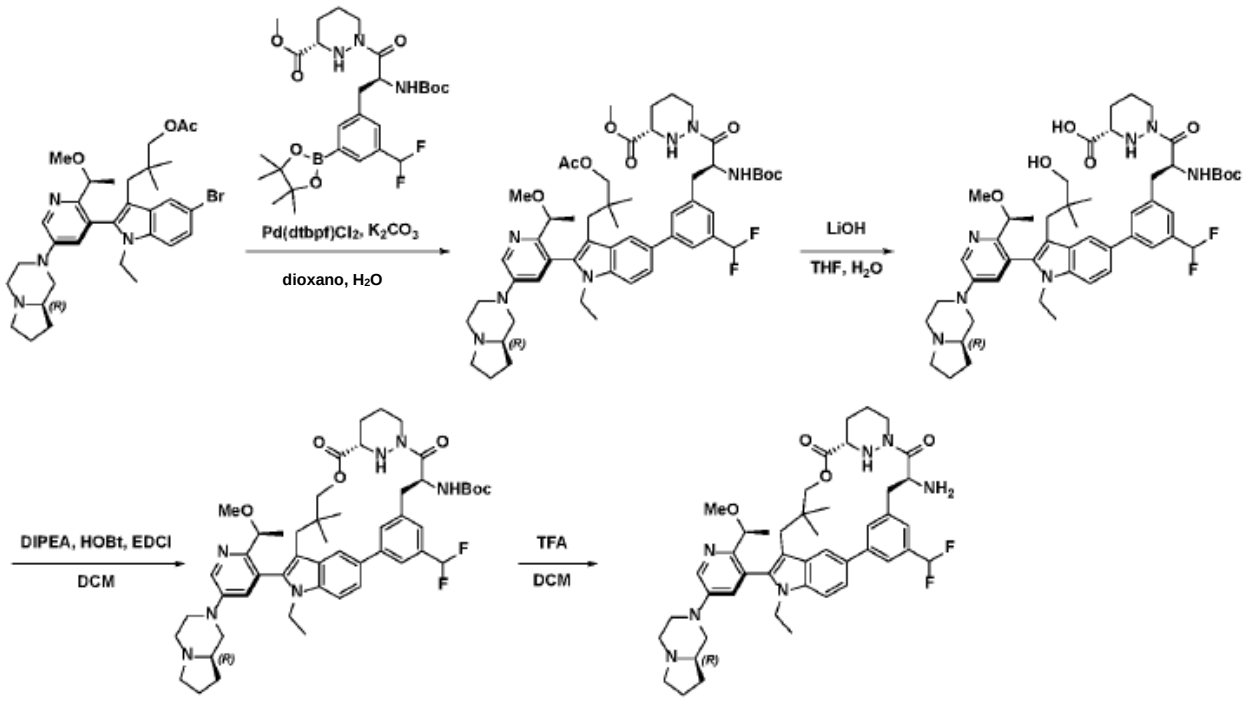
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil))-1H-indol-5-il)-5-(fluormetil)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (620 mg, 0,678 mmol) y DIPEA (3068 mg, 23,730 mmol) en DCM (60 ml) se añadió EDCI (3640,55 mg, 18,984 mmol) y HOBt (458 mg, 3,390 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche. La mezcla se lavó con salmuera (5 x 20 mL) y se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 0-100 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (420 mg, 69 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{66}FN_7O_7$: 896,51; se encontró 896,7

Paso 4: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo (6^{3}S,4S)-1^1-etil-16-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-

dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)carbamato (420 mg, 0,468 mmol) en DCM (5 mL) se añadió TFA (2,5 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. La mezcla se concentró a presión reducida y se acidificó a pH 7 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con MeOH/DCM al 10 % (4 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 ML) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (400 mg, 95% de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{45}H_{58}FN_7O_5$: 796,46; se encontró 796,2

Intermedio 21: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(difluorometil)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución agitada de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (2 g, 3,270 mmol), metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (2,78 g, 4,905 mmol), K_3PO_4 (2,08 g, 9,810 mmol) y Pd(DtBPF)Cl_2 (0,43 g, 0,654 mmol) se añadió dioxano (50 ml) y H_2O (10 ml) en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 ºC. La mezcla

se enfrió hasta temperatura ambiente, se inactivó mediante la adición de H_2O frío (30 mL) y se extrajo con EtOAc(100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 20 %) para proporcionar el producto (1,70 g, 53 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI) [M + H] calculado para $C_{53}H_{71}F_2N_7O_8$: 972,54; se encontró 973,1

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se añadió metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(difluorometil)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,30 g, 1,316 mmol), $LiOH \cdot H_2O$ (0,33 g, 7,896 mmol), H_2O (15 mL), y THF (15 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla se ajustó hasta pH 7 a 8 con 1 M de HCl a 0 °C. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 20 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto (0,96 g, 78 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{67}F_2N_7O_7$: 916,51; se encontró 916,5

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)carbamato

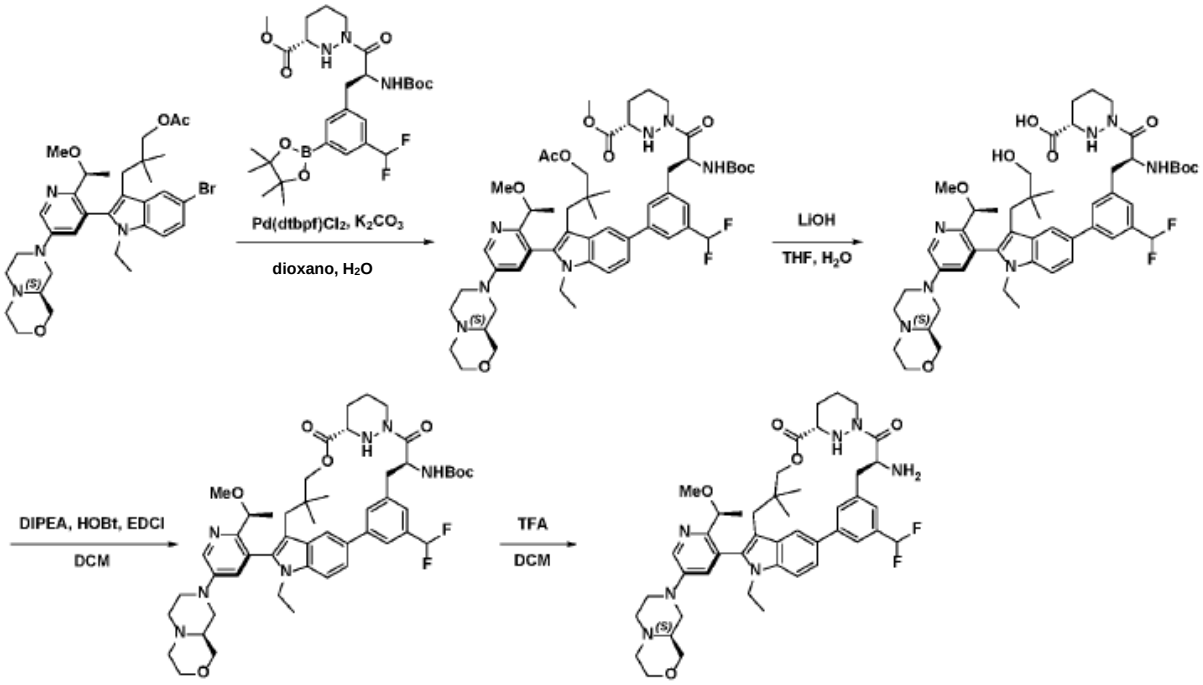
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (1,2 g, 1,310 mmol) y DIPEA (5,93 g, 45,850 mmol) en DCM (130 ml) se añadió HOBt (0,88 g, 6,550 mmol) y EDCI (7,03 g, 36,680 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 16 %) para proporcionar el producto (0,915 g, 78 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{65}F_2N_7O_6$: 898,50; se encontró 898,1

Paso 4: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-

$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclounde cafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((6^3S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato (900 mg, 1,002 mmol) en DCM (10 ML) se añadió TFA (5 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción final se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Luego, la mezcla se inactivó con la adición de $NaHCO_3$ acuoso sat. (30 mL) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 ML) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Luego de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto (586 mg, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{45}H_{57}F_2N_7O_4$: 798,45; se encontró 798,2

Intermedio 22: Síntesis de (6^3S,4S)-4-amino-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(difluorometil)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución agitada de acetato 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropil (1,00 g, 1,593

mmol), metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,36 g, 2,389 mmol), K_3PO_4 (1,01 g, 4,779 mmol) y $Pd(dtbpf)Cl_2$ (207,69 mg, 0,319 mmol) se añadió dioxano (10 ml) y H_2O (2 ml) gota a gota a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 70 °C. Luego, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó mediante la adición de H_2O frío (30 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 50 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 16 %) para proporcionar el producto (1,30 g, 83 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{53}H_{71}F_2N_7O_9$: 988,54; se encontró 988,6

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se añadió una solución de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(difluorometil)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,30 g, 1,316 mmol) en THF (10 mL, seguido de una solución de $LiOH•H_2O$ (0,33 g, 7,896 mmol) en H_2O (10 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se acidificó hasta pH de 7 a 8 con 0,5 M de HCl a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con MeOH/DCM al 15 % (3 x 50 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 ml) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 15 %) para proporcionar el producto (1,20 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{67}F_2N_7O_8$: 932,51; se encontró 932,6

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)carbamato

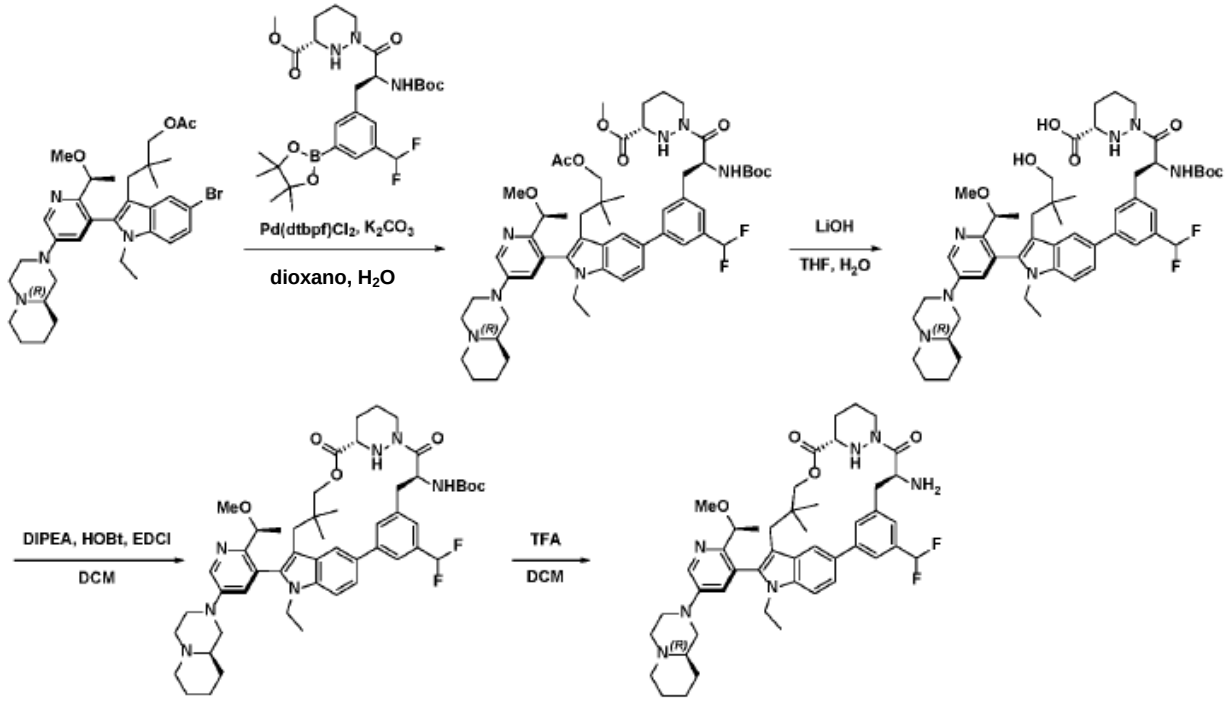
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (1,40 g, 1,502 mmol), y DIPEA (6,79 g, 52,570 mmol) en DCM (140 mL) se añadió HOBt (1,01 g, 7,510 mmol) y EDCI (8,06 g, 42,056 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se extrajo con DCM y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó

mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto (579 mg, 42 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{65}F_2N_7O_7$: 914,50; se encontró 914,5

Paso 4: Síntesis de (6^3S,4S)-4-amino-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclounde cafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((6^3S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato (579,0 mg, 0,633 mmol) en DCM (6 mL) se añadió TFA (3 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a 0 °C. Luego la mezcla se concentró a presión reducida y se ajustó a pH 8 mediante la adición de $NaHCO_3$ acuoso sat. a 0 °C y se extrajo con 100 mL de (MeOH/DCM al 10 %). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 ML) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto (500 mg, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{45}H_{57}F_2N_7O_5$: 814,45; se encontró 814,8

Intermedio 23: Síntesis de (6^3S,4S)-4-amino-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(difluorometil)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución agitada de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (1,50 g, 2,397 mmol), metilo (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-(difluorometil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato (2,04 g, 3,595 mmol), K_3PO_4 (1,53 g, 7,191 mmol) y Pd(DtBPF)Cl_2 (0,31 g, 0,479 mmol) se añadió dioxano (20 mL) y H_2O (4 mL) en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 ºC. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó mediante la adición de H_2O frío (30 mL), y se extrajo con EtOAc (100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 20 %) para proporcionar el producto (1,20 g, 51 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{54}H_{73}F_2N_7O_8$: 986,56; se encontró 986,5

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2)-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se añadió metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il-1H-indol-5-il)-5-(difluorometil)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,20 g, 1,217 mmol), $LiOH·H_2O$ (0,31 g, 7,302 mmol), H_2O (15 mL), y THF (15 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla se ajustó hasta pH de 7 a 8 con 1 M de HCl a 0 °C y se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 20 %) para proporcionar el producto (0,98 g, bruto) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{69}F_2N_7O_7$: 930,53; se encontró 930,3

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato

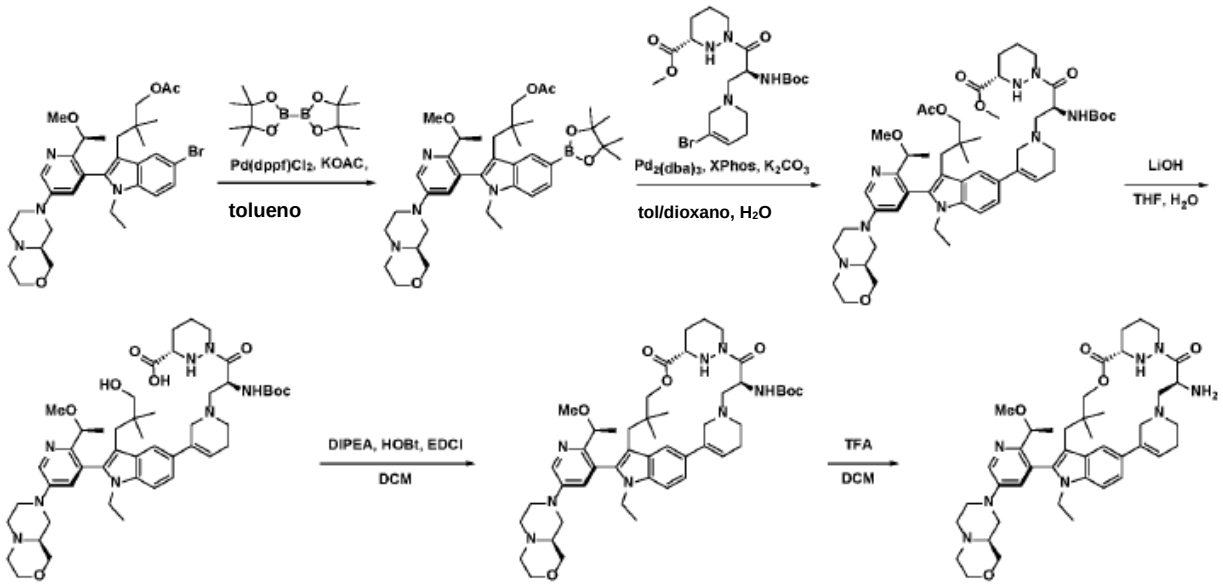
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(difluorometil)-5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2)-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (980 mg, 1,054

mmol) y DIPEA (4,09 g, 31,620 mmol) en DCM (200 mL) se añadió HOBt (711,82 mg, 5,270 mmol) y EDCI (5,05 g, 26,350 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 14 %) para proporcionar el producto (869 mg, 90 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{67}F_2N_7O_6$: 912,52; se encontró 912,6

Paso 4: Síntesis de(6^3S,4S)-4-amino-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((6^3S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato (869 mg, 0,953 mmol) en DCM (10 mL) se añadió TFA (5 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción final se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se inactivó mediante la adición de $NaHCO_3$ acuoso sat. (30 mL) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 ML) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El producto bruto (706 mg, bruto) en forma de un sólido se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{46}H_{59}F_2N_7O_4$: 812,47; se encontró 812,4

Intermedio 24: Síntesis de (6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-12-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de acetato de 3-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropil (2,16 g, 3,45 mmol) en tolueno (40 mL) se añadió KOAc (0,78 g, 7,967 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano (1,314 g, 5,175 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (0,23 g, 0,319 mmol, 0). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 90 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 100 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 40 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 2 %) para proporcionar el producto (2 g, 86 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{38}H_{55}BN_4O_6$: 675,43; se encontró 675,5

Paso 2: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución agitada de acetato de 3-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (2 g, 2,964 mmol) y metilo (S)-1-((S)-3-(5-bromo-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (2,25 g, 4,742 mmol) en tolueno (12,5 mL), dioxano (8,3 mL), y H_2O (4,1 mL) se añadió K_2CO_3 (1,02 g, 7,410 mmol), X-Phos (0,57 g, 1,186 mmol), y $Pd_2(dba)_3$ (0,81 g, 0,889 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 100 mL) y las

capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera (3 x 100 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 2 %) para proporcionar el producto (1,7 g, 55 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{74}N_8O_9$: 943,57; se encontró 943,7

Paso 3: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución agitada de metilo (S)-1-((S)-3-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indoI-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,7 g, 1,802 mmol) en THF (9 mL) y H_2O (9 mL) se añadió LiOH (0,19 g, 8,109 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0 °C. La mezcla se acidificó a pH 6 con HCl concentrado. Luego, la mezcla se extrajo con DCM (3 x 50 mL) y se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto (1,2 g, 67 % de rendimiento) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{48}H_{70}N_8O_8$: 887,54; se encontró 887,6

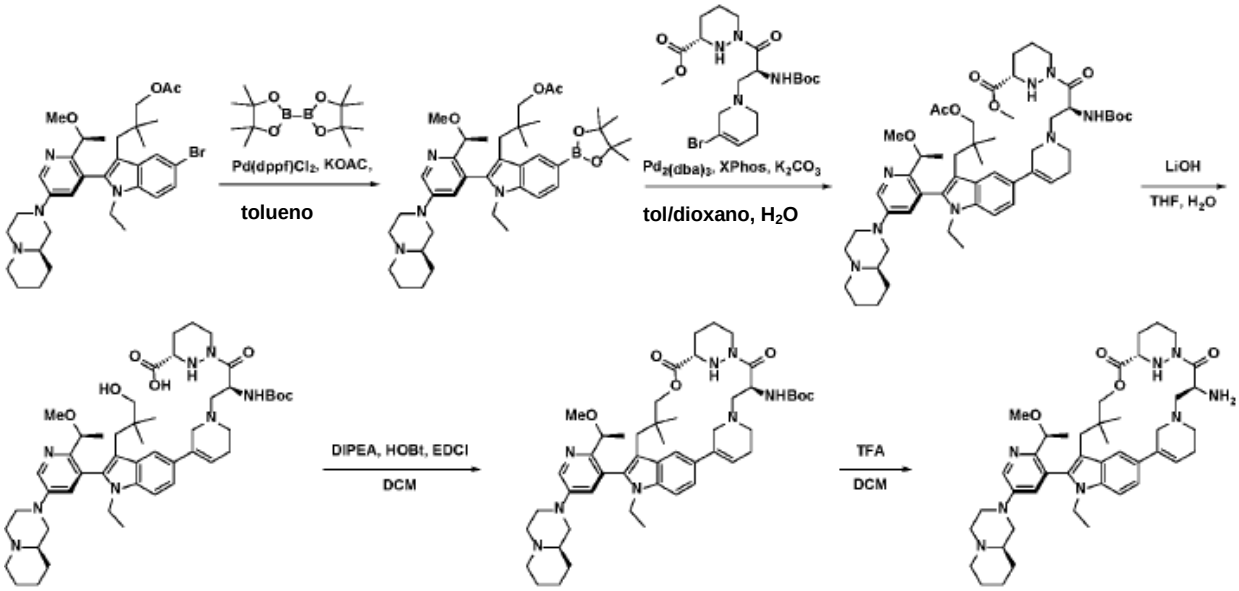
Paso 4: Síntesis de terc-butilo ($(6^3S,4S)$-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-decahidro-$1^1$H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-4-il)carbamato

A una solución agitada de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil))-1H-indoI-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (1,2 g, 1,353 mmol) y HOBt (0,91 g, 6,765 mmol) en DCM (120 mL) se añadió EDC•HCl (7,26 g, 37,884 mmol) y DIPEA (6,12 g, 47,355 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0 °C. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 ML) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3 %) para proporcionar el producto (880 mg, 67 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{48}H_{68}N_8O_7$: 869,53; se encontró 869,4

Paso 5: Síntesis de ($6^3S,4S$)-4-amino-1^1-etil-12-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)- 2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-$2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-decahidro-$1^1$H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución agitada de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)carbamato (880 mg, 1,013 mmol) en DCM (8 mL) se añadió TFA (8 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto (720 mg, 83 % de rendimiento) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{60}N_8O_5$: 769,48; se encontró 769,6

Intermedio 25: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazina-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de acetato de 3-(1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridina-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (1 g, 1,598 mmol) y B_2Pin_2 (0,81 g, 3,196 mmol) en tolueno (20 ml) se añadió KOAc (0,39 g, 3,995 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (0,12 g, 0,16 mmol). La mezcla se agitó durante 2 h a 90 °C en una atmósfera de nitrógeno. Luego, la mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 40 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x

40 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 2 %) para proporcionar el producto (0,9 g, 83 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{39}H_{57}BN_4O_5$: 673,45; se encontró 673,6

Paso 2: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución agitada de acetato de 3-(1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (0,9 g, 1,338 mmol), metilo (3S)-1-[(2S)-3-(3-bromo-5,6-dihidro-2H-piridin-1-il)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato (1,02 g, 2,141 mmol), K_2CO_3 (0,46 g, 3,345 mmol) y X-Phos (0,26 g, 0,535 mmol) en tolueno (13,5 ml), dioxano (90 ml) y H_2O (4,5 ml) se añadió $Pd_2(dba)_3$ (0,37 g, 0,401 mmol). La mezcla se agitó durante 2 h a 70 °C en una atmósfera de nitrógeno. Luego, la mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 100 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 2 %) para proporcionar el producto (1,1 g, 87 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{76}N_8O_8$: 941,59; se encontró 941,8

Paso 3: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución agitada de metilo (S)-1-((S)-3-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,1 g, 1,169 mmol) en THF (8 mL) se añadió una solución de LiOH (0,14 g, 5,845 mmol) en H_2O (8 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. Luego la mezcla se acidificó a pH 6 con HCl concentrado. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL) y se secó con Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (1,0 g, 96 % de rendimiento) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{72}N_8O_7$: 885,56; se encontró 885,5

Paso 4: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-4-il)carbamato

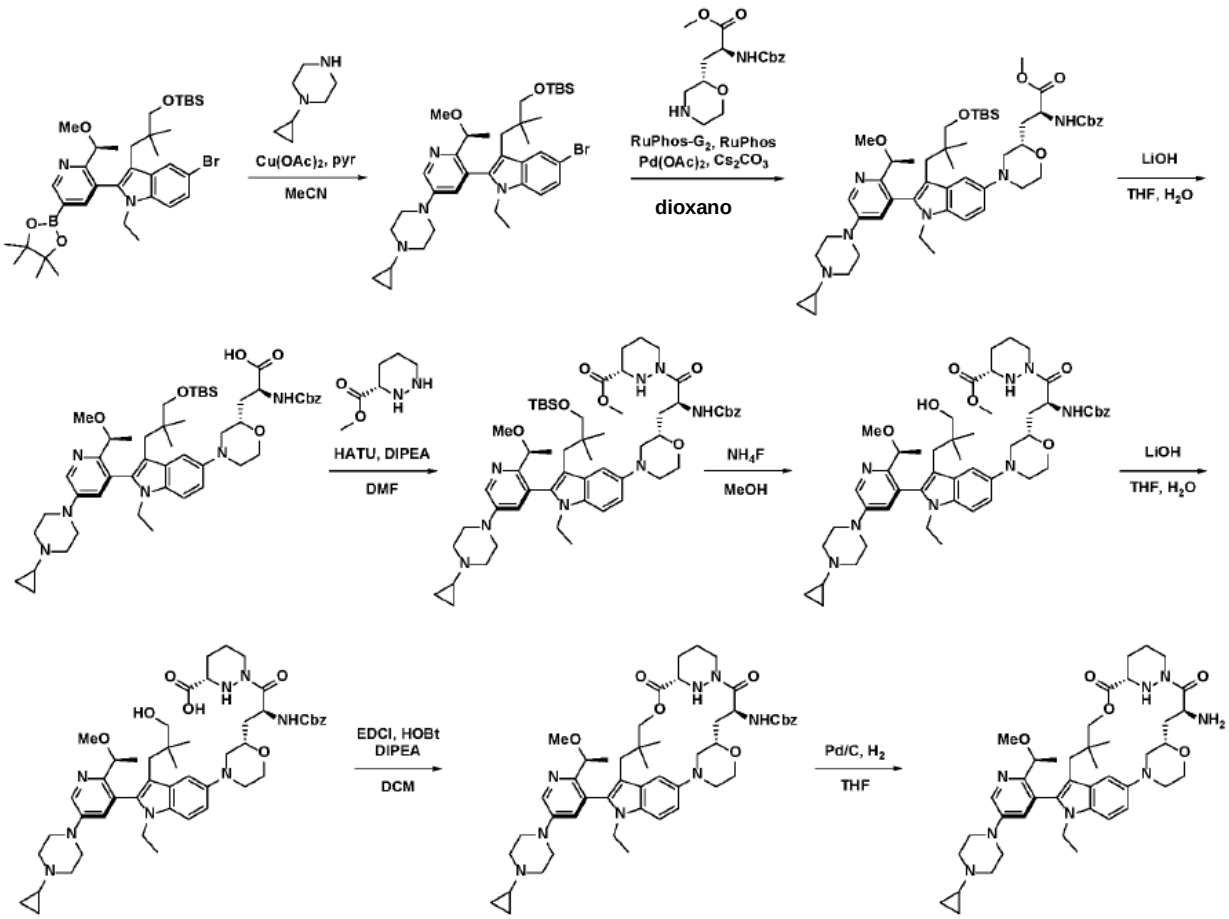
A una solución agitada de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(1-etil-3-(3-

hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (1,0 g, 1,13 mmol) y HOBt (0,76 g, 5,65 mmol) en DCM (100 mL) se añadió EDC•HCl (6,06 g, 31,64 mmol) y DIPEA (5,11 g, 39,55 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. Luego la mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 100 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 mL) y se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3 %) para proporcionar el producto (650 mg, 66 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{70}N_8O_6$: 867,55; se encontró 867,5

Paso 5: Síntesis de (6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazina-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución agitada de terc-butilo ((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-4-il)carbamato (300 mg, 0,346 mmol) en DCM (3 mL) se añadió TFA (3 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. Luego la mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (260 mg, 98 % de rendimiento) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{62}N_8O_4$: 767,50; se encontró 767,2

Intermedio 26: Síntesis de (2^2S,6^3S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)- piridazinaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de (S)-5-bromo-3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietilo)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol

A una solución de (S)-5-bromo-3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-(1-metoxietil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-3-il)-1H-indol (20 g, 29,2 mmol) en MeCN (100 mL) se añadió 1-ciclopropilpiperazina (5,53 g, 43,8 mmol), piridina (6,93 g, 87,6 mmol) y $Cu(OAc)_2$ (10,61 g, 58,4 mmol), seguido de la adición de 4Å MS (20 g). La reacción se agitó a 60 °C durante 16 h en O_2. Luego la mezcla se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo 2:1, luego EtOAc/MeOH 10:1) para proporcionar el producto deseado (6 g, 30 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) ***m /z*** [M + H] calculado para $C_{36}H_{55}BrN_4O_2Si$: 683,34; se encontró: 683,3.

Paso 2: Síntesis de metilo (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoato

A una solución de (S)-5-bromo-3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol (4 g, 5,8 mmol) en dioxano (40 mL) se añadió metilo (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-morfolin-2-il)propanoato (2,8 g, 8,7 mmol), RuPhos (0,81 g, 1,7 mmol), CS_2CO_3 (5,67 g, 17,4 mmol), Ruphos Pd G2 (0,45 g, 0,6 mmol) y $Pd(OAc)_2$ (0,13 g, 0,6 mmol). La reacción se agitó a 105 °C durante 4 h en N_2. La mezcla

se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (Al_2O_3 básico, EtOAc/éter de petróleo 1:1) para propocionar el producto deseado (2 g, 38 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{76}N_6O_7Si$: 925,56; se encontró 925,5.

Paso 3: Síntesis de ácido (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoico

A una solución de metilo (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoato (2 g, 2,2 mmol) en THF (20 mL) y H_2O (6 mL) se añadió LiOH (0,26 g, 11 mmol) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla se ajustó a pH 6 con 1 N de HCl y se extrajo con EtOAc (2 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y concentraron a presión reducida para proporcionar (1,8 g, bruto) en forma de un sólido, el cual se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{74}N_6O_7Si$: 911,55; se encontró 911,5.

Paso 4: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoico (1,8 g, 2,0 mmol) en DMF (15 mL) se añadió una solución de metilo (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato (0,43 g, 3 mmol) y DIPEA (1,3 g, 10 mmol) a 0 °C en DMF (5 mL), seguido de HATU (0,91 g, 2,4 mmol). La reacción se agitó a 0 °C durante 2 h. La mezcla se diluyó con EtOAc (40 mL) y se inactivó con H_2O (30 mL). La capa orgánica se lavó con H_2O (2 x 30 mL) y salmuera (30 mL), se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en fase normal (EtOAc/MeOH 20:1) para proporcionar el producto deseado (1,8 g, 85 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M/2 + H] calculado para $C_{57}H_{84}N_8O_8Si$: 519,32; se encontró 519,4.

Paso 5: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de metilo (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,8 g, 1,7 mmol) en MeOH (20 mL) se añadió NH_4F (2,52 g, 67,9 mmol). La reacción se agitó a 80 °C durante 16 h. La mezcla se concentró a presión reducida, y el residuo se diluyó con DCM (30 mL). Después

de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto (1,7 g, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{70}N_8O_8$: 923,54; se encontró 923,4.

Paso 6: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,8 g, 1,9 mmol) en THF (20 ML) y H_2O (5 ML) se añadió LiOH (0,23 g, 9,5 mmol) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla se ajustó a Ph 7 con 1 N de HCl. La solución resultante se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (1,8 g, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{68}N_8O_8$: 909,53; se encontró 909,5.

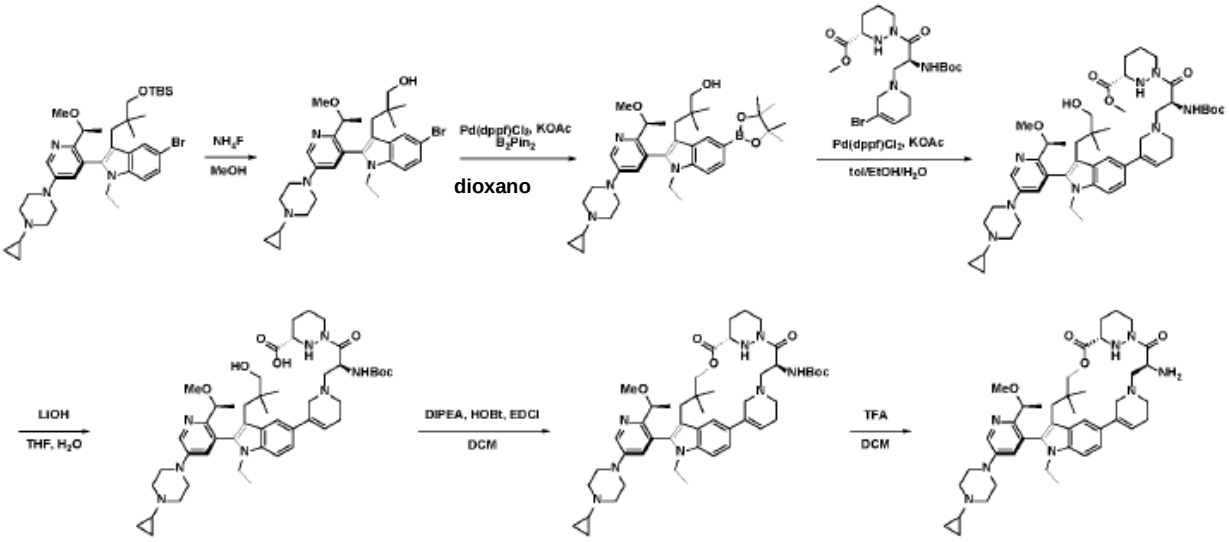
Paso 7: Síntesis de bencilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounDecafano-4-il)carbamato

A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-Ii)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (1,6 g, 1,8 mmol) en DCM (160 ML) se añadió DIPEA (6,98 g, 54 mmol), HOBt (2,43 g, 18 mmol) y EDCI (10,4 g, 54 mmol). La reacción se agitó a 30 °C durante 16 h. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se diluyó con EtOAc (50 ML). La capa orgánica se lavó con H_2O (2 x 40 ML) y salmuera (40 ML), se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en fase normal (EtOAc/MeOH 10:1) para proporcionar el producto deseado (0,8 g, 50 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{66}N_8O_7$: 891,52; se encontró 891,6.

Paso 8: Síntesis de (2^{2}S,6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounDecafano-5,7-diona

A una solución de bencilo (2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounDecafano-4-il)carbamato (700 mg, 0,79 mmol) en THF (10 ML) se añadió Pd/C al 10 % (350 mg). La reacción se agitó durante 6 h en H_2 (1 atm). La mezcla se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en fase normal (EtOAc (1 % de NH_3H_2O)/MeOH (1 % de NH_3H_2O) 10:1) para proporcionar el producto deseado (420 mg, 71 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{42}H_{60}N_8O_5$: 757,48; se encontró 757,5.

Intermedio 27: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounDecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de (S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol

Una solución de (S)-5-bromo-3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol (3 g, 4 mmol) y NH_4F (6,5 g, 176 mmol, 40 eq) en MeOH (30 mL) se agitó durante 16 h a 80 °C. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (50 mL) y se lavó con H_2O (2 x 50 mL). La fase orgánica se concentró a presión reducida para proporcionar (4,2 g, 95 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{30}H_{41}BrN_4O_2$: 569,25; se encontró 569,3.

Paso 2: Síntesis de (S)-3-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol

A una solución de (S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (3 g, 5,3 mmol) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolan (1,5 g, 5,8 mmol) en 1,4-dioxano (30 mL) se añadió KOAc (1 g, 10,5 mmol) seguido de Pd(dppf)Cl_2·DCM (860 mg, 1,1 mmol) en atmósfera de N_2. La mezcla resultante se agitó durante 6 horas a 85 °C. La mezcla se concentró a presión para dar el residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en fase normal (EtOAc/éter de petróleo 5:1) para proporcionar el producto deseado (2 g, 61 % de rendimiento) en forma de un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{36}H_{53}BN_4O_4$: 617,43; se encontró 617,3.

Paso 3: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-

indoI-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de (S)-3-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroIan-2-iI)-1H-indoI-3-iI)-2,2-dimetilpropan-1-oI (1,7 g, 2,8 mmol) y metilo (S)-1-((S)-3-(5-bromo-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,4 g, 3 mmol) en tolueno (20 mL), EtOH (4 mL), y H_2O (1 mL) se añadió K_2CO_3 (1,2 g, 8,4 mmol) seguido de $Pd(dppf)Cl_2$·DCM (230 mg, 0,28 mmol) en atmósfera de N_2. La mezcla resultante se agitó durante 6 horas a 85 °C en atmósfera de N_2. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en fase normal (EtOAc/éter de petróleo 5:1) para proporcionar el producto deseado (1 g, 40 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{72}N_8O_7$: 885,56; se encontró 885,5.

Paso 4: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(2-(5-4-ciclopropipiperazina-1-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoiI)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (900 mg, 1 mmol) en THF (4 mL) se añadió una solución de hidróxido de litio (260 mg, 6,1 mmol) en H_2O (1 ml). La mezcla resultante se agitó durante 3 horas. La mezcla de reacción se trató con 1 N de HCl a pH 4 a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM (2 X 20 mL) y la capa orgánica se lavó con salmuera. La solución se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (1,0 g) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{48}H_{70}N_8O_7$: 871,55; se encontró 871,5.

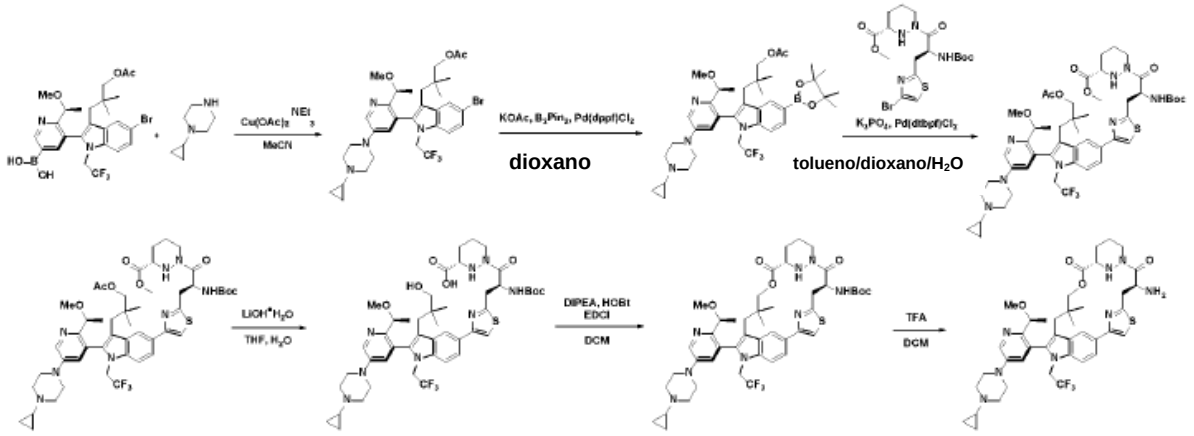
Paso 5: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)carbamato

A una solución agitada de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (900 mg, 1 mmol) y DIPEA (4 g, 30 mmol) en DCM (100 ml) se añadió EDCI (5,9 g, 30 mmol) y HOBt (1,4 g, 10 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 16 horas a 35 °C en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna en fase normal (éter de petróleo/EtOAc/NH_3·H_2O(1:5:0,05) para proporcionar el producto deseado (450 mg, 53 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{48}H_{68}N_8O_6$: 853,54; se encontró 853,4.

Paso 6: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)carbamato (230 mg, 0,024 mmol) en DCM (1,5 ml) se añadió TFA (0,5 ml). La solución se agitó durante 1 h y luego se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (280 mg). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{60}N_8O_4$: 753,48; se encontró 753,5.

Intermedio 28: Síntesis de (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución agitada de ácido (S)-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-5-bromo-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)borónico (40 g, 61,514 mmol) y NEt_3 (12,45 g, 123,028 mmol) en MeCN (1000 mL) se añadió 4Å MS (8 g) y 1-ciclopropilpiperazina (38,82 g, 307,570 mmol) en porciones en atmósfera de oxígeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en una atmósfera de oxígeno. A la mezcla anterior se le añadió $Cu(OAc)_2$ (22,35 g, 123,028 mmol) y después el recipiente se evacuó, se volvió a llenar con oxígeno y después se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla resultante se filtró y se concentro a presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc (300 mL) y la capa orgánica se lavó con $NH_3 \cdot H_2O$ (4 x 100 mL), se secó en Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de (EtOAc al 50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (23,7 g, 56 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{32}H_{40}BrF_3N_4O_3$ 665,23; se encontró: 666,0.

Paso 2: Síntesis de acetato de (S)-3-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetilo)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (26 g, 39,063 mmol) y KOAc (13,42 g, 136,721 mmol) en dioxano (260 ML) se añadió B_2Pin_2 (37,7 g,148,4mmol) y $Pd(dppf)CL_2$ (2,86 g, 3,906 mmol). La mezcla resultante se evacuó y se rellenó con argón y luego se agitó a 90 °C durante 3 h. La mezcla resultante se filtró, la torta de filtro se lavó con EtOAc (2 x 200 mL), y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 80 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (17 g, 61 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{38}H_{52}BF_3N_4O_5$ 713,41; se encontró: 713,3.

Paso 3: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato de (S)-3-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (17 g, 23,854 mmol), metilo (S)-1-((S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (13,66 g, 28,625 mmol) y K_3PO_4 (12,66 g, 59,635 mmol) en tolueno (170 mL), dioxano (57 mL) y H_2O (57 mL) se añadió 1,1'-bis(di-terc-butilfosfino)dicloruro de paladio y ferroceno (1,55 g, 2,385 mmol) en porciones en una atmósfera de argón. Se agregó a la mezcla. La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 2 h. La mezcla se filtró, la torta de filtro se lavó con EtOAc (3 x 100 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 200 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3 %) para proporcionar el producto deseado (20,4 g, 87 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{65}F_3N_8O_8S$ 983,47; se encontró: 983,6.

Paso 4: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)tiazoI-2-iI)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indoI-5-il)tiazoI-2-il)-2-((terc-butoxicarbonilo)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (20 g, 20,343 mmol) en THF (200 mL) se añadió una solución de LiOH (2,56 g, 61,029 mmol) en H_2O (61 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Luego la mezcla de acidificó a pH 6 con 1 N de HCl (ac.) y luego se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto (18,8 g), que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{46}H_{61}F_3N_8O_7S$ 927,44; se encontró: 927,3.

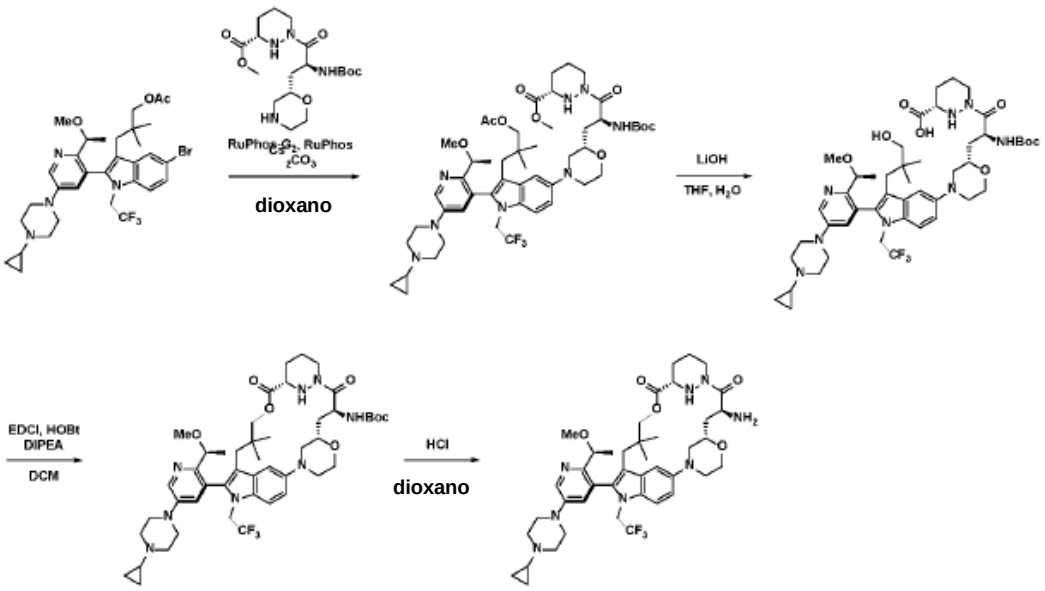
Paso 5: Síntesis de terc-butilo (6^3S,4S,Z)-1^2-(5-(4-ciclopropipiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8- oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato

A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (15 g, 16,179 mmol), DIPEA (112,73 mL, 647,160 mmol), y HOBt (43,72 g, 323,580 mmol) en DCM (768 mL) a 0 °C se añadió EDCI (93,05 g, 485,370 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de H_2O frío (500 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 500 ML), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 500 ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3 %) para proporcionar el producto deseado (7,5 g, 51 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{46}H_{59}F_3N_8O_6S$ 909,43; se encontró: 909,3.

Paso 6: Síntesis de (6^3S,4S,Z)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((6^3S,4S,Z)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato (8,2 g, 9,02 mmol) en DCM (80 mL) a 0 °C se añadió TFA (40 mL, 538,52 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Luego la mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se ajustó a pH 8 con $NaHCO_3$ (ac.) sat. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 300 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (8,0 g, 98 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{41}H_{51}F_3N_8O_4S$ 809,38; se encontró: 809,5.

Intermedio 29: Síntesis de (2^2S,6^3S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-((S)-4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)- 2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato 3(S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2- trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (65,0 g, 97,66 mmol) y metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (78,2 g, 0,195 mol) en dioxano (650 mL) se añadió RuPhos (27,3 g, 58,60 mmol), RuPhos-G2-Pd (22,7 g, 29,30 mmol), y Cs_2CO_3 (95,5 g, 0,29 mol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a 80 °C. Luego la mezcla de reacción se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (3 x 100 ml), y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto deseado (63 g, 65 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{50}H_{71}F_3N_8O_9$ 985,54; se encontró: 985,8.

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolina-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-((S)-4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (79 g, 80,19 mmol) en THF (700 mL) se añadió una solución de $LiOH \cdot H_2O$ (16,7 g, 0,398 mol) en H_2O (150 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 5 h a temperatura ambiente. Luego la mezcla se acidificó a pH 5 con 1M de HCl. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 500 mL) y la capa orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para dar el producto deseado (70 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para

$C_{47}H_{67}F_3N_8O_8$ 929,51; se encontró: 929,4.

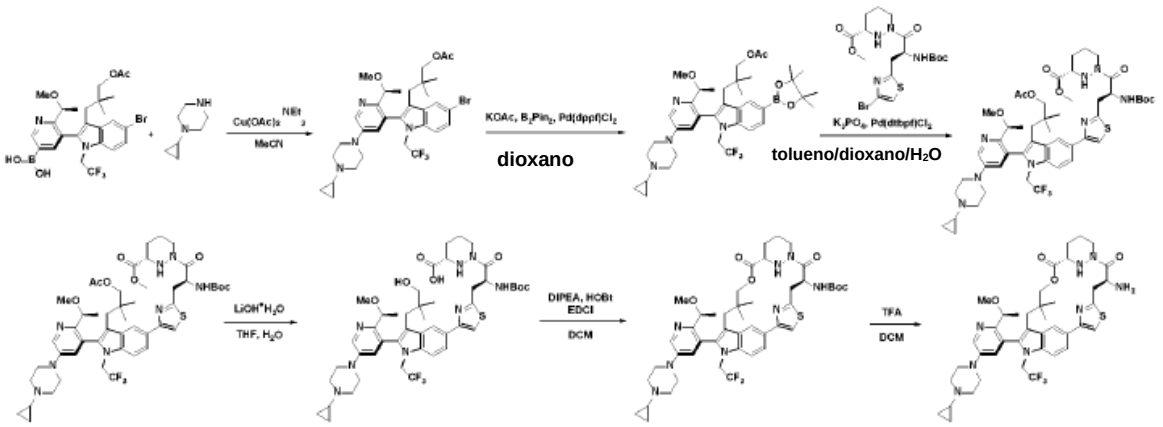
Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropipiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato

A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolina-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (55,7 g, 59,95 mmol) y DIPEA (208,8 mL, 1,199 mol) en DCM (6500 mL) a 0 °C se añadió EDCI (229,9 g, 1,199 mol) y HOBt (40,5 g, 0,299 mol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de H_2O frío (500 mL) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 800 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 × 500 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto deseado (35,0 g, 64 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{47}H_{65}F_3N_8O_7$ 911,50; se encontró: 911,3.

Paso 4: Síntesis de (2^{2}S,6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato (33 g, 36,07 mmol) en DCM (180 mL) a 0 °C se añadió HCl en 1,4-dioxano (180 mL). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y luego la mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (33 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{42}H_{57}F_3N_8O_5$ 811,45; se encontró: 811,3.

Intermedio 30: Síntesis de (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetilo)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución de ácido (S)-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-5-bromo-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)borónico (40 g, 61,514 mmol) y NEt_3 (12,45 g, 123,028 mmol) en MeCN (1000 mL) se añadió 4Å MS (8 g) y 1-ciclopropipiperazina (38,82 g, 307,570 mmol) en porciones en una atmósfera de oxígeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en una atmósfera de oxígeno. A la mezcla anterior se le añadió $Cu(OAc)_2$ (22,35 g, 123,028 mmol) y después el recipiente se evacuó, se volvió a llenar con oxígeno y después se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla resultante se filtró y se concentro a presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc (300 mL) y la capa orgánica se lavó con $NH_3•H_2O$ (4 x 100 mL), se secó en Na_2SO_4, y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna EtOAc/éter de petróleo al 50 %) para proporcionar el producto deseado (23,7 g, 56% yield) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{32}H_{40}BrF_3N_4O_3$ 665,23; se encontró: 666,0.

Paso 2: Síntesis de acetato de (S)-3-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroIan-2-iI)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indoI-3-iI)-2,2-dimetilpropilo

A una solución de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetilo)-1H-indoI-3-iI)-2,2-dimetilpropilo (26 g, 39,063 mmol) y KOAc (13,42 g, 136,721 mmol) en dioxano (260 mL) se añadió B_2Pin_2 (37,7 g,148,4mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (2,86 g, 3,906 mmol). La mezcla resultante se evacuó y se rellenó con argón y luego se agitó a 90 °C durante 3 h. La mezcla resultante se filtró, la torta de filtro se lavó con EtOAc (2 x 200 mL), y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 80 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (17 g, 61 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{38}H_{52}BF_3N_4O_5$ 713,41; se encontró: 713,3.

Paso 3: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indoI-5-il)tiazoI-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato de (S)-3-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroIan-2-iI)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indoI-3-iI)-2,2-dimetilpropilo (17 g, 23,854 mmol), metilo (S)-1-((S)-3-(4-bromotiazoI-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (13,66 g, 28,625 mmol) y K_3PO_4 (12,66 g, 59,635 mmol) en tolueno (170 mL), dioxano (57 mL) y H_2O (57 mL) se añadió 1,1'-bis(di-terc-butilfosfino)dicloruro de paladio y ferroceno (1,55 g, 2,385 mmol) en porciones en una atmósfera de argón. Se agregó a la mezcla. La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 2 h. La mezcla se filtró, la torta de filtro se lavó con EtOAc (3 x 100 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 200 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3 %) para proporcionar el producto deseado (20,4 g, 87 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{65}F_3N_8O_8S$ 983,47; se encontró: 983,6.

Paso 4: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)tiazoI-2-iI)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indoI-5-il)tiazoI-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (20 g, 20,343 mmol) en THF (200 mL) se añadió una solución de LiOH (2,56 g, 61,029 mmol) en H_2O (61 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Luego la mezcla de acidificó a pH 6 con 1 N de HCl (ac.) y luego se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto (18,8 g), que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{46}H_{61}F_3N_8O_7S$ 927,44; se encontró: 927,3.

Paso 5: Síntesis de terc-butilo (6^3S,4S,Z)-1^2-(5-(4-ciclopropipiperazin-1-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8- oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclounDecafano-4-il)carbamato

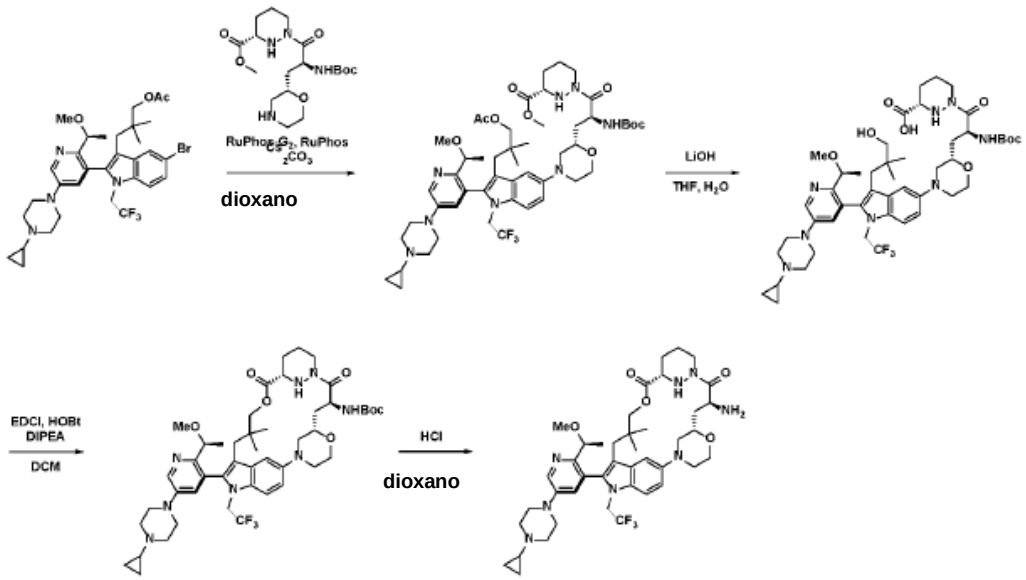
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indoI-5-iI)tiazoI-2-iI)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (15 g, 16,179 mmol), DIPEA (112,73 mL, 647,160 mmol), y HOBt (43,72 g, 323,580 mmol) en DCM (768 mL) a 0 °C se añadió EDCI (93,05 g, 485,370 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de H_2O frío (500 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 500 ML), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 500 ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice

(MeOH/DCM al 3 %) para proporcionar el producto deseado (7,5 g, 51 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{46}H_{59}F_3N_8O_6S$ 909,43; se encontró: 909,3.

Paso 6: Síntesis de (6^3S,4S,Z)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((6^3S,4S,Z)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato (8,2 g, 9,02 mmol) en DCM (80 mL) a 0 °C se añadió TFA (40 mL, 538,52 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Luego la mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se ajustó a pH 8 con $NaHCO_3$ (ac.) sat. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 300 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (8,0 g, 98 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{41}H_{51}F_3N_8O_4S$ 809,38; se encontró: 809,5.

Intermedio 31: Síntesis de (2^2S,6^3S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-((S)-4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato de 3(S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (65,0 g, 97,66 mmol) y metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-morfolin-2-

il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (78,2 g, 0,195 mol) en dioxano (650 mL) se añadió RuPhos (27,3 g, 58,60 mmol), RuPhos-G2-Pd (22,7 g, 29,30 mmol), y Cs_2CO_3 (95,5 g, 0,29 mol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a 80 °C. Luego la mezcla de reacción se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (3 x 100 ml), y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto deseado (63 g, 65 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{50}H_{71}F_3N_8O_9$ 985,54; se encontró 985,8.

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-((S)-4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (79 g, 80,19 mmol) en THF (700 mL) se añadió a una solución de $LiOH \cdot H_2O$ (16,7 g, 0,398 mol) en H_2O (150 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 5 h a temperatura ambiente. Luego la mezcla se acidificó a pH 5 con 1 M de HCl. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 500 mL) y la capa orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para dar el producto deseado (70 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{47}H_{67}F_3N_8O_8$ 929,51; se encontró: 929,4.

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3))-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)carbamato

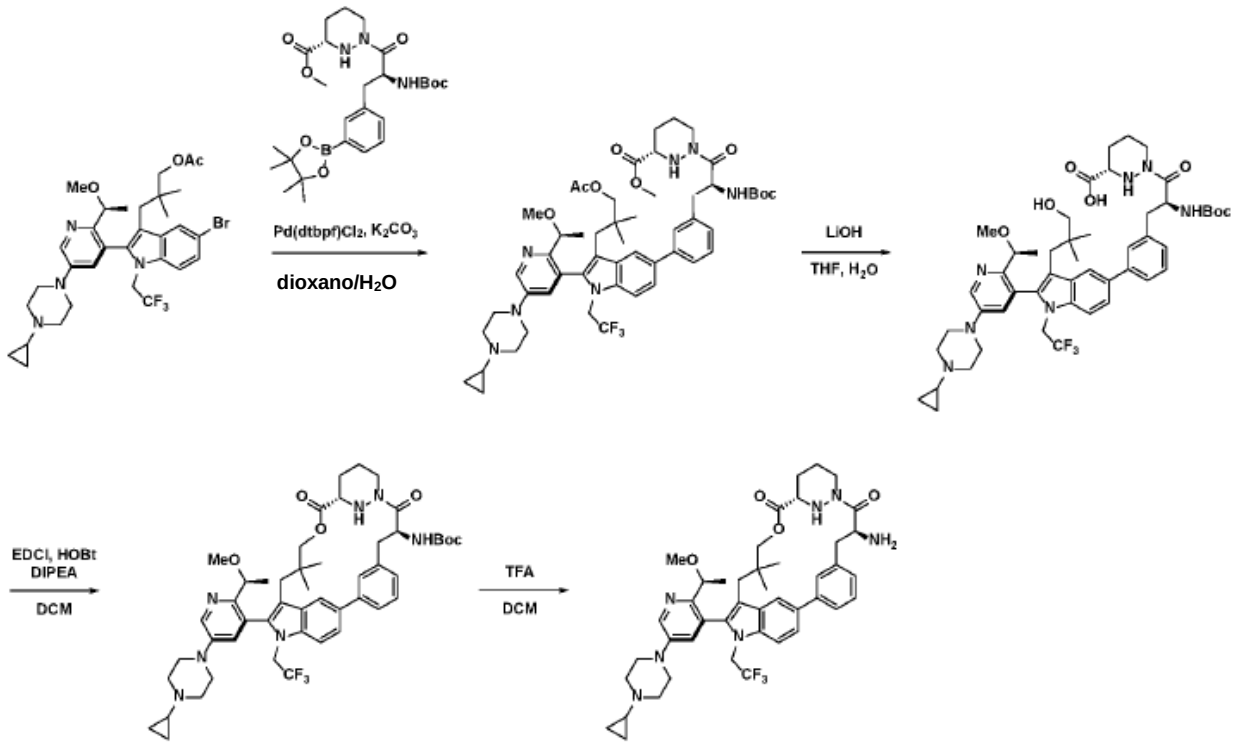
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-4-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (55,7 g, 59,95 mmol) y DIPEA (208,8 mL, 1,199 mol) en DCM (6500 mL) a 0 °C se añadió EDCI (229,9 g, 1,199 mol) y HOBt (40,5 g, 0,299 mol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de H_2O frío (500 mL) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 800 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 × 500 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el producto deseado (35,0 g, 64 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{47}H_{65}F_3N_8O_7$ 911,50; se encontró: 911,3.

Paso 4: Síntesis de (2^{2}S,6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-

1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)carbamato (33 g, 36,07 mmol) en DCM (180 mL) a 0 °C se añadió HCl en 1,4-dioxano (180 mL). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y luego la mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (33 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{42}H_{57}F_3N_8O_5$ 811,45; se encontró: 811,3.

Intermedio 32: Síntesis de (6^3S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato 3(S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilopropilo (1 g, 1,502 mmol), metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (1,14 g, 2,253 mmol) en 1,4-dioxano (10 mL) y H_2O (2 mL) se añadió K_2CO_3 (415,28 mg, 3,004 mmol) y Pd(dtbpf)Cl_2 (97,92 mg, 0,150 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 65 °C. Los sólidos precipitados se recolectaron mediante filtración y se lavaron con DCM (30 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 × 20 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto

deseado (860 mg, 90 % de rendimiento) como un sólido LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{68}F_3N_7O_8$ 976,52; se encontró: 976,9.

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indoI-5-il)fenil-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (6,8 g, 6,963 mmol) en THF (68 mL) se añadió una solución de $LiOH•H_2O$ (4,096 mmol) en H_2O (13,9 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche y luego se acidificó a pH 5 con 1 M de HCl. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (6 g, 90 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{64}F_3N_7O_7$ 920,49; se encontró: 920,9.

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2- ((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclOundecafano-4-il)carbamato

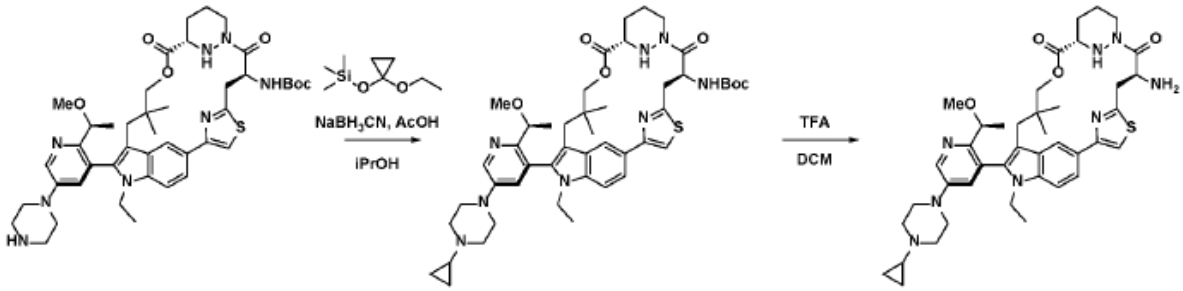
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-iI)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indoI-5-iI)fenilI)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (5 g, 5,434 mmol) en DCM (40 mL) a 0 °C se añadió DIPEA (28,09 g, 217,360 mmol) y HOBt (7,34 g, 54,34mmoI). A la mezcla se le añadió una solución de EDCI (31,25 g, 163,020 mmol) en DCM (10 mL). La mezcla resultante se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se absorbió en EtOAc (100 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 100 mL), se secó en Na_2SO_4, se filtró, y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3 %) para proporcionar el producto deseado (4,2 g, 79 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{62}F_3N_7O_6$ 902,48; se encontró: 902,1.

Paso 4: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa- 6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclOundecafano-4-il)carbamato (1,8 g, 1,995 mmoI) en DCM (16 mL) a 0 °C se añadió TFA (4 mL). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 1 h y luego la mezcla se neutralizó hasta pH 7 con $NaHCO_3$ sat. (ac.). La mezcla resultante se extrajo con DCM (100 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida

para proporcionar el producto deseado (1,5 g, 89 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{54}F_3N_7O_4$ 802,43; se encontró: 802,8.

Intermedio 33: Síntesis de (6³S,4S,Z)-4-amino-1²-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1¹-etil-10,10-dimetil-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (6³S,4S,Z)-1²-(5-(4-ciclopropipiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1¹-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato

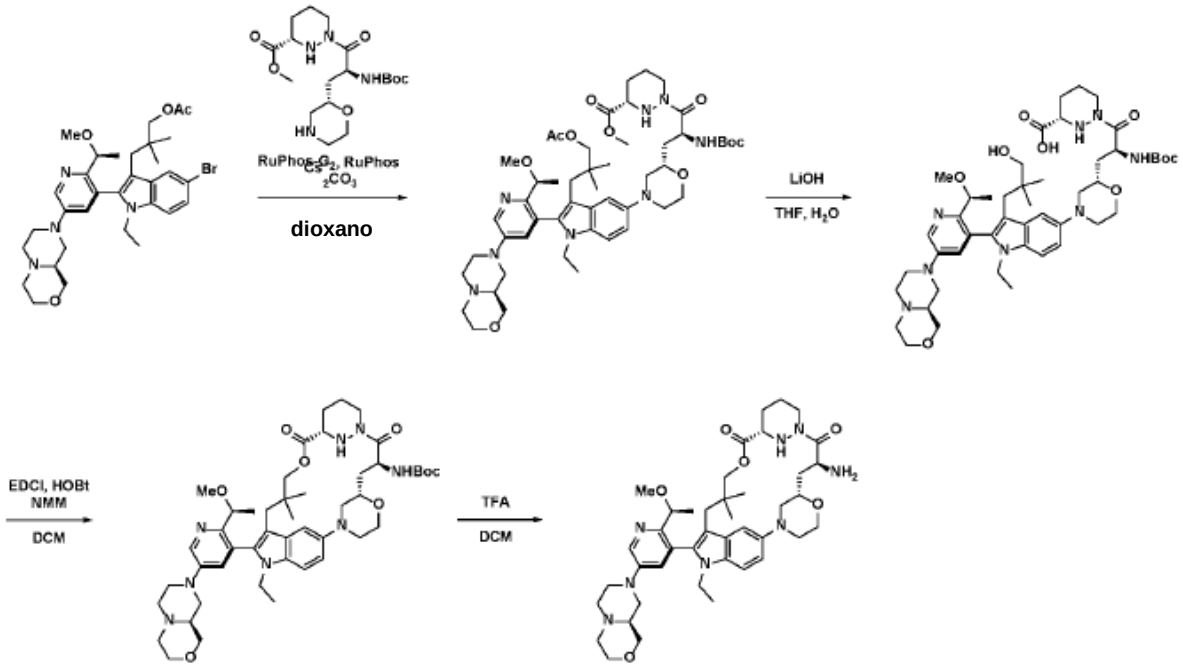
A una solución de terc-butilo ((6³S,4S,Z)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)-5-(piperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinacicIoundecafano-4-il)carbamato (2 g, 2,454 mmol) y (1-etoxiciclopropoxi)trimetilsilano (0,86 g, 4,908 mmol) en 2-propanol (20 mL) a temperatura ambiente, se añadió $NaBH_3CN$ (0,46 g, 7,362 mmol) y AcOH (0,28 ml, 4,908 mmol). La mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 16 h, y luego la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió NH_4Cl sat. (30 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 20 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 20 ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 3 %) para proporcionar el producto deseado (1,5 g, 71 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{46}H_{62}N_8O_6$ 855,46; se encontró: 856,4.

Paso 2: Síntesis de (6³S,4S,Z)-4-amino-1²-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1¹-etil-10,10-dimetil-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona

Una solución de terc-butilo ((6³S,4S,Z)-1²-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1¹-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8- oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato (1,56 g, 1,824 mmol) y TFA (4 mL) en DCM (16 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y luego se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc (30 mL) y se la mezcla se basificó en pH 8 con $NaHCO_3$ sat. (ac.). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 40 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 20 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron

y se concentraron a presión reducida para obtener el producto deseado (1,36 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{41}H_{54}N_8O_4S$ 755,41; se encontró: 755,3.

Intermedio 34: Síntesis de (2²S,6³S,4S)-4-amino-1¹-etil-1²-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de (S)-1-((S)-3-((S)-4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (15 g, 23,900 mmol) y metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (12,44 g, 31,070 mmol) en dioxano (150 mL) se añadió RuPhos (2,23 g, 4,780 mmol), RuPhos-G2-Pd (1,86 g, 2,390 mmol), y Cs_2CO_3 (3,64 g, 47,800 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a 90 °C. Luego la mezcla de reacción se filtró, la torta de filtro se lavó con EtOAc (3 x 100 mL), y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 9 %) para proporcionar el producto deseado (15,3 g, 33 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{74}N_8O_{10}$ 947,56; se encontró: 947,4.

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-4-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-((S)-4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino [2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (7,6 g, 8,024 mmol) en THF (34 mL) y H_2O (34) se añadió $LiOH•H_2O$ (0,96 g, 40,120 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Luego la mezcla se acidificó a pH 5 con HCl (1 M). La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 100 mL) y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (3 x 100 mL), se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (6,4 g, 89 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{47}H_{70}N_8O_9$ 891,54; se encontró: 891,5.

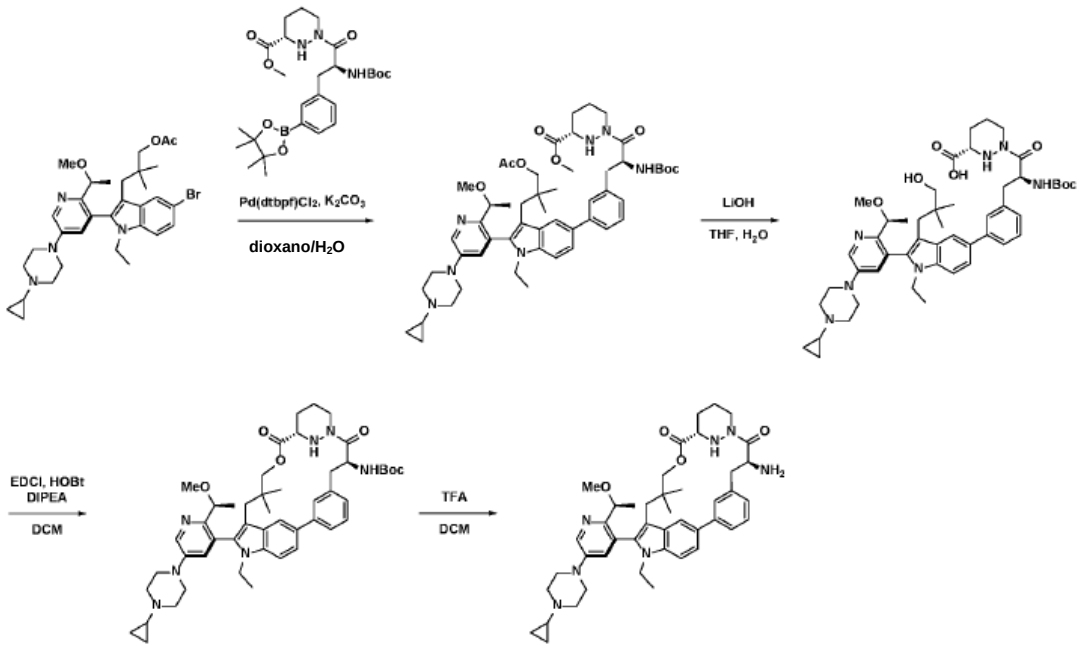
Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato

A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-4-(1-etil-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (6,4 g, 7,182 mmol) y NMM (58,11 g, 574,560 mmol) en DCM (640 mL) a 0 °C se añadió EDCI (82,61 g, 430,920 mmol) y HOBt (14,6 g, 75,9 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y se recogió en EtOAc (3 x 300 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (3 x 200 mL), se secó en Na_2SO_4, se filtró, y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 8 %) para proporcionar el producto deseado (3,2 g, 51 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{47}H_{68}N_8O_8$ 873,53; se encontró: 873,4.

Paso 4: Síntesis de (2^{2}S,6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato (1 g, 1,145 mmol) en DCM (20 mL) a 0 °C se añadió TFA (10 mL). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 3 h y luego se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{42}H_{60}N_8O_6$ 773,47; se encontró: 773,5.

Intermedio 35: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (10 g, 16,350 mmol) y metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (12,69 g, 24,525 mmol) en 1,4-dioxano (110 mL) y H_2O (20 mL) se añadió K_2CO_3 (4,52 g, 32,700 mmol) y Pd(dtbpf)Cl_2 (1,07 g, 1,635 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 70 °C. Los sólidos precipitados se recolectaron mediante filtración y se lavaron con DCM (2 x 200 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera (2 x 100 mL), se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto deseado (8,5 g, 56 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{71}N_7O_8$ 922,55; se encontró: 922,7.

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-1H-indol-5-il)fenil)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (7 g, 7,591 mmol) en THF (70 mL) se añadió una solución de LiOH•H_2O (0,96 g, 22,773) en H_2O (22 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche y luego se acidificó a pH 6 con 1 M de HCl. La mezcla resultante se extrajo con DCM (2 x 100 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con

salmuera (2 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{67}N_7O_7$ 866,52; se encontró: 866,4.

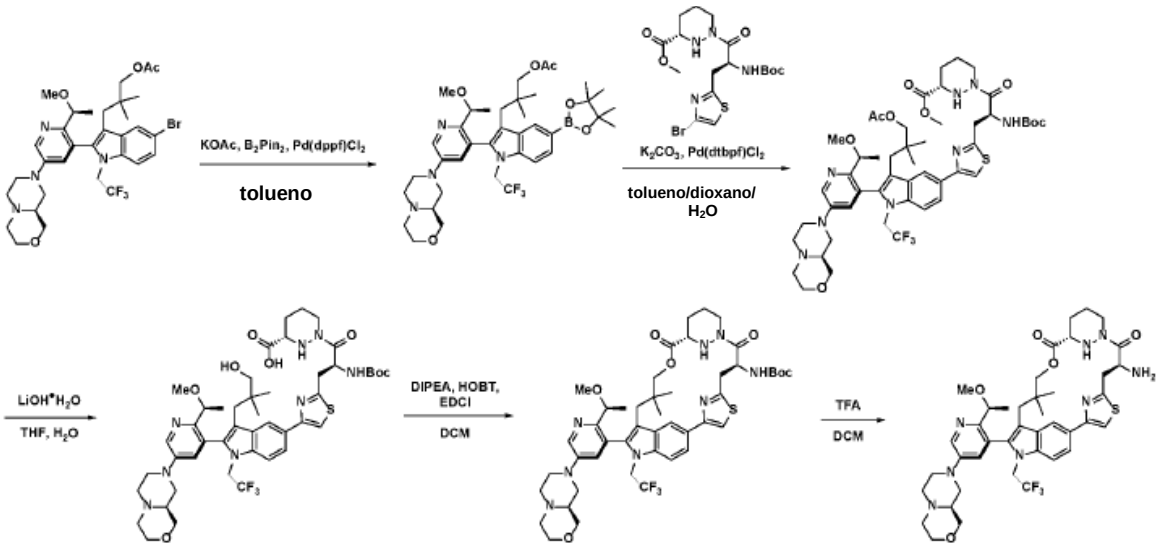
Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2- ((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)carbamato

A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (6 g, 6,927 mmol) en DCM (240 mL) a 0 °C se añadió DIPEA (35,81 g, 277,080 mmol) y HOBt (9,36 g, 69,270 mmol). A la mezcla se le añadió una solución de EDCI (39,84 g, 207,810 mmol) en DCM (240 mL). La mezcla resultante se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se recogió en EtOAc (200 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó en Na_2SO_4, se filtró, y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto deseado (43,8 g, 64 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{65}N_7O_6$ 848,51; se encontró: 848,7.

Paso 4: Síntesis de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicIoundecafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((6^{3}S,4S)-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1^1-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicIoundecafano-4-iI)carbamato (1,5 g, 1,769 mmol) en DCM (15 mL) a 0 °C se añadió TFA (7 mL). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 1 h y luego la mezcla se neutralizó a pH 8 con $NaHCO_3$ sat. (ac.). La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 100 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{57}N_7O_4$ 748,45; se encontró: 748,4.

Intermedio 36: Síntesis de (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de acetato de 3-(2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil) piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución de acetato 3-(5-bromo-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (26,5 g, 38,879 mmol), KOAc (9,54 g, 97,197 mmol) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(tetrametil-1,3,2-dioxaborolano-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (19,75 g, 77,758 mmol) en tolueno (300 mL) se añadió $Pd(dppf)Cl_2$ (2,84 g, 3,888 mmol) en porciones a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 90 °C. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con DCM (3 x 500 mL). Las filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 20 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto (325 g, 83 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calcd for $C_{38}H_{52}BF_3N_4O_6$: 729,40; se encontró 729,5.

Paso 2: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una mezcla agitada de acetato de 3-(2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (25 g, 34,310 mmol), metilo (S)-1-((S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (19,65 g, 41,172 mmol) y K_2CO_3 (11,85 g, 85,775 mmol) en tolueno (200 mL) se añadió dioxano (100 mL) y H_2O (50 mL) se añadió $Pd(dtbpf)Cl_2$ (2,24 g, 3,431 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 °C. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con DCM (3 x 500 mL). El filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en

Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 20 %) para proporcionar el producto deseado (32 g, 84 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{65}F_3N_8O_9S$: 999,46; se encontró 999,8.

Paso 3: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (32 g, 32,027 mmol) en THF (320 mL) y H_2O (300 mL) a 0 °C se añadió $LiOH•H_2O$ (5,38 g, 128,108 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó a pH 7 con HCl (ac.). La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 500 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (30 g, 89% de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{46}H_{61}F_3N_8O_8S$: 943,43; se encontró 943,8

Paso 4: Síntesis de terc-butilo ((6^{3}S,4S,Z)-12-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)carbamato

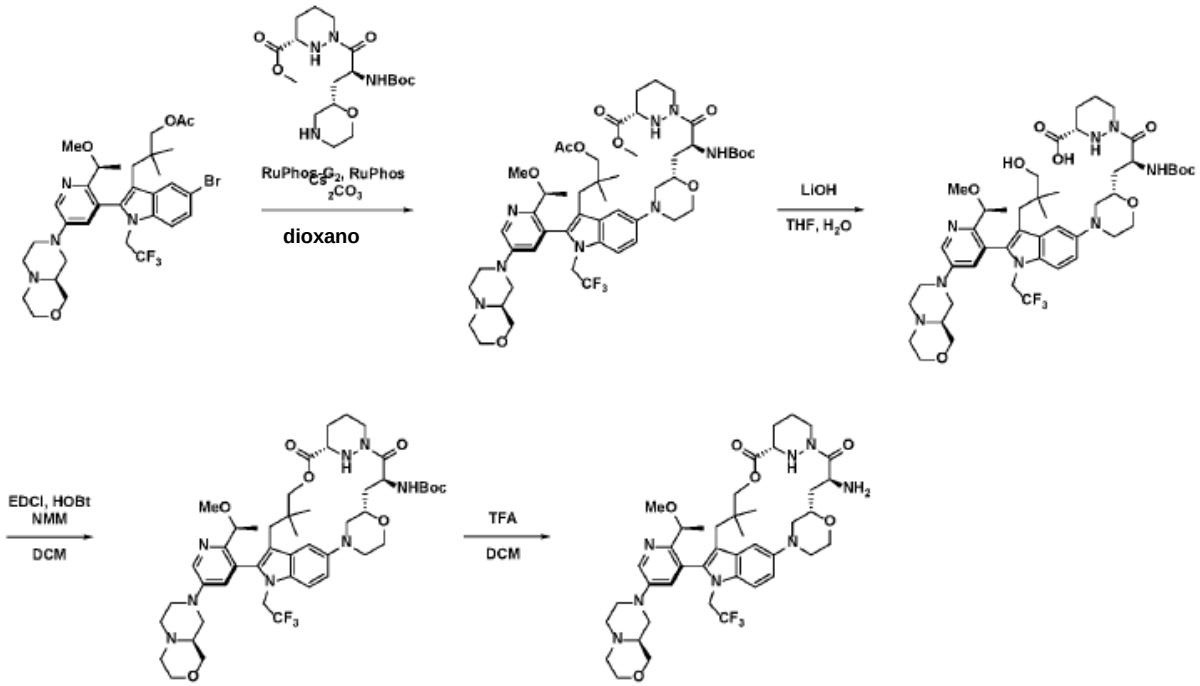
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (30 g, 31,810 mmol), HOBt (25,79 g, 190,860 mmol) y DIPEA (164,45 g, 1272,400 mmol) en DCM (3 L) a 0 °C se añadió EDCI (182,94 g, 954,300 mmol) en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante durante la noche a temperatura ambiente y luego se agregó H_2O frío (5 L). Luego la mezcla se extrajo con DCM (3 x 1 L) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 1 L), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 20 %) para proporcionar el producto deseado (20 g, 64 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{46}H_{59}F_3N_8O_7S$: 925,43; se encontró 925,5

Paso 5: Síntesis de (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((6^{3}S,4S,Z)-12-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-

$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato (977 mg, 0,843 mmol) en DCM (8 mL) se añadió TFA (8 mL) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 1 h. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron a Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (766 mg, 88 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{41}H_{51}F_3N_8O_5S$: 825,38; se encontró 825,6.

Intermedio 37: Síntesis de (2^2S,6^3S,4S)-4-amino-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-((S)-4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2 ,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato de 3-(5-bromo-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (9,5 g, 13,938 mmol) y metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (11,16 g, 27,876 mmol) en dioxano (95 ML) se añadió RuPhos (1,30 g, 2,788 mmol), RuPhos-G2-Pd (1,08 g, 1,394 mmol), y Cs_2CO_3 (9,08 g, 27,876 mmol). La mezcla resultante se a 80 °C durante 3 h. Luego la mezcla de reacción se filtró,

la torta de filtro se lavó con EtOAc (3 x 300 mL), y el filtrado se lavó con salmuera (3 x 100 mL), se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 5 %) para proporcionar el producto deseado (10 g, 70 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{71}F_3N_8O_{10}$ 1001,53; se encontró: 1001,7.

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-4-(2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-((S)-4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (10 g, 9,988 mmol) en THF (50 mL) y H_2O (50 mL) a 0 °C se añadió $LiOH•H_2O$ (2,10 g, 49,940 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se añadió H_2O (100 mL). La capa acuosa se extrajo con MTBE (3 x 300 mL) y luego la capa acuosa se acidificó a pH 6 con HCl (1 M) y se extrajo con DCM (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 200 mL), se secaron a Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (7,1 g) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{47}H_{67}F_3N_8O_9$ 945,51; se encontró: 945,3.

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)carbamato

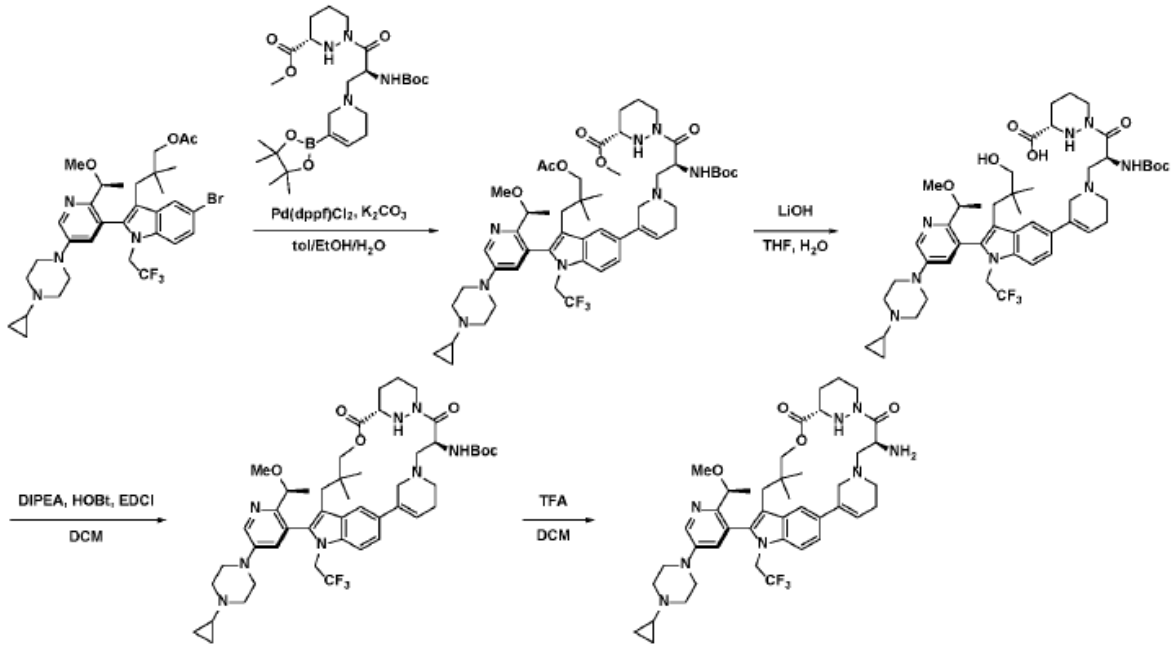
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-((S)-4-(2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (7,1 g, 7,512 mmol) y NMM (12,16 g, 120,192 mmol) en DCM (710 mL) a 0 °C se añadió EDCI (11,52 g, 60,096 mmol) y HOBt (4,06 g, 30,048 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y luego se añadió H_2O (500 mL). La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 500 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 1 L), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 8 %) para proporcionar el producto deseado (3 g, 48 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{47}H_{65}F_3N_8O_8$ 927,50; se encontró: 927,3.

Paso 4: Síntesis de (2^{2}S,6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-

8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounDecafano-4-il)carbamato (3 g, 3,236 mmol) en DCM (30 mL) a 0 °C se añadió TFA (15 mL). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 2 h y luego se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ sat. (ac.). La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{42}H_{57}F_3N_8O_6$ 827,45; se encontró: 827,5.

Intermedio 38: Síntesis de (6^3S,4S)-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounDecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una solución de acetato de (S)-3-(5-bromo-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetilo)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (9 g, 13,522 mmol), metilo (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (7,14 g, 16,226 mmol) y K_2CO_3 (8,41 g, 60,849 mmol) en tolueno (90 mL), se añadió dioxano (60 mL) y H_2O (30 mL) y Pd(dtbpf)Cl_2 (2,97 g, 4,057 mmol). La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 3 h y luego H_2O (1 L) frío. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 500 ML) y las capas orgánicas

combinadas se lavaron con salmuera (3 x 300 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 5 %) para proporcionar el producto deseado (9 g, 67 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{71}F_3N_8O_8$: 981,54; se encontró 981,3.

Paso 2: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-iI)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indoI-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (9 g, 9,173 mmol) en THF (70 mL) y H_2O (50 mL) a 0 °C se añadió $LiOH•H_2O$ (0,88 g, 36,692 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se neutralizó a pH 7 con HCl (ac.). La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 200 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 200 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (7,5 g, 88 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{48}H_{67}F_3N_8O_7$: 925,52; se encontró 925,6.

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ($(6^3S,4S)$-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2- ((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-4-il)carbamato

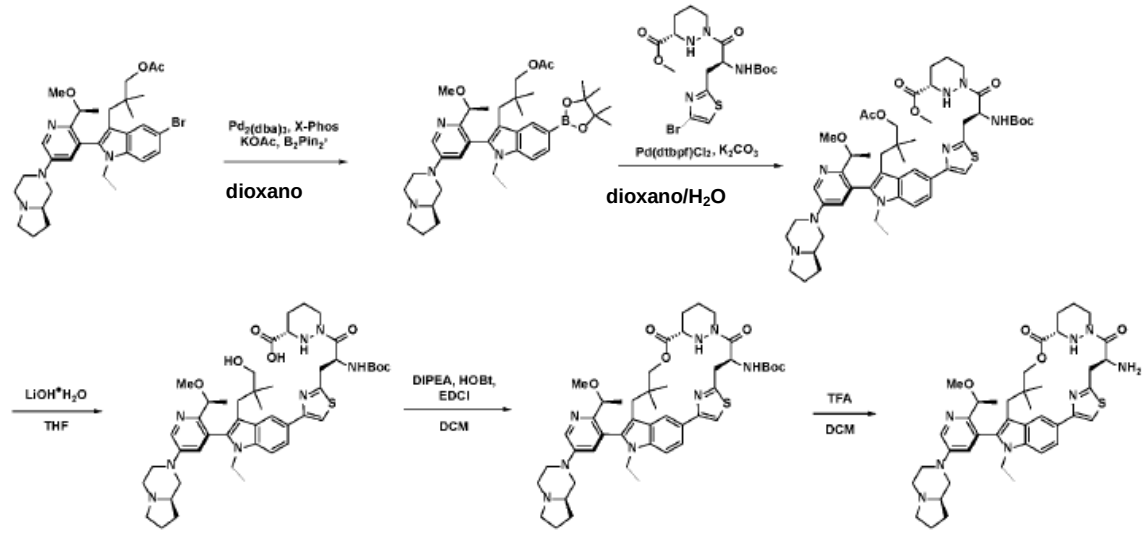
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indoI-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (7,5 g, 8,107 mmol) y DIPEA (41,91 g, 324,280 mmol) en DCM (750 mL) a 0 °C se añadió EDCI (46,62 g, 243,210 mmol) y HOBt (16,57 g, 48,642 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se añadió H_2O (1 L) frío. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 500 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 500 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 20 %) para proporcionar el producto deseado (6 g, 73 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{48}H_{65}F_3N_8O_6$: 907,51; se encontró: 907,6

Paso 4: Síntesis de ($(6^3S,4S)$-4-amino-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro--1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ($(6^3S,4S)$-1^2-(5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-

decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)carbamato (2 g, 2,205 mmol) en DCM (15 mL) a 0 °C se añadió TFA (15 mL). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 1 h y luego la mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ sat. (ac.). La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 100 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (1,65 g, 83 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{43}H_{57}F_3N_8O_4$: 807,46; se encontró 807,7.

Intermedio 39: Síntesis de (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona



Paso 1: Síntesis de acetato de 3-(1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirroIo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indoI-3-il)-2,2-dimetilpropilo

A una solución de acetato de 3-(5-bromo-1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirroIo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indoI-3-il)-2,2-dimetilpropil (7 g, 11,445 mmol), KOAc (2,81 g, 28,613 mmol) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(tetrametil-1,3,2-dioxaboroIan-2-il)-1,3,2-dioxaboroIano (5,81 g, 22,890 mmol) en dioxano (70 mL) se añadió $Pd_2(dba)_3$ (2,10 g, 2,289 mmol) y X-Phos (2,18 g, 4,578 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 80 °C y luego se añadió H_2O frío (50 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto deseado (5,2 g, 69 % de rendimiento) como un sólido LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{38}H_{55}BN_4O_5$ 659,44; se encontró: 659,7.

Paso 2: Síntesis de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indoI-5-il)tiazoI-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato

A una mezcla agitada de acetato de 3-(1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirroIo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indoI-3-il)-2,2-dimetilpropilo (5,2 g, 7,894 mmol), metilo (S)-1-((S)-3-(4-bromotiazoI-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (47,11 mg, 0,099 mmol), y K_2CO_3 (2,73 g, 19,735 mmol) en dioxano (52 mL) y H_2O (11 mL) se añadió $Pd(dtbpf)Cl_2$ (0,51 g, 0,789 mmol). La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 2 h y luego se añadió H_2O. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto deseado (3 g, 74 % de rendimiento) como un sólido LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{68}N_8O_8S$ 929,50; se encontró: 930,1.

Paso 3: Síntesis de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)tiazoI-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico

A una solución de metilo (S)-1-((S)-3-(4-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indoI-5-il)tiazoI-2-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (3 g, 3,2501 mmol) en THF (30 mL) a 0 °C se añadió $LiOH•H_2O$ (0,55 g, 13,012 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó a pH 7 con HCl (ac.). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (2,96 g, 92 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{46}H_{64}N_8O_7S$: 873,47; se encontró 873,6.

Paso 4: Síntesis de terc-butilo ($(6^3S,4S,Z)$-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirroIo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)carbamato

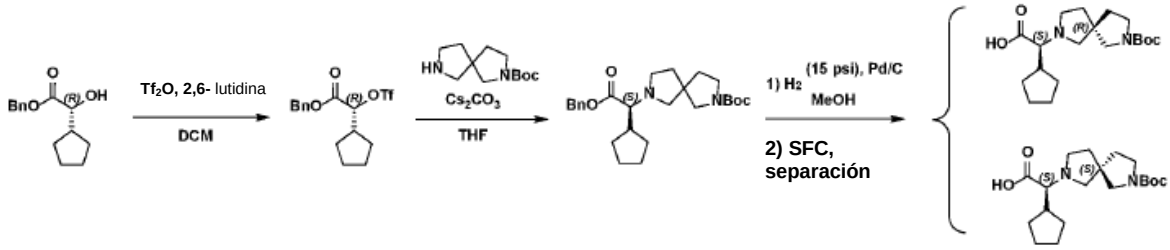
A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indoI-5-il)tiazoI-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (2,9 g, 3,348 mmol), HOBt (2,26 g, 16,740 mmol) y DIPEA (8,65 g, 66,960 mmol) en DCM (30 mL) a 0 °C se añadió EDCI (6,42 g, 33,480 mmol) en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se añadió H_2O (40 mL) frío. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto deseado (900 mg, 37 % de rendimiento) como un sólido LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{46}H_{62}N_8O_6S$: 855,46; se encontró 855,1

Paso 5: Síntesis de ($6^3S,4S,Z$)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((R)- hexahidropirroIo[1,2-a]pirazin-

2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounDecafano-5,7-diona

A una solución de terc-butilo ((6^3S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounDecafano-4-il)carbamato (900 mg, 1,052 mmol) en DCM (8 mL) a 0 °C se añadió TFA (4 mL). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 3 h. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron a Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (850 mg, 81 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{41}H_{54}N_8O_4S$: 755,41; se encontró 755,5.

Intermedio A-1 y A-2: Síntesis de ácido (S)-2-((R)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético y ácido (S)-2-((S)- 7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético



Paso 1: Síntesis de bencilo (R)-2-ciclopentil-2-(((trifluorometil)sulfonil)oxi)acetato

A una solución de bencilo (R)-2-ciclopentil-2-hidroxiacetato (3 g, 12,8 mmol) en DCM (50 mL) se añadió Tf_2O (3,79 g, 13,44 mmol) y 2,6-lutidina (1,51 g, 14,09 mmol) a 0 °C en N_2 y la mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h. El residuo se diluyó con H_2O (30 mL) y se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto, que se utilizó directamente sin purificación adicional.

Paso 2: Síntesis de terc-butilo 7-((S)-2-(benciloxi)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

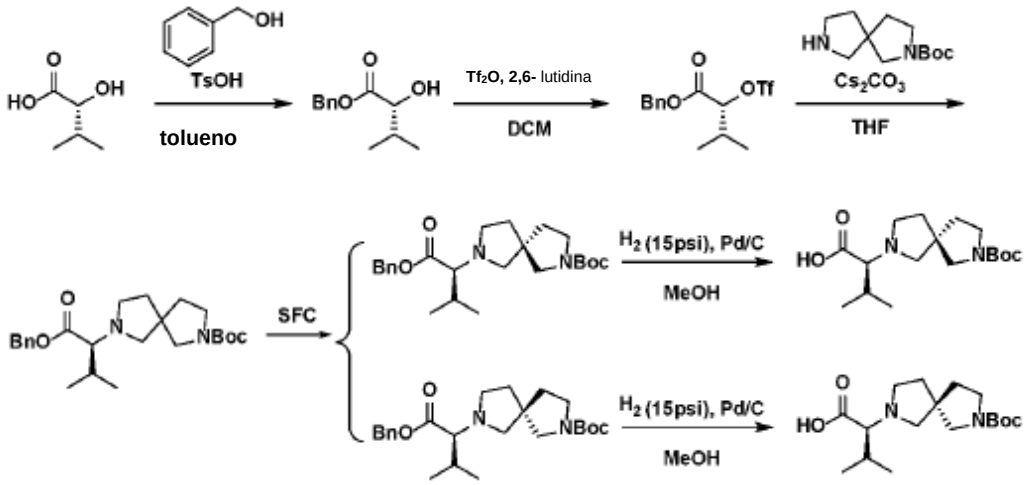
A una solución de bencilo (R)-2-ciclopentil-2-(((trifluorometil)sulfonil)oxi)acetato (4,86 g, 13,26 mmol) en THF (20 mL) se añadió terc-butilo 2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (2 g, 8,84 mmol) y Cs_2CO_3 (8,64 g, 26,51 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El residuo se diluyó con H_2O (30 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 40 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 20-100 %) para proporcionar el producto (2,6 g, 66 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{26}H_{38}N_2O_4$: 443,3; se

encontró: 443,2.

Paso 3: Síntesis de ácido (S)-2-((R)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético y ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético

A una solución de terc-butilo 7-((S)-2-(benciloxi)-1-cicIopentil-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (2,6 g, 5,87 mmol) en MeOH (30 mL) se añadió Pd/C (0,5 g, 10 % sobre carbono p/p) en atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó con H_2. La mezcla se agitó en H_2 (15 psi) a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar residuo. El residuo se disolvió en EtOAc (5 mL) y la mezcla se agitó durante 10 min. Luego, la mezcla se filtró y la torta de filtro se secó a presión reducida. El sólido se purificó mediante separación por SFC (CO_2/MeOH (NH_4O al 0,1%)) para proporcionar ácido (S)-2-((R)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-il)-2-ciclopentilacético (450 mg, 22 % de rendimiento) y ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (450 mg, 22 % de rendimiento).

Intermedio A-3 y A-4: Ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico y ácido (S)-2-((R)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico



Paso 1: Síntesis de bencilo (R)-2-hidroxi-3-metilbutanoato

A una solución agitada de alcohol bencílico (19,22 g, 177,77 mmol) en tolueno (200 mL) se añadió TsOH•H_2O (2,92 g, 16,93 mmol) en porciones a temperatura ambiente en una atmósfera de N_2. La mezcla se agitó a 80 °C durante 30 min, luego la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadió ácido (R)-2-hidroxi-3-metilbutanoico (20 g, 169,30 mmol, 1 eq). La mezcla de resultante se agitó a 80 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto.como un aceite incoloro. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 20→100%) para proporcionar el producto (25 g, 71 % de rendimiento) en forma de un aceite.

Paso 2: Síntesis de bencilo (R)-3-metil-2-(((trifluorometil)sulfonil)oxi)butanoato

Una solución de bencilo (R)-2-hidroxi-3-metilbutanoato (15 g, 72,03 mmol) en DCM (225 mL) se enfrió a 0 °C y luego se trató con Tf_2O (21,34 g, 75,63 mmol) y 2,6-lutidina (8,49 g, 79,23 mmol) en N_2. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. La mezcla de reacción se añadió a H_2O (300 mL). La mezcla se extrajo con DCM (3 x 100 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (400 mL), se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (5→100% de EtOAc/éter de petróleo: EtOAc) para proporcionar el producto (20 g, 82 % de rendimiento) en forma de un aceite.

Paso 3: Síntesis de terc-butilo 7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro [4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de bencilo (R)-3-metil-2-(((trifluorometil)sulfonil)oxi)butanoato (20 g, 58,77 mmol) y terc-butilo 2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (11,08 g, 48,97 mmol), Cs_2CO_3 (47,87 g, 146,92 mmol) en THF (300 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró y la torta de filtro se lavó con THF (3 x 100 mL). Luego, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto como un aceite. El aceite se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (10→30% de EtOAc/éter de petróleo) para proporcionar el producto (13,2 g, 64 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{24}H_{37}N_2O_4$: 417,27; se encontró: 417,2

Paso 4: Síntesis de terc-butilo (S)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato y terc-butilo (R)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

El terc-butilo 7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (10 g) se purificó mediante separación por SFC para proporcionar terc-butil (S)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (3,4 g) y terc-butilo (R)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (3,9 g).

Paso 5: Síntesis de ácido (S)-2-((R)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico

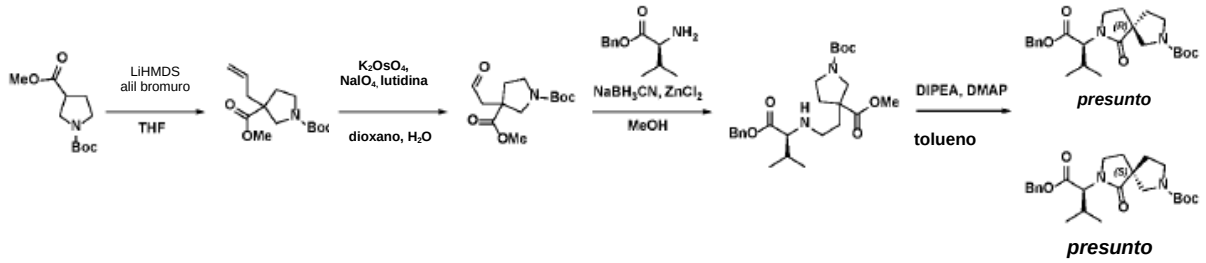
A una solución de terc-butilo (R)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (2,5 g, 6,00 mmol) en MeOH (25 mL) se añadió Pd/C (1,5 g, 10 % de pureza) en Ar. La suspensión se desgasificó a presión reducida y se purgó varias veces con H_2. La mezcla se agitó en H_2 (15 psi) a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se filtró y luego el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (1,9 g, bruto) en forma de un sólido.

Paso 6: Síntesis de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico

A una solución de terc-butilo (S)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-

diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (3 g, 7,20 mmol) en MeOH (5 mL) se añadió Pd/C (1 g, 10 % de pureza) en Ar. La suspensión se desgasificó a presión reducida y se purgó varias veces con H_2. La mezcla se agitó en H_2 (15 psi) a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se filtró y luego el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (2,3 g, 98 % de rendimiento) en forma de sólido.

Intermedio A-5 y A-6: Síntesis de terc-butilo (R)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato y terc-butilo (S)-7-((S)-1- (benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato carboxilato



Paso 1: Síntesis de 1-(terc-butil) 3-metil 3-alilpirrolidin-1,3-dicarboxilato

A una mezcla de1-(terc-butil) 3-metil pirrolidin-1,3-dicarboxilato (10 g, 43,616 mmol) en THF (100 mL) a -78 °C se añadió 1 M de LiHMDS (65,42 mL, 65,424 mmol), gota a gota. La mezcla resultante se agitó a -78 °C durante 1 h y después se añadió gota a gota una solución de bromuro de alilo (7,91 g, 65,423 mmol) en THF durante 10 min. La mezcla resultante se agitó a -78 °C durante 2 h más y luego se inactivó mediante la adición de NH_4Cl acuoso sat. a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 80 ml), se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. La purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 20 %) para proporcionar el producto deseado (10 g, 76 % de rendimiento).

Paso 2: Síntesis de 1-(terc-butil) 3-metilo 3-(2-oxoetil)pirrolidin-1,3-dicarboxilato

A una mezcla de 1-(terc-butil) 3-metilo 3-alilpirrolidin-1,3-dicarboxilato (11,0 g, 40,84 mmol) y 2,6-lutidina (8,75 g, 81,68 mmol) en dioxao (190 mL) y H_2O (19 mL) a 0 °C se añadió K_2OsO_4•$2H_2O$ (0,75 g, 2,04 mmol). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 15 min y luego se añadió $NaIO_4$ (34,94 g, 163,36 mmol) en porciones. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h, luego se inactivó mediante la adición de Na_2S2O_3 acuoso sat. a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 300 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 mL), se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. La purificación por cromatografía de fase inversa (0-40 % de MeCN/H_2O, 0,1 % de HCO_2H) proporcionó el producto deseado (6,4 g, 51 % de rendimiento).

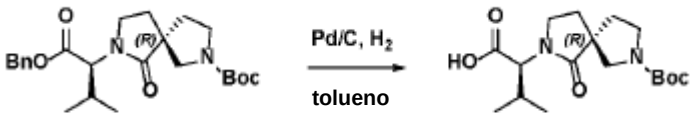
Paso 3: Síntesis de 1-(terc-butilo) 3-metilo 3-(2-(((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)etil)pirrolidin-1,3-dicarboxilato

A una mezcla de 1-(terc-butil) 3-metilo 3-(2-oxoetil)pirrolidin-1,3-dicarboxilato (6,30 g, 23,220 mmol) y bencilo L-valinato (7,22 g, 34,831 mmol) en MeOH (70 mL) a 0 °C se añadió $ZnCl_2$ (4,75 g, 34,831 mmol). La mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min, luego se enfrió a 0 ºC. Se añadió en porciones $NaBH_3CN$ (2,92 g, 46,441 mmol), luego la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl acuoso sat. a 0 °C y luego la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 mL), se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. La purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 33 %) para proporcionar el producto deseado (6,4 g, 53 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{25}H_{38}N_2O_6$: 463,28; se encontró 463,3.

Paso 4: Síntesis de terc-butilo (R)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato y terc-butilo (S)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2 -carboxilato

A una mezcla de 1-(terc-butil)3-metil 3-(2-(((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)etil)pirrolidina-1,3-dicarboxilato (4,50 g, 9,728 mmol) y DIPEA (16,6 mL, 97,28 mmol) en tolueno (50 mL) se añadió DMAP (1,19 g, 9,728 mmol) y luego la mezcla se calentó a 80 ºC. Después de 24 h, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 10-50 %, HCO_2H al 0,1 %). Luego, los diastereómeros se separaron mediante preparación quiral-SFC (EtOH/CO_2 al 30 %) para proporcionar terc-butilo (R)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (1,0 g, 32 % de rendimiento, LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{24}H_{34}N_2O_5$: 431,26; se encontró 431,2) y terc-butilo (S)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (1,0 g, 32 % de rendimiento, LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{24}H_{34}N_2O_5$: 431,26; se encontró 431,2).

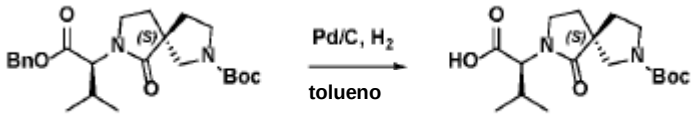
Intermedio A-7: Síntesis de ácido (S)-2-((R)-7-(terc-butoxicarbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico



presunto ***presunto***

A una solución de terc-butilo (R)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (600 mg, 1,4 mmol) en tolueno (20 mL) se añadió Pd/C (120 mg, 1,1 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 50 °C y se agitó en atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 3 h. La mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con MeOH (3 x 20 mL). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (550 mg, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M - H] calculado para $C_{17}H_{28}N_2O_5$: 339,19; se encontró 339,1.

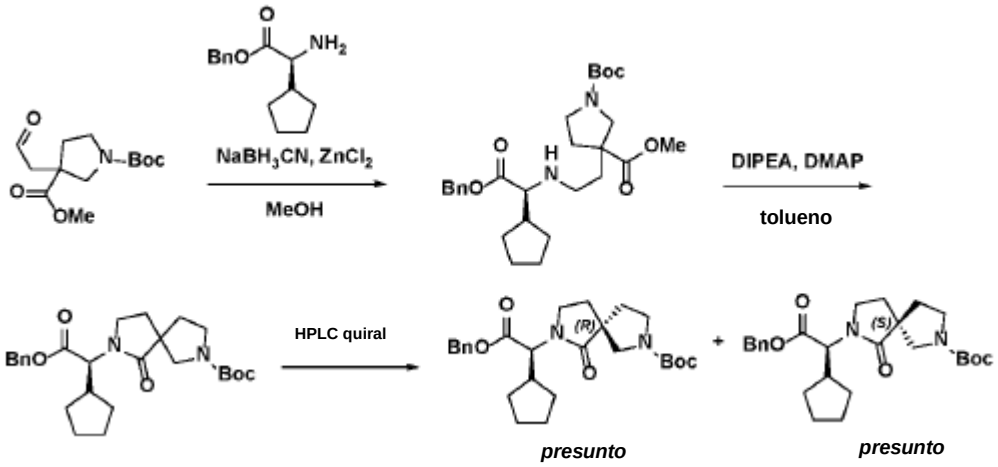
Intermedio A-8: Síntesis de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico



presunto *presunto*

A una solución de terc-butilo (S)-7-((S)-1-(benciloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (550 mg, 1,3 mmol) en tolueno (30 mL) se añadió Pd/C (120 mg, 1,1 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 50 °C y se agitó en una atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 3 h. La mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con MeOH (3 x 20 mL). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (550 mg, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M - H] calculado para $C_{17}H_{28}N_2O_5$: 339,19; se encontró 339,2.

Intermedios A-9 y A-10: Síntesis de terc-butilo (R)-7-((S)-2-(benciloxi)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato y terc-butilo (S)-7-((S)-2-(benciloxi)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato



presunto *presunto*

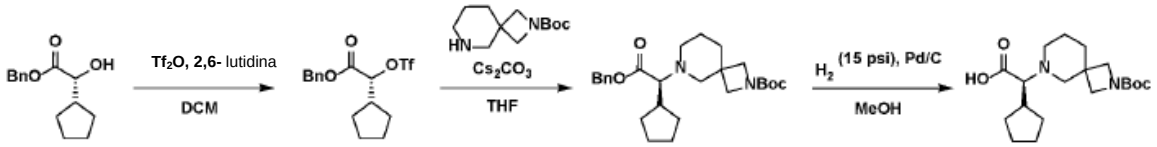
Paso 1: Síntesis de 1-(terc-butil)3-metilo 3-metilo 3-(2-(((S)-2-(benciloxi)-1-ciclopentil-2-oxoetil)amino)etil)pirrolidina-1,3-dicarboxilato

A una solución de 1-(terc-butilo) 3-metilo 3-(2-oxoetil)pirrolidina-1,3-dicarboxilato (9,60 g, 35,4 mmol) en MeOH (100 mL) a 0 °C se añadió bencilo (S)-2-amino-2-ciclopentilacetato (12,38 g, 53,075 mmol) y cloruro de zinc (7,23 g, 53,1 mmol). Después de 30 min, se añadió $NaBH_3CN$ (4,45 g, 70,8 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente, se concentró a presión reducida y el residuo se diluyó con H_2O (150 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y después se concentraron a presión reducida. La purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 20 %) proporcionó el producto deseado (11,1 g, 64 % del rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{27}H_{40}N_2O_6$: 489,30; se encontró 489,3.

Paso 2: Síntesis de terc-butilo (R)-7-((S)-2-(benciloxi)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato y terc-butilo (S)-7-((S)-2-(benciloxi)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de solución agitada de 1-(terc-butil) 3-metilo 3-(2-(((S)-2-(benciloxi)-1-ciclopentil-2-oxoetil)amino)etil)pirrolidina-1,3-dicarboxilato (11,1 g, 22,7 mmol) en tolueno (120 mL) se añadió DIPEA (39,6 mL, 227 mmol) y DMAP (2,78 g, 22,7 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 días a 80 °C y luego se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 20-70 %, HCO_2H al 0,1 %) proporcionó una mezcla de productos deseados. Los diastereómeros se separaron mediante SFC preparativa (EtOH al 30 %/CO_2) para proporcionar terc-butilo (R)-7-((S)-2-(benciloxi)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (3,73 g, 44 % de rendimiento) LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{26}N_{36}N_2O_5$: 457,27; se encontró 457,3 y terc-butIlo (S)-7-((S)-2-(benciloxi)-1-cicIopentil-2-oxoetil)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (3,87 g, 46 % de rendimiento) LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{26}N_{36}N_2O_5$: 457,27; se encontró 457,3.

Intermedio A-11: Síntesis de ácido (S)-2-(2-(terc-butoxicarbonil)-2,6-diazaspiro[3,5]nonan-6-il)-2-ciclopentilacético



Paso 1: Síntesis de bencilo (R)-2-cicIopentil-2-(((trifIuorometil)sulfonil)oxi)acetato

Una solución de bencilo (R)-2-cicIopentil-2-hidroxiacetato (500 mg, 2,13 mmol) en DCM (5 mL) se enfrió a 0 °C y se trató con Tf_2O (632,22 mg, 2,24 mmol) y 2,6-Iutidina (251,54 mg, 2,35 mmol) en N_2. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. La mezcla de reacción se añadió a H_2O (10 mL). Luego, la mezcla se extrajo con DCM (3 x 5 mL) y se separó. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (880 mg, bruto) en forma de un aceite marrón.

Paso 2: Síntesis de terc-butilo (S)-6-(2-(benciloxi)-1-cicIopentil-2-oxoetil)-2,6-diazaspiro[3,5]nonano-2-carboxilato

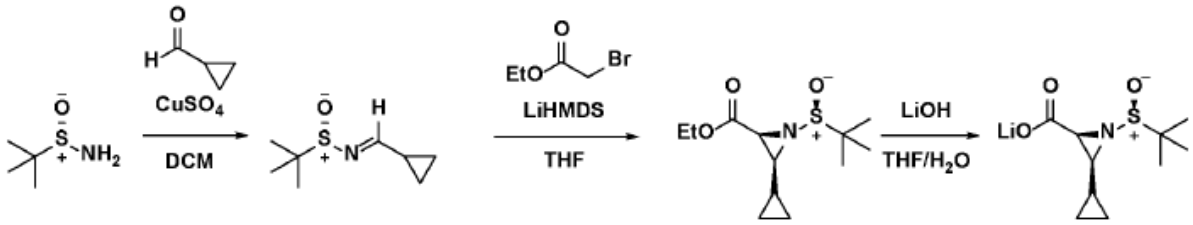
A una solución de bencilo (R)-2-cicIopentil-2-(((trifIuorometil)sulfonil)oxi)acetato (880 mg, 2,11 mmol) y terc-butilo 2,6-diazaspiro[3,5]nonano-2-carboxilato (367,99 mg, 1,63 mmol) en THF (10 mL) a 0 °C se añadió Cs_2CO_3 (1,59 g, 4,88 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró y la torta de filtro se lavó con THF (3 x 20 mL). Luego, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto en forma de un aceite incoloro. El aceite bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-30 %) para proporcionar el producto (505 mg, 70 % de

rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{26}H_{39}N_2O_4$: 443,3; se encontró 443,3.

Paso 3: Síntesis de ácido (S)-2-(2-(terc-butoxicarbonil)-2,6-diazaspiro[3,5]nonan-6-il)-2-ciclopentilacético

A una solución de terc-butilo (S)-6-(2-(benciloxi)-1-cicIopentil-2-oxoetil)-2,6-diazaspiro[3,5]nonano-2-carboxilato (500 mg, 1,13 mmol) en MeOH (10 mL) se añadió Pd/C (300 mg, 10 % de pureza) en Ar. La suspensión se desgasificó a presión reducida y se purgó varias veces con H_2. La mezcla se agitó en H_2 (15 psi) a temperatura ambiente durante 2 h. La suspensión se filtró a través de una almohadilla de Celite y la torta de filtro se lavó con MeOH (5 x 30 mL). Los filtrados combinados se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (380 mg, 95 % de rendimiento) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional.

Intermedio B-1: Síntesis de ácido (2S,3S)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxílico



Paso 1: Síntesis de (E)-N-(ciclopropilmetilen)-2-metilpropano-2-sulfinamida

A una suspensión de (S)-2-metilpropano-2-sulfinamida (4,0 g, 33,0 mmol) y $CuSO_4$ (15,80 g, 99,01 mmol) en DCM (200,0 mL) se añadió ciclopropanocarbaldehído (4,63 g, 66,0 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche y luego se filtró y la torta de filtro se lavó con DCM (3 x 100 mL), y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (3,5 g, 61 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_8H_{15}NOS$: 174,10; se encontró 174,1.

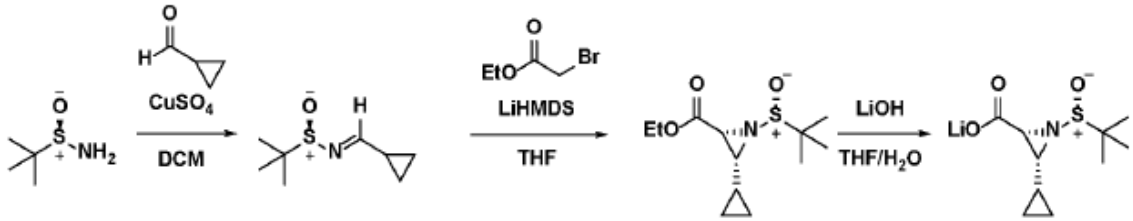
Paso 2: Síntesis de etilo (2S,3S)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato

A una solución de etilo bromoacetato (481,91 mg, 2,886 mmol) en THF (5,0 mL) a -78 °C se añadió LiHMDS (2,90 mL, 2,90 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a -78 ºC y luego se añadió una solución de (E)-N-(ciclopropilmetileno)-2-metilpropano-2-sulfinamida (250,0 mg, 1,443 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a -78 ºC y luego se inactivó con H_2O a 0 ºC. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL), y las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (17 % de EtOAc/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (250 mg, 67 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{12}H_{21}NO_3S$: 260,13; se encontró 260,1.

Paso 3: Síntesis de ácido (2S,3S)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxílico

A una solución de etilo (2S,3S)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (500,0 mg, 1,928 mmol) en THF (2,0 mL) y H_2O (2,0 mL) a 0 °C se añadió LiOH•H_2O (121,34 mg, 2,89 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h y luego se acidificó a pH 6 con 1 M de HCl (ac.). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera (10 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (400 mg, 90 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{10}H_{17}NO_3S$: 232,10; se encontró 232,0.

Intermedio B-2. Síntesis de ácido (2R,3R)-1-((R)-fert-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxílico



Paso 1: Síntesis de (R,E)-N-(ciclopropilmetileno)-2-metilpropano-2-sulfinamida

A una solución de (R)-2-metilpropano-2-sulfinamida (1,0 g, 8,25 mmol) y ciclopropanocarbaldehído (1,16 g, 16,55 mmol) en DCM (50 mL) a temperatura ambiente se añadió $CuSO_4$ (3,95 g, 24,75 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche. Luego, la mezcla de reacción se filtró, la torta de filtro se lavó con EtOAc, y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (EtOAc/éter de petróleo al 17 %) para proporcionar el producto deseado (1,4 g, 98 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z:* [M + H] calculado para $C_8H_{15}NOS$: 174,10; se encontró 174,1.

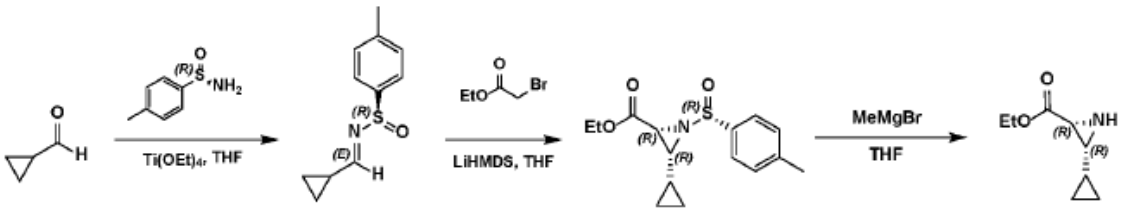
Paso 2: Síntesis de etilo (2R,3R)-1-((R)-terc-butilosulfinilo)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato

A una solución de 1 M de LiHMDS (23 mL, 23 mmol) en THF (50,0 mL) a -78 °C se añadió etilo bromoacetato (3,83 g, 22,95 mmol). La mezcla resultante se calentó a -70 °C y se agitó durante 1 h. Luego se añadió a la mezcla de reacción (R,E)-N-(ciclopropilmetilen)-2-metilpropano-2-sulfinamida (2,0 g, 11,48 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 1 h a -70 °C. La mezcla de reacción se calentó a 0 °C y se inactivó con H_2O. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (EtOAc/éter de petróleo al 25 %) para proporcionar el producto deseado (1,8 g, 61 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z:* [M + H] calculado para $C_{12}H_{21}NO_3S$: 306,14; se encontró 260,13.

Paso 3: Síntesis de ácido (2R,3R)-1-((R)-terc-butilisulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxílico

A una solución de etilo (2R,3R)-1-((R)-terc-butilosulfinilo)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (900,0 mg, 3,47 mmol) en THF (3,0 mL) y H_2O (3,0 mL) a 0 °C se añadió $LiOH•H_2O$ (218,4 mg, 5,21 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 1 h y luego se inactivó con H_2O. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 50) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (400 mg, 30 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z:* [M + H] calculado para $C_{10}H_{17}NO_3S$: 232,10; se encontró 232,1.

Intermedio B-3: Síntesis de etilo (2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato



Paso 1: Síntesis de (R,E)-N-(ciclopropilmetileno)-4-metilbencenosulfinamida

A una solución de ciclopropanocarbaldehído (6 g, 85,60 mmol) en THF (120 mL) se añadió (R)-4-metilbencenosulfinamida (13,29 g, 85,60 mmol) y $Ti(OEt)_4$ (39,05 g, 171,21 mmol) a temperatura ambiente en atmósfera de N_2. La mezcla se agitó a 75 ºC durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió en salmuera/H_2O (1:1, 600 mL) a 0-15 °C. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite y la almohadilla se lavó con EtOAc (6 x 200 mL). Los filtrados combinados se extrajeron con EtOAc (2 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera (200 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice. (EtOAc/éter de petróleo al 0-10 %) para proporcionar el producto (14,6 g, 82 % de rendimiento) como un sólido.

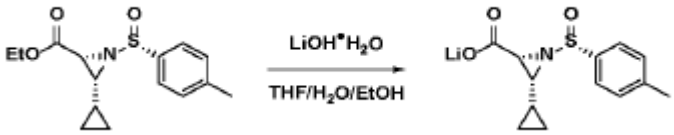
Paso 2: Síntesis de etilo (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxilato

A una solución de etilo 2-bromoacetato (23,52 g, 140,86 mmol) en THF (700 mL) se añadió LiHMDS (1 M, 140,86 mL) a -70 °C durante 10 min en N_2. La mezcla se agitó a -70 °C durante 20 min. Una solución (R,E)-N-(ciclopropilmetilen)-4-metilbencenosulfinamida (14,6 g, 70,43 mmol) en THF (150 ml) se añadió a la solución de reacción a -70 °C durante 10 min. Luego se agitó la mezcla a -70 °C durante 1 h 20 min en N_2. La mezcla de reacción se vertió en H_2O frío (1,2 L) y se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 300 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera (300 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice. (EtOAc/éter de petróleo al 0-10 %) para proporcionar el producto (11 g, 53 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{15}H_{20}NO_3S$: 294,11; se encontró 294,1.

Paso 3: Síntesis de etilo (2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato

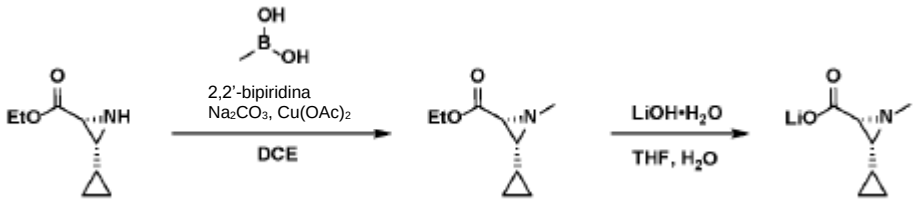
Se disolvió etilo (2R,3R)-3-ciclopropil-1-[(R)-p-tolilsulfinil]aziridina-2-carboxilato (6 g, 20,45 mmol) en THF anhidro (300 mL). Se añadió MeMgBr (3 M, 13,63 mL) gota a gota a -65 °C durante 40 min en N_2. La mezcla de reacción se agitó durante 5 min. Se añadió NH_4Cl acuoso sat. (90 mL) gota a gota a -65 °C. Se eliminó el baño de enfriamiento y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente. Se añadió EtOAc (300 mL) y la capa orgánica se separó y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-50 %) para proporcionar el producto como un aceite.

Intermedio B-4: Síntesis de litio (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxilato



A una solución de etilo (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxilato (380 mg, 1,30 mmol) en THF (1,6 mL), H_2O (1,2 mL) y EtOH (1,2 mL) se añadió LiOH•H_2O (163,06 mg, 3,89 mmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió H_2O (5 mL) y la mezcla de reacción se liofilizó directamente para proporcionar el producto (430 mg, bruto) como un sólido, que se usó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M +H] calculado para $C_{13}H_{16}NO_3S$:266,08; se encontró: 266,1

Intermedio B-5: Síntesis de ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-metilaziridina-2-carboxílico



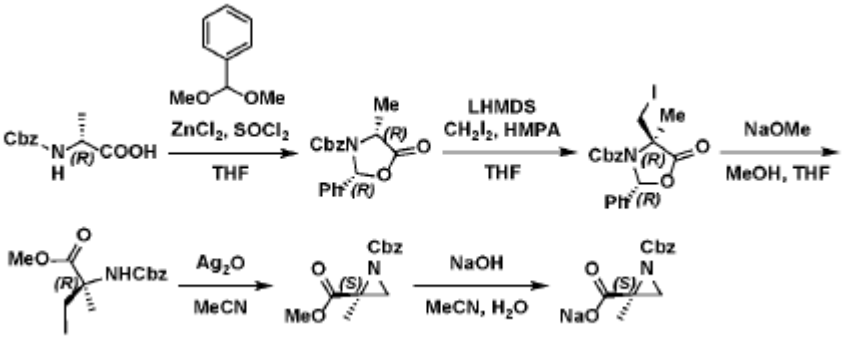
Paso 1: Etilo (2R,3R)-3-ciclopropil-1-metilaziridina-2-carboxilato

A una solución de etilo (2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (400 mg, 2,58 mmol) en DCE (8 mL) se añadió ácido metilborónico (462,85 mg, 7,73 mmol), 2,2'-bipiridina (402,54 mg, 2,58 mmol), $Cu(OAc)_2$ (468,14 mg, 2,58 mmol), y Na_2CO_3 (819,54 mg, 7,73 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 45 ºC durante 40 h. La mezcla se vertió en NH_4Cl acuoso (15 mL) y se extrajo con DCM (3 x 15 mL), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-50 %) para proporcionar el producto (230 mg, 53 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_9H_{16}NO_2$: 170,1; se encontró 170,1.

Paso 2: Ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-metilaziridina-2-carboxílico

A una solución de etilo (2R,3R)-3-ciclopropil-1-metilaziridina-2-carboxilato (230 mg, 1,36 mmol) en THF (2 mL) se añadió una solución de $LiOH•H_2O$ (114,07 mg, 2,72 mmol) en H_2O (1 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El pH se ajustó a aproximadamente 8 con 0,5 N de HCl a 0 °C, y la solución se liofilizó directamente para proporcionar el producto (230 mg, bruto) como un sólido.

Intermedio B-6: Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)-2-metilaziridina-2-carboxílico



Paso 1: Síntesis de bencilo (2R, 4R)-4-metil-5-oxo-2-feniloxazolidin-3-carboxilato

A una mezcla de ((benciloxi)carbonil)-D-alanina (5 g, 22,40 mmol) y (dimetoximetil)benceno (3,75 g, 24,64 mmol) en THF (35 mL) se añadió $SOCl_2$ (2,93 g, 24,64 mmol) en una porción a 0 °C. Después de agitar la mezcla durante 10 min, se añadió $ZnCl_2$ (3,36 g, 24,64 mmol) a la solución. Luego la mezcla se agitó a 0 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se inactivó mediante adición de H_2O frío gota a gota y se ajustó a ph 5 con $NaHCO_3$ acuoso sat. y luego se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). La capa orgánica se lavó con $NaHCO_3$ acuoso sat. (30 mL) y salmuera (30 mL), se secó en Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-20 %) para proporcionar el producto (3,19 g, 46 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{18}H_{18}NO_4$: 311,14; se encontró 312,1.

Paso 2: Sínteis de bencilo (2R,4R)-4-(yodometil)-4-metil-5-oxo-2-feniloxazolidin-3-carboxilato

A una mezcla de THF (50 mL), HMPA (8,50 g, 47,44 mmol) se añadió LiHMDS (1 M, 10,55 mL) en N_2 a temperatura ambiente. Esta solución se enfrió a -70 °C y se añadió gota a gota una solución de bencilo (2R,4R)-4-metil-5-oxo-2-fenil-oxazolidin-3-carboxilato (3,19 g, 10,25 mmol) en THF (14 mL). Después de agitar durante 30 minutos más, se añadió gota a gota una solución de diyodometano (8,23 g, 30,74 mmol) en THF (14 mL). La mezcla se agitó a -70 °C durante 90 min. Se añadió NH_4Cl acuoso sat. (50 mL) a la mezcla de reacción a 0 °C y se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (80 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó

mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-20 %) para proporcionar el producto (3,03 g, 66 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{19}H_{19}INO_4$: 451,26; se encontró 452,0.

Paso 3: Síntesis de metilo (R)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-yodo-2-metilpropanoato

A una solución de bencilo (2R, 4R)-4-(yodometil)-4-metil-5-oxo-2-fenil-oxazolidin-3-carboxilato (3 g, 6,65 mmol) en THF (50 mL) se añadió NaOMe (2,39 g, 13,30 mmol) en MeOH (22,5 mL) gota a gota durante 10 min a -40 °C en N_2. La mezcla se agitó a -40 °C durante 2 h, luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min. La reacción se inactivó mediante la adición de H_2O (50 mL) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (80 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-20 %) para proporcionar el producto (2,04 g, 81 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{13}H_{17}INO_4$: 377,18; se encontró 378,0.

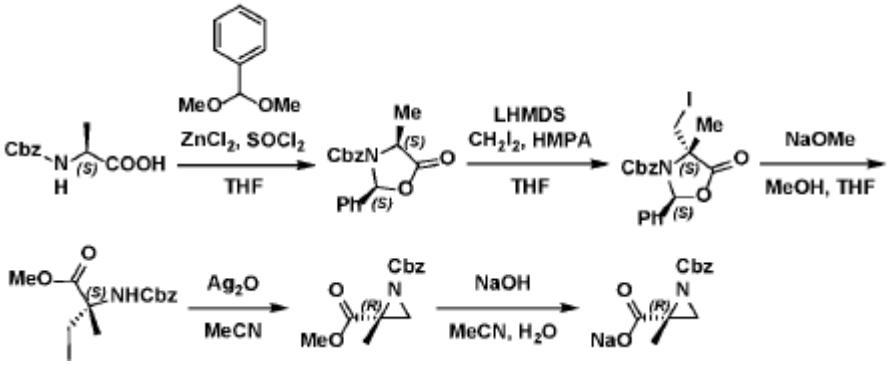
Paso 4: Síntesis de 1-bencilo 2-metilo (S)-2-metilaziridina-1,2-dicarboxilato

A una solución de (R)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-yodo-2-metilpropanoato (1 g, 2,65 mmol) en MeCN (100 mL) se añadió Ag_2O (1,84 g, 7,95 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 90 °C durante 30 min. Después de enfriar la reacción a temperatura ambiente, la mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida. Este residuo se extrajo con EtOAc (100 mL) y la capa orgánica se filtró a través de Celite y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (630 mg, bruto) como un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{13}H_{16}NO_4$: 249,27; se encontró 250,1.

Paso 5: Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)-2-metilaziridina-2-carboxílico

A una solución de 1-bencilo 2-metilo (S)-2-metilaziridina-1,2-dicarboxilato (630 mg, 2,53 mmol) en MeCN (3,2 mL) se añadió una solución de NaOH (151,65 mg, 3,79 mmol) en H_2O (3,2 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (10 ml) y se liofilizó para proporcionar el producto (652,65 mg, bruto) en forma de sólido.

Intermedio B-7: Síntesis de ácido (R)-1-((benciloxi)carbonil)-2-metilaziridina-2-carboxílico



Paso 1: Síntesis de bencilo (2S,4S)-4-metil-5-oxo-2-feniloxazolidina-3-carboxilato

A una solución de ((benciloxi)carbonil)-L-alanina (5 g, 22,40 mmol) y (dimetoximetil)benceno (3,51 g, 23,07 mmol) en THF (36 ml) se añadió $SOCl_2$ (2,93 g, 24,64 mmol) en una porción a 0 °C. La mezcla se agitó durante 10 min y luego se añadió $ZnCl_2$ (1,15 ml, 24,64 mmol). Luego la mezcla se agitó a 0 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se inactivó mediante adición de H_2O frío gota a gota y se ajustó a ph 5 con $NaHCO_3$ sat., luego se extrajo con EtOAc (2 x 30 mL). La fase orgánica se lavó con $NaHCO_3$ acuoso sat. (30 mL) y salmuera (30 mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en column de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-20 %) para proporcionar el producto (3,7 g, 53 % de rendimiento) como un aceite.

Paso 2: Síntesis de bencilo (2S,4S)-4-(yodometil)-4-metil-5-oxo-2-feniloxazolidina-3-carboxilato

Una mezcla de HMPA (9,33 g, 52,05 mmol) y LiHMDS (1 M, 11,58 ml) en THF (52 ml) se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de N_2 y luego se enfrió a -70 °C. Se añadió gota a gota una solución de bencilo (2S,4S)-4-metil-5-oxo-2-feniloxazolidina-3-carboxilato (3,5 g, 11,24 mmol) en THF (15 mL). Después de agitar durante 30 minutos, se añadió gota a gota una solución de diyodometano (9,03 g, 33,73 mmol) en THF (7 mL). La mezcla se agitó a -70 °C durante 90 min., luego se añadió NH_4Cl sat. (50 mL) a la mezcla de reacción a 0 °C y la solución se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (80 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en column (EtOAc/éter de petróleo al 0-20 %) para proporcionar el producto (2,39 g, 47 % de rendimiento) como un aceite.

Paso 3: Síntesis de metilo (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-yodo-2-metilpropanoato

A una solución de bencilo (2S,4S)-4-(yodometil)-4-metil-5-oxo-2-feniloxazolidina-3-carboxilato (2,39 g, 5,30 mmol) en THF (40 ml) se añadió NaOMe (1,91 g, 10,59 mmol) en MeOH (19 ml) gota a gota durante 10 min a -40 °C en atmósfera de N_2. La mezcla se agitó a -40 ° C durante 2 h, luego se calentó a -20 °C y se agitó durante 0,5 h. La reacción se inactivó mediante adición de H_2O (50 mL) y mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (80 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron , y

concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en column (EtOAc/éter de petróleo al 0-20 %) para proporcionar el producto (1,37 g, 69 % de rendimiento) como un aceite.

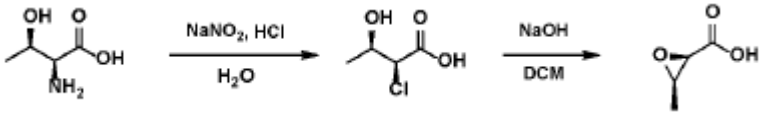
Paso 4: Síntesis de 1-bencilo 2-metilo (R)-2-hidroxipirrolidina-1,2-dicarboxilato

A una mezcla de metilo (2S)-2-(benciloxicarbonilamino)-3-yodo-2-metil-propanoato (1,37 g, 3,63 mmol) en MeCN (14 mL) se añadió Ag_2O (2,53 g, 10,90 mmol) en una porción a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 90 ° C durante 30 min, luego la mezcla se filtró al vacío a través de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto (790 mg, 87 % de rendimiento) en forma de un aceite. LCMS: (ESI) *m /z* [M+ H] calculado para $C_{13}H_{16}NO_4$:250,10; se encontró 250,1.

Paso 5: Síntesis de ácido (R)-1-((benciloxi)carbonil)-2-metilaziridina-2-carboxílico

A una mezcla de 1-bencilo 2-metilo (R)-2-metilaziridina-1,2-dicarboxilato (790 mg, 3,17 mmol) en MeCN (7,6 mL) y H_2O (7,6 mL) se añadió NaOH (126,77 mg, 3,17 mmol) en una porción a 0 °C en N_2. La mezcla se agitó a 0 ° C durante 0,5 h. A la reacción se le añadió H_2O (8 mL) y se liofilizó para proporcionar ácido (R)-1-((benciloxi)carbonil)-2-metilaziridina-2-carboxílico (850 mg, bruto, Na) como un sólido blanco.

Intermedio B-8: Síntesis de ácido (2R,3R)-3-metiloxirano-2-carboxílico



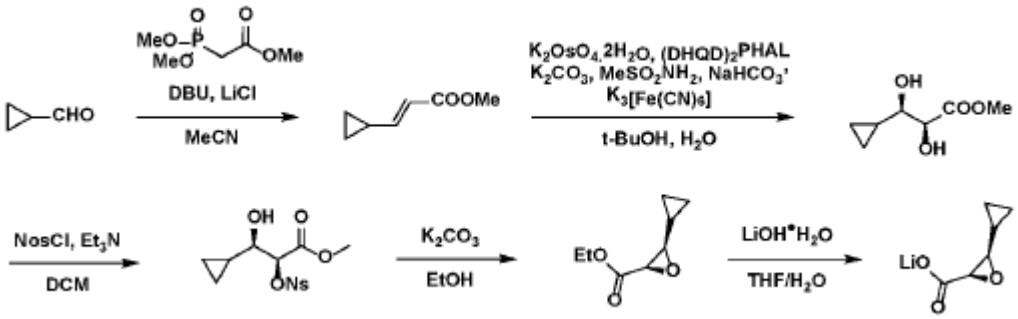
Paso 1: Síntesis de ácido (2S,3R)-2-cloro-3-hidroxibutanoico

A una mezcla de ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxibutanoico (25 g, 209,87 mmol) en HCl (148,50 g, 1,55 mol) y H_2O se añadió $NaNO_2$ (54,30 g, 314,81 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 3 h, y luego se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (27 g, bruto), como un aciete que se usó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m /z* [M - H] calculado para $C_4H_6ClO_3$: 137,01; se encontró 137,0.

Paso 2: Síntesis de ácido (2R,3R)-3-metiloxirano-2-carboxílico

A una mezcla de ácido (2S,3R)-2-cloro-3-hidroxi-butanoico (27 g, 194,88 mmol) en DCM (300 mL) se añadió NaOH (48,99 g, 428,73 mmol) a 10 °C. La mezcla se agitó a 10 °C durante 3 h. La capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 50 ml). El pH de la capa acuosa se ajustó a aproximadamente 1-2 añadiendo HCl al 25 % y luego se extrajo con EtOAc (4 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (30 ml), se secó en Na_2SO_4, se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto (6 g, 30 % de rendimiento) como un aceite, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m /z* [M - H] calculado para $C_4H_5O_3$: 101,03; se encontró 101,0

Intermedio B-9: Síntesis de litio (2R,3R)-3-ciclopropiloxirano-2-carboxilato



Paso 1: Síntesis de metilo (E)-3-ciclopropilacrilato

A una mezcla de metilo 2-(dimetoxifosforilo)acetato (31,18 g, 171,21 mmol) en MeCN (100 mL) se añadió DBU (26,06 g, 171,21 mmol) y LiCl (9,07 g, 214,01 mmol) a 0 °C seguido de ciclopropanecarbaldehído (10 g, 142,67 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y luego se inactivó con H_2O (300 mL) y se extrajo con EtOAc (2 x 150 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-20 %) para proporcionar el producto (9 g, 50 % de rendimiento) como de aceite.

Paso 2: Síntesis de metilo (2S,3R)-3-ciclopropil-2,3-dihidroxipropanoato

Una mezcla de $K_3[Fe(CN)_6]$ (27,40 g, 83,23 mmol), K_2CO_3 (11,50 g, 83,23 mmol), $MeSO_2NH_2$ (2,64 g, 27,74 mmol), $NaHCO_3$ (6,99 g, 83,23 mmol) en t-BuOH (210 ml) y H_2O (140 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Luego se añadió K_2OsO_4,$2H_2O$ (40,89 mg, 110,98 µmol) y $(DHQD)_2PHAL$ (216,12 mg, 277,44 µmol). La mezcla se agitó durante 30 min y después se enfrió a 0°C. Se añadió metilo (E)-3-ciclopropilacrilato (3,5 g, 27,74 mmol, 1 eq) en t-BuOH (70 ml) a la mezcla y se agitó a temperatura ambiente durante 15 h. La mezcla se inactivó con $Na_2S_2O_3$ sat (100 mL) y luego se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el residuo.El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-25 %) para proporcionar el producto (4,2 g, 47 % de rendimiento) como un sólido.

Paso 3: Síntesis de metilo (2S,3R)-3-ciclopropil-3-hidroxi-2-(((4-nitrofenil)sulfonil)oxi)propanoato

A una mezcla de metilo (2S,3R)-3-ciclopropil-2,3-dihidroxipropanoato (4 g, 24,97 mmol) y Et_3N (3,79 g, 37,46 mmol) en DCM (40 ml) se añadió gota a gota cloruro de 4-nitrobencenosulfonilo (6,09 g, 27,47 mmol) en DCM (10 ml) a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La mezcla se vertió en H_2O (50 mL) y se extrajo con DCM (2 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron en Na_2SO_4, se

filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (5,82 g, 68 % de rendimiento) como un aceite.

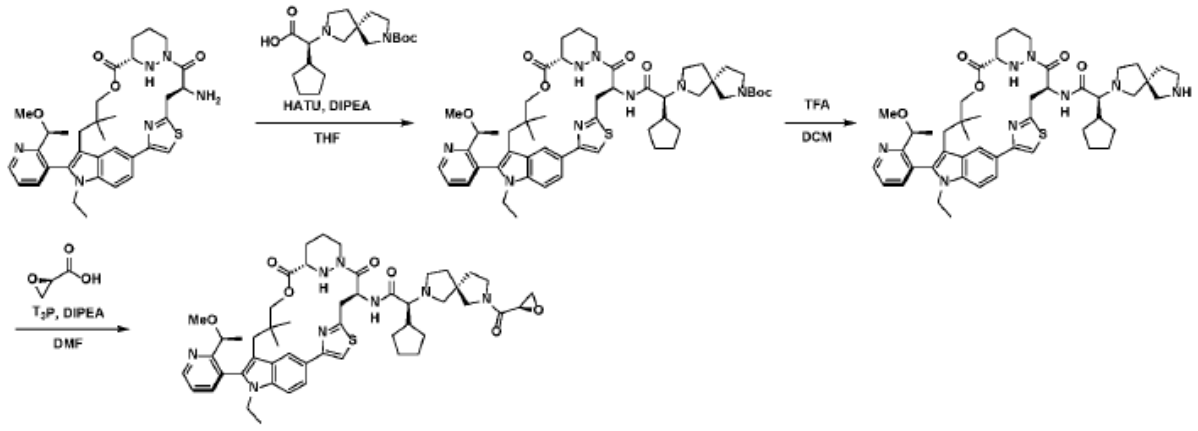
Paso 4: Síntesis de etilo (2R,3R)-3-ciclopropiloxirano-2-carboxilato

A una mezcla de metilo (2S,3R)-3-ciclopropil-3-hidroxi-2-(((4-nitrofenil)sulfonil)oxi)propanoato (1 g, 2,90 mmol) en EtOH (20 ml) se añadió K_2CO_3 (800,44 mg, 5,79 mmol). La mezcla se agitó a 15 °C durante 12 h. La mezcla se vertió en $NaHCO_3$ sat. (50 mL) y se extrajo con DCM (3 x 40 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-30 %) para proporcionar el producto (0,3 g, bruto) como un aceite, que se utilizó directamente en el siguiente paso.

Paso 5: Síntesis de litio (2R,3R)-3-ciclopropiloxirano-2-carboxilato

A una solución de etilo (2R,3R)-3-ciclopropiloxirano-2-carboxilato (300 mg, 1,92 mmol) en THF (3 mL) se añadió LiOH•H_2O (161,20 mg, 3,84 mmol) en H_2O (1,5 mL). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Se añadió H_2O (20 mL) y la mezcla se liofilizó directamente para dar el producto (200 mg, bruto) en forma de sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M - H] calculado para $C_6H_7O_2$: 127,0; se encontró 127,0.

Ejemplo 1: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-oxirano-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-

2-ciclopentilacético (239,71 mg, 680,09 µmol) en THF (6,6 mL) se añadió HATU (278,48 mg, 732,41 µmol) y DIPEA (202,84 mg, 1,57 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y luego se añadió (6^3S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-5,7-diona (330 mg, 523,15 µmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se vertió en H_2O frío (30 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{53}H_{73}N_8O_7S$: 965,5; se encontró 965,6

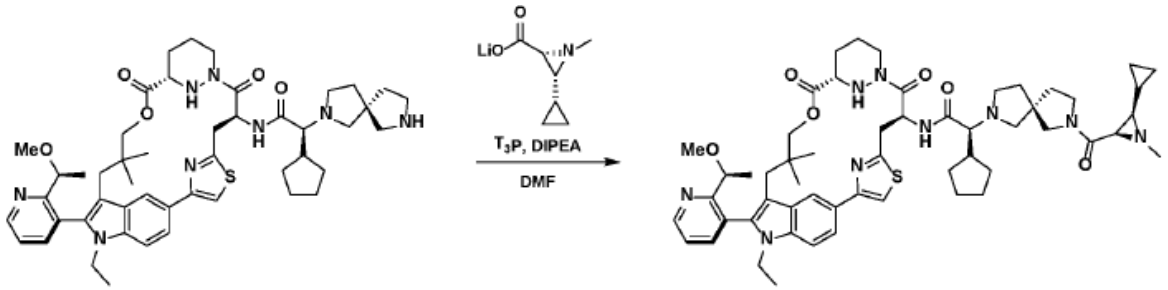
Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^3S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-((((6^3S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-Diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (700 mg, 725,20 µmol) en DCM (7 mL) se añadió TFA (1,65 g, 14,50 mmol) a 0 °C, luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió gota a gota a $NaHCO_3$ acuoso sat. (50 mL) a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 30 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el producto (400 mg, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{48}H_{65}N_8O_5S$: 865,5; se encontró 865,5.

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^3S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-oxirano-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

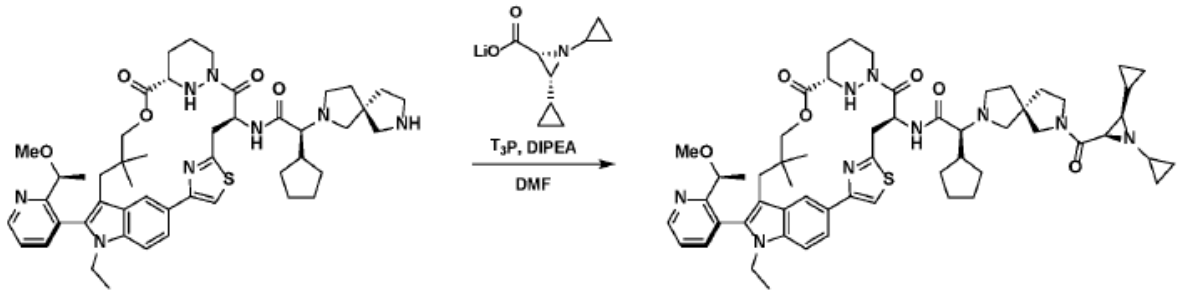
A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^3S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamide (400 mg, 416,12 µmol) y ácido (R)-oxirano-2-carboxílico (105,83 mg, 832,24 µmol, K) en DMF (4 mL) se añadió DIPEA (376,46 mg, 2,91 mmol) y T_3P (317,76 mg, 499,34 µmol) a 0 °C, luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se vertió en H_2O frío (50 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron salmuera (2 x 20 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida y se purificaron mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-70 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (40,83 mg, 10 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{67}N_8O_7S$: 935,49; se encontró 935,4.

Ejemplo 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-metilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida



A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (250 mg, 288,97 µmol) y ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-metilaziridina-2-carboxílico (64,20 mg, 346,77 µmol Li) en DMF (2,5 mL) se añadió DIPEA (261,43 mg, 2,02 mmol), T_3P (239,06 mg, 375,66 µmol) a 0 °C, luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h en N_2. La reacción se vertió en NH_4Cl acuoso sat. (30 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron salmuera (10 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar producto bruto que se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 50-80 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (57,50 mg, 20 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{55}H_{74}N_9O_6S$: 988,55; se encontró: 988,5.

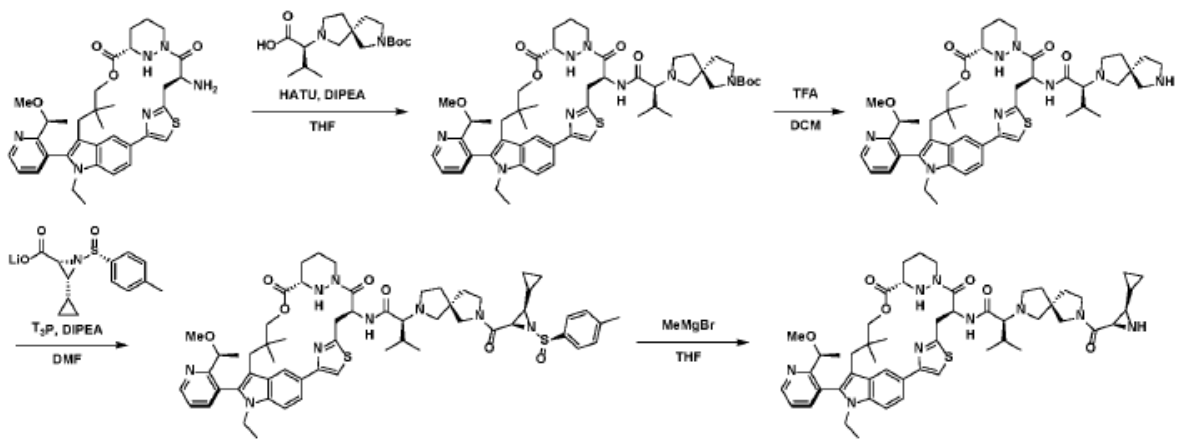
Ejemplo 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-1,3-diciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida



A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (350 mg,

404,56 µmol) en THF (7 mL) se añadió ácido (2R,3R)-1,3-diciclopropilaziridina-2-carboxílico (84,54 mg, 485,47 µmol, Li), T_3P (334,68 mg, 525,93 µmol) y DIPEA (366,01 mg, 2,83 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se vertió en NH_4Cl acuoso (10 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (15 ml), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa MeCN/H_2O al 50-85 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (51,7 mg, 12 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{57}H_{76}N_9O_6S$: 1014,57; se encontró 1014,5.

Ejemplo 4: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S, 4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-3-metilbutanamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico (6,21 g, 19,02 mmol) en THF (100 mL) se añadió DIPEA (6,15 g, 47,56 mmol) y HATU (7,53 g, 19,82 mmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a 0 °C durante 20 min y se añadió (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona (10 g, 15,85 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h 30 min. La mezcla se añadió a NH_4Cl sat. (500 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 150 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. Luego, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-100 % de EtOAc/éter de petróleo) para proporcionar el producto (14,0 g, 80 % de rendimiento) como un sólido.

Paso 2: Síntesis de (2S)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)-3-metil-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (14 g, 12,68 mmol) en DCM (35 ml) se añadió TFA (43,38 g, 380,47 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se recogió en DCM (80 ml). A la mezcla se añadió gota a gota $NaHCO_3$ sat. (400 mL) a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 150 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 ml), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el producto (10,5 g, 85 % de rendimiento) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso.

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)- piridazinaciclundecafano-4-il)-3-metilbutanamida

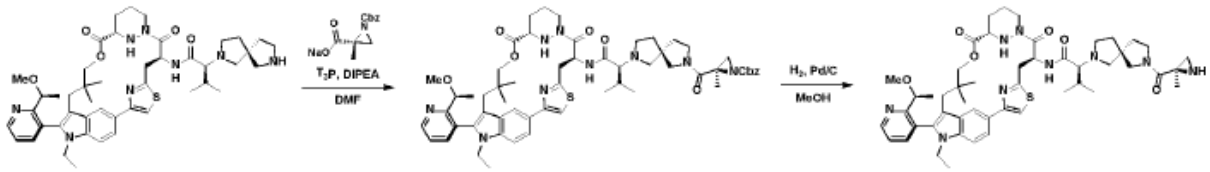
A una solución de (2S)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)-3-metil-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida (9,5 g, 11,32 mmol) y ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxílico (4,01 g, 14,72 mmol, Li) en DMF (95 mL) se añadió DIPEA (8,78 g, 67,93 mmol) y T_3P (10,81 g, 16,98 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se añadió a NH_4Cl sat. (500 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 180 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (6,89 mg, 54 % de rendimiento) como un sólido.

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafan-4-il)-3-metilbutanamida

A una solución de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)-3-metilbutanamida (6,89 g, 6,34 mmol) en THF (68,9 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 16,91 mL) en N_2 a -78 °C. La mezcla se agitó a -78 °C durante 1 h. Luego se añadió la mezcla de reacción a NH_4Cl sat. (50 mL) a 0 °C y luego la mezcla se extrajo con

DCM (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/ EtOAc al 0-20 %) para proporcionar el producto (4,4 g, 70 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M+ H] calculado para $C_{52}H_{70}N_9O_6S$: 948,52; se encontró 948,6.

Ejemplo 5: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-2-metilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de bencilo (2R)-2-((5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carbonil)-2-metilaziridina-1-carboxilato

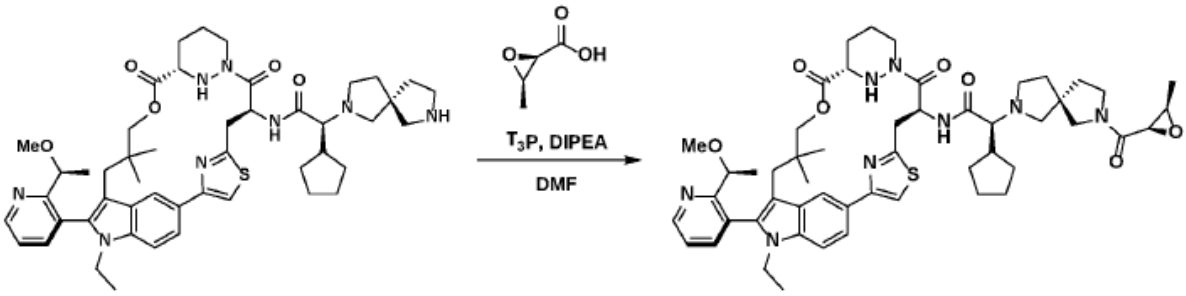
A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (250 mg, 288,97 µmol) y ácido (R)-1-((benciloxi)carbonil)-2-metilaziridina-2-carboxílico (81,57 mg, 315,89 µmol, Na) en DMF (2,5 mL) se añadió DIPEA (186,74 mg, 1,44 mmol) y T_3P (183,89 mg, 288,97 µmol) a 0 °C, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y después se añadió NH_4Cl sat. (20 mL) a 0 °C. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/ EtOAc al 0-10 %) para proporcionar el producto (160 mg, 51 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M+ H] calculado para $C_{60}H_{76}N_9O_8S$:1082,55; se encontró: 1082,6.

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-2-metilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de bencilo (2R)-2-((5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carbonil)-2-metilaziridina-1-carboxilato (160 mg, 147,83 µmol) en MeOH

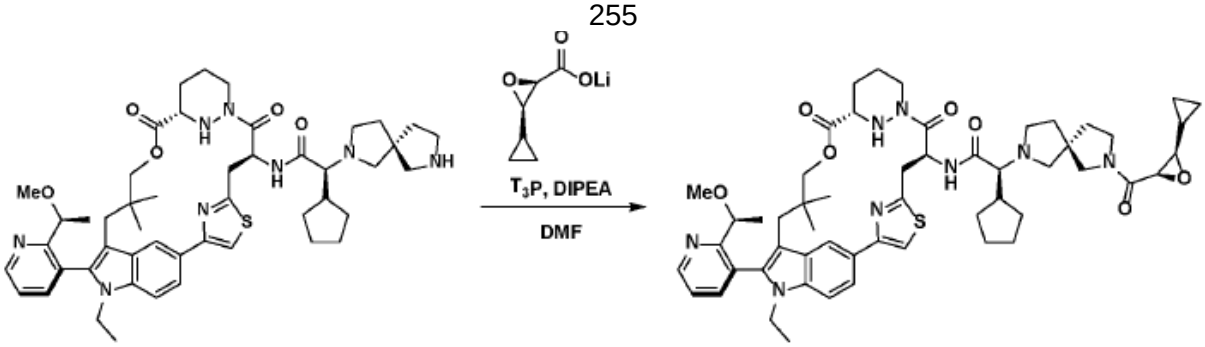
(2 mL) se añadió Pd/C (160 mg). La suspensión se desgasificó a presión reducida y se purgó varias veces con H_2. La mezcla se agitó en H_2 (15 psi) a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 40-70 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (56,07 mg, 40 % de rendimiento) como un sólido. LCMS: (ESI) m/z [M+H] calculado para $C_{52}H_{70}N_9O_6S$: 948,52; se encontró: 948,3.

Ejemplo 6: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-metiloxirano-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida



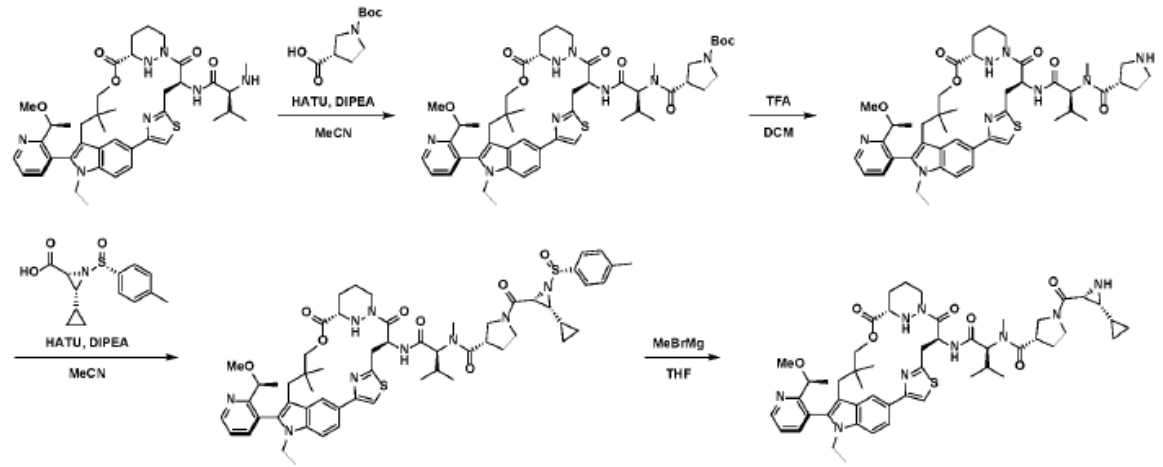
A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (0,2 g, 231,18 µmol) y ácido (2R,3R)-3-metiloxirano-2-carboxílico (47,20 mg, 462,36 µmol) en DMF (2 mL) se añadió DIPEA (89,63 mg, 693,53 µmol) y T_3P (294,23 mg, 462,36 µmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se añadió H_2O (5 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (5 mL), se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-85 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (105 mg, 48 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{52}H_{69}N_8O_7S$: 949,50; se encontró 949,5.

Ejemplo 7: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropiloxirano-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)acetamida



A una solución de litio (2R,3R)-3-ciclopropiloxirano-2-carboxilato (81,49 mg, 577,94 µmol) y (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo 6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (250 mg, 288,97 µmol) en DMF (3 mL) se añadió T_3P (367,78 mg, 577,94 µmol) y DIPEA (112,04 mg, 866,91 µmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se inactivó con H_2O (10 ml) y luego se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-75 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (85,23 mg, 30 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{54}H_{71}N_8O_7S$: 975,25; se encontró 975,5.

Ejemplo 8: Síntesis de (3S)-1-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidina-3-carboxamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (3S)-3-(((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-

il)(metil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato

A una solución de (2S)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-3-metil-2-(metilamino)butanamida (0,25 g, 336,04 µmol) en MeCN (7 mL) se añadió ácido (S)-1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidin-3-carboxílico (216,99 mg, 1,01 mmol), HATU (383,32 mg, 1,01 mmol) y DIPEA (130,29 mg, 1,01 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se dividió entre DCM (15 mL) y H_2O (10 mL). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (2 x 5 mL), se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 50-100 %) para proporcionar el producto (0,283 g, 89 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{69}N_8O_8S$: 941,5; se encontró 941,4.

Paso 2: Síntesis de (3S)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidin-3-carboxamida

A una solución de terc-butilo (3S)-3-(((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato (0,283 g, 300,68 µmol) en DCM (4 mL) se añadió TFA (980,59 mg, 8,60 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se ajustó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla de reacción se dividió entre DCM (15 mL) y H_2O (10 mL). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (2 x 5 mL), se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (0,18 g, 71 % de rendimiento) como un sólido, que se usó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calcd for $C_{45}H_{61}N_8O_6S$: 841,4; se encontró 841,4.

Paso 3: Síntesis de (3S)-1-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidina-3-carboxamida

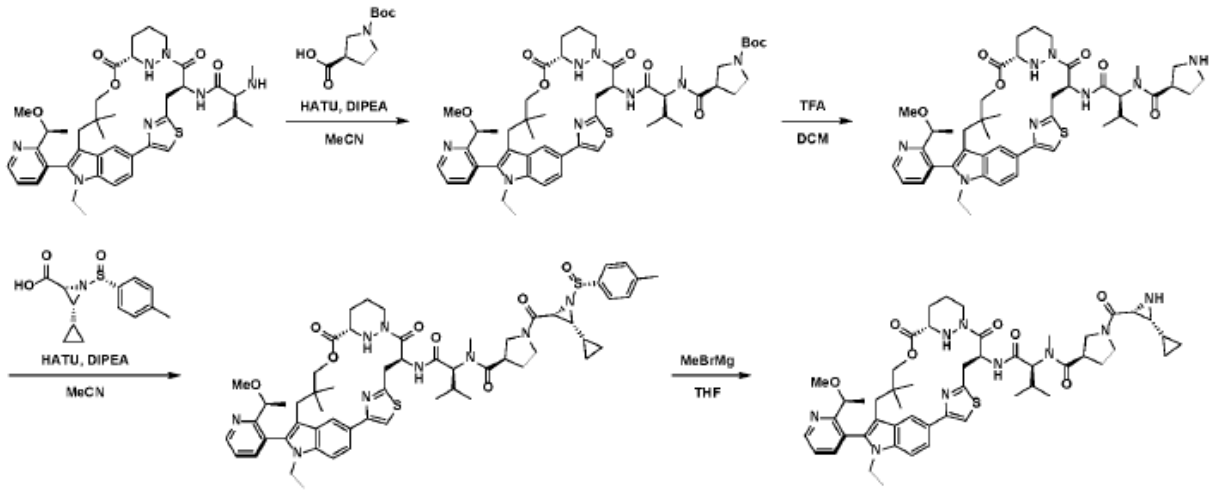
A una solución de (3S)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidin-3-carboxamida (0,13 g, 154,56 µmol) en MeCN (5 mL) se añadió ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxílico (102,53 mg, 386,41 µmol, Li), HATU (146,93 mg, 386,41 µmol) y DIPEA (49,94 mg, 386,41 µmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se dividió entre DCM (15 mL) y H_2O (10 mL). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (2 x 5 mL), se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna

de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 50-100 %) para proporcionar el producto (0,12 g, 71 % de rendimiento) como un sólido.

Paso 4: Síntesis de (3S)-1-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidina-3-carboxamida

A una solución de (3S)-1-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinacicIundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirroIdin-3-carboxamida (0,08 g, 73,50 µmol) en THF (4 mL) se añadió MeMgBr (1 M, 294,01 µl). La mezcla se agitó a -78 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se dividió entre DCM (15 mL) y H_2O (10 mL). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (2 x 5 mL), se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 30-60 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (0,016 g, 23 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{68}N_9O_7S$:950,50, se encontró: 950,5.

Ejemplo 9: Síntesis de (3R)-1-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidina-3-carboxamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (3R)-3-(((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinacicIoundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato

A una solución de (2S)-N-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-3-metil-2-(metilamino)butanamida (200 mg, 268,83 µmol) en MeCN (3 mL) se añadió ácido (3R)-1-terc-butoxicarbonilpirrolidin-3-carboxílico (69,44 mg, 322,60 µmol), HATU (153,33 mg, 403,25 µmol) y DIPEA (104,23 mg, 806,50 µmol) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se diluyó con H_2O (5 ml) y se extrajo con DCM (3 x 5 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 5 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (180 mg, 71 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{69}N_8O_8S$: 941,5; se encontró 941,4.

Paso 2: Síntesis de (3R)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidin-3-carboxamida

A una solución de terc-butilo (3R)-3-(((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato (180 mg, 191,25 µmol) en DCM (2 mL) se añadió TFA (0,4 mL, 5,40 mmol) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se ajustó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. Luego la mezcla se diluyó con H_2O (5 mL) y se extrajo con DCM (3 x 5 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 5 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (110 mg, 68 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calcd for $C_{45}H_{61}N_8O_6S$: 841,4; se encontró 841,5.

Paso 3: Síntesis de (3R)-1-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidina-3-carboxamida

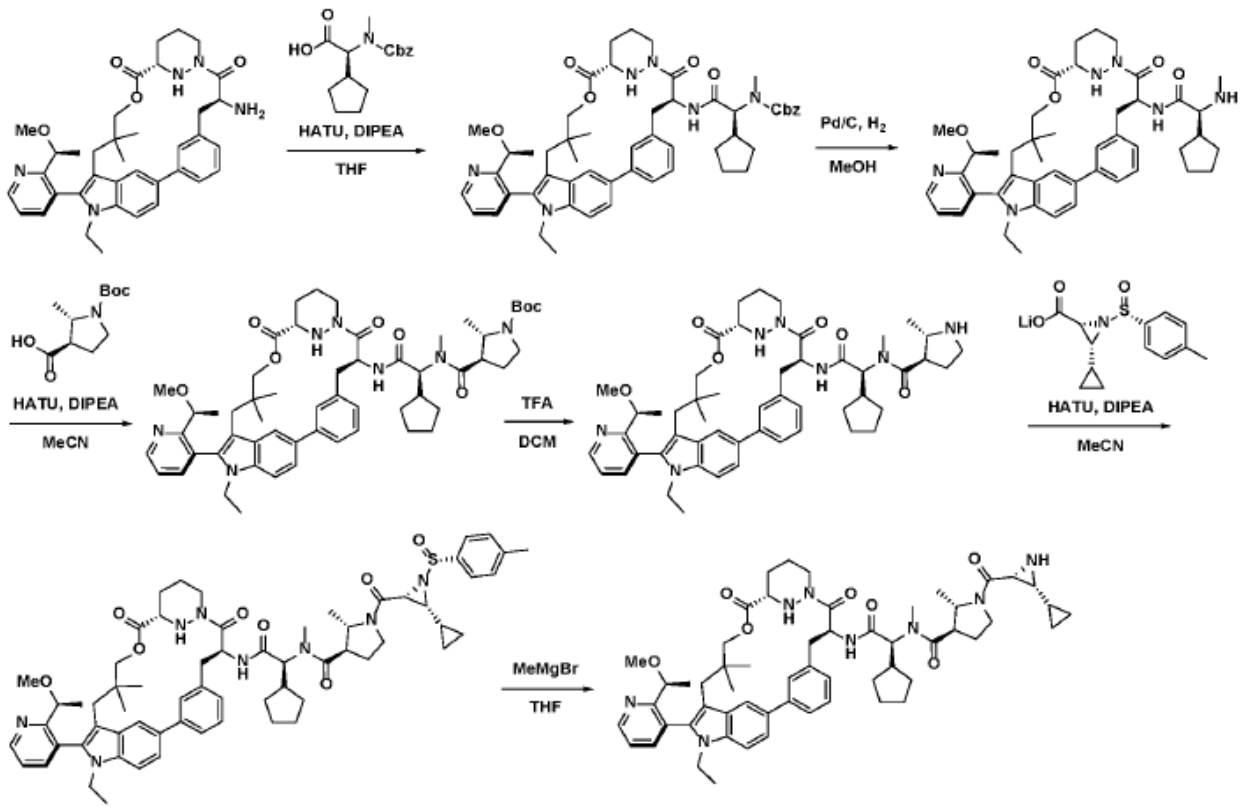
A una solución de (3R)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidin-3-carboxamida (110 mg, 130,79 µmol) en MeCN (2 mL) se añadió ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxílico (89,02 mg, 326,96 µmol, Li), HATU (74,59 mg, 196,18 µmol) y DIPEA (50,71 mg, 392,36 µmol) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se diluyó con H_2O (5 ml) y se extrajo con DCM (3 x 5 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera (3 x 5 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (100 mg, 70% de

rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}H_{74}N_9O_8S_2$: 1088,5; se encontró 1088,6.

Paso 4: Síntesis de (3R)-1-((2R,3R)-3- ciclopropilaziridina-2-carbonil)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidina-3-carboxamida

A una solución de (3R)-1-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-N-((2S)-1-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidin-3-carboxamida (140 mg, 128,63 µmol) en THF (1 mL) se añadió MeMgBr (1 M, 514,52 µl) a -78 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se diluyó con H_2O (2 mL) y se extrajo con DCM (3 x 2 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 3 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 30-60 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{68}N_9O_7S$: 950,50; se encontró 950,5.

Ejemplo 10: Síntesis de (2S,3R)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-1-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-N,2-dimetilpirrolidina-3-carboxamida



Paso 1: Síntesis de bencilo ((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)carbamato

A una solución de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-5,7-diona (2,56 g, 3,18 mmol) y ácido (S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-2-ciclopentilacético (1,11 g, 3,81 mmol) en THF (21,2 mL) a 0 °C se añadió DIPEA (2,76 mL, 15,9 mmol) y HATU (1,57 g, 4,13 mmol). Después de 2 h, la mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente durante la noche y luego se diluyó con EtOAc y H_2O. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con 0,2 N de ácido cítrico, H_2O, $NaHCO_3$ sat., salmuera, se secaron con $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron a presión reducida. Purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/hexanos al 0-75 %) para proporcionar el producto deseado (2,22 g, 78 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{53}H_{64}N_6O_7$: 897,49; se encontró 897,9.

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6$_1$,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)-2-(metilamino)acetamida

A una solución de bencilo ((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)carbamato (1,77 g, 1,97 mmol) en MeOH (19,7 mL) se añadió Pd/C (180 mg) al 10 % en peso. La mezcla resultante se agitó durante 4 h a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno, se filtró a través de Celite y la torta de filtro se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (1,42 g, bruto), que se utilizó sin purificación. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{45}H_{58}N_6O_5$: 763,46; se encontró 763,7.

Paso 3: Síntesis de terc-butilo (2S,2R)-3-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)carbamoil)-2-metilpirrolidin-1-carboxilato

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6$_1$,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)-2-(metilamino)acetamida (475 mg, 0,623 mmol), ácido (2S,3R)-1-(terc-butoxicarbonil)-2-metilpirrolidina-3-carboxílico (185 mg, 0,809 mmol), y DIPEA (540 mL, 3,11 mmol) en MeCN (3,1 mL) a 0 °C se añadió HATU (331 mg, 0,871 mmol). Después de 1 h, la mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente y después de 2 h adicionales se diluyó con EtOAc y H_2O. La fase orgánica se lavó con 0,2 N de ácido cítrico, H_2O, $NaHCO_3$ sat., salmuera, se secó con $MgSO_4$, se filtró y se concentró a presión reducida. Purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/hexanos al 0-77 %) para proporcionar el

producto deseado (478 mg, 79 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{56}H_{75}N_7O_8$: 974,58; se encontró 974,9.

Paso 4: Síntesis de (2S,3R)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-N,2-dimetilpirrolidin-3-carboxamida

A una solución de terc-butilo (2S,3R)-3-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)carbamoil)-2-metilpirrolidin-1-carboxilato (478 mg, 0,491 mmol) en DCM (4,89 mL) a 0 °C se añadió TFA (1,87 mL, 24,5 mmol). Después de 1 h, la reacción se inactivó mediante la adición de $NaHCO_3$ acuoso sat. y $NaHCO_3$ sólido y luego se diluyó con H_2O. La capa acuosa se extrajo con DCM y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron con $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron a presión reducida así proporcionando el producto deseado (445 mg, bruto), que se utilizó sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{67}N_7O_6$: 874,53; se encontró 874,9.

Paso 5: Síntesis de (2S,3R)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-1-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-N,2-dimetilpirrolidina-3-carboxamida

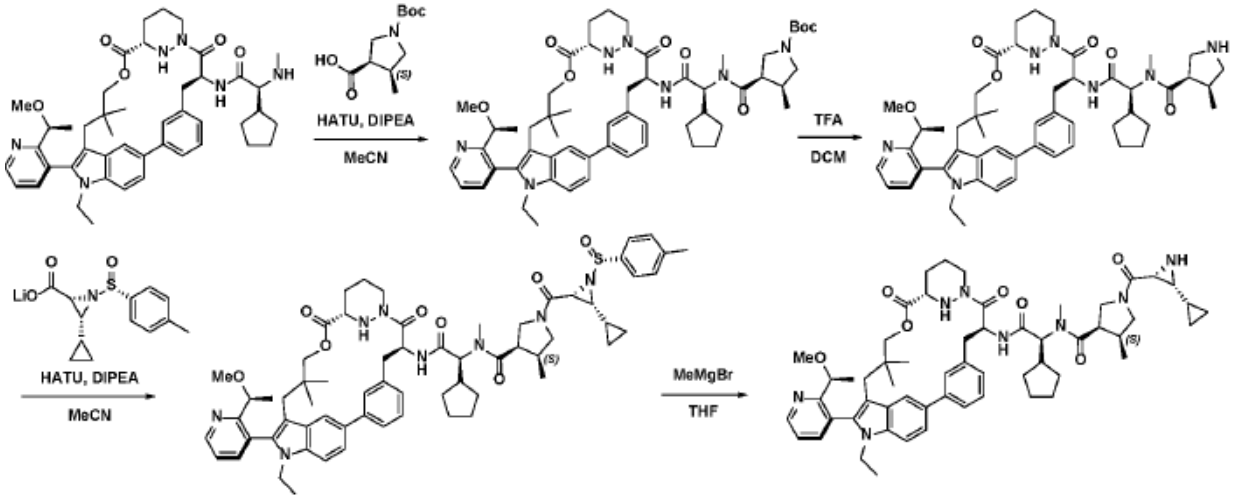
A una solución de (2S,3R)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-N,2-dimetilpirrolidin-3-carboxamida (440 mg, 0,503 mmol), litio de (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxilato (177 mg, 0,654 mmol) y DIPEA (260 mL, 1,50 mmol) en MeCN (2,51 mL) a 0 °C se añadió HATU (286 mg, 0,754 mmol). Se añadió más MeCN (2,0 ml) y la reacción se calentó a temperatura ambiente. Luego de 1,5 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y H_2O. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O, $NaHCO_3$ sat., y salmuera, se secaron en $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron a presión reducida Purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 0-5 %) para proporcionar el producto deseado (425 mg, 75 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{80}N_8O_8S$: 1121,59; se encontró 1121,9.

Paso 6: Síntesis de (2S,3R)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-1-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-N,2-dimetilpirrolidina-3-carboxamida

A una solución de (2S,3R)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-

indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-1-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-N,2-dimetilpirrolidina-3-carboxamida (425 mg, 0,379 mmol) en THF (7,55 mL) a -78 °C se añadió MeMgBr (667 mL, 2,27 mmol, 3,4 M en 2-MeTHF). Después de 30 min la reacción se inactivó con la adición de NH_4Cl acuoso sat. (7,0 mL), se calentó a temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc y H_2O. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron a presión reducida. Purificación mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 10-99 %) para proporcionar el producto deseado (181 mg, 49 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{57}H_{74}N_8O_7$: 983,58; se encontró 983,5.

Ejemplo 11: Síntesis de (3R,4S)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-1-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-N,4-dimetilpirrolidina-3-carboxamida



Paso 1: Síntesis de bencilo (3R,4S)-3-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)carbamoil)-2-metilpirrolidin-1-carboxilato

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-2-(metilamino)acetamida (481 mg, 0,623 mmol), ácido (3R,4S)-1-((benciloxi)carbonil)-4-metilpirrolidin-3-carboxílico (215 mg, 0,817 mmol), y DIPEA (545 mL, 3,14 mmol) en MeCN (3,1 mL) a 0 °C se añadió HATU (334 mg, 0,880 mmol). Después de 1 h, la mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente durante la noche y se añadió ácido (3R,4S)-1-((benciloxi)carbonil)-4-metilpirrolidin-3-carboxílico (49 mg, 0,186 mmol) y HATU (71 mg, 0,186 mmol) adicional. Luego de 4 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y H_2O. La fase orgánica se lavó con 0,2 N de ácido cítrico, H_2O, $NaHCO_3$ sat., salmuera, se secó con

$MgSO_4$, se filtró y se concentró a presión reducida. Purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/hexanos al 0-77 %) para proporcionar el producto deseado (379 mg, 60 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{59}H_{73}N_7O_8$: 1008,56; se encontró 1008,9.

Paso 2: Síntesis de (3R,4S)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-N,4-dimetilpirrolidin-3-carboxamida

A una solución de bencilo (3R,4S)-3-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-12-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)carbamoil)-4-metilpirrolidin-1-carboxilato (366 mg, 0,366 mmol) en MeOH (18 mL) se añadió Pd/C al 10 % en peso (38 mg). La mezcla resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno, se filtró a través de Celite y la torta de filtro se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado (318 mg, bruto), que se utilizó sin purificación. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{67}N_7O_6$: 874,53; se encontró 875,0.

Paso 3: Síntesis de (3R,4S)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-1-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-N,4-dimetilpirrolidin-3-carboxamida

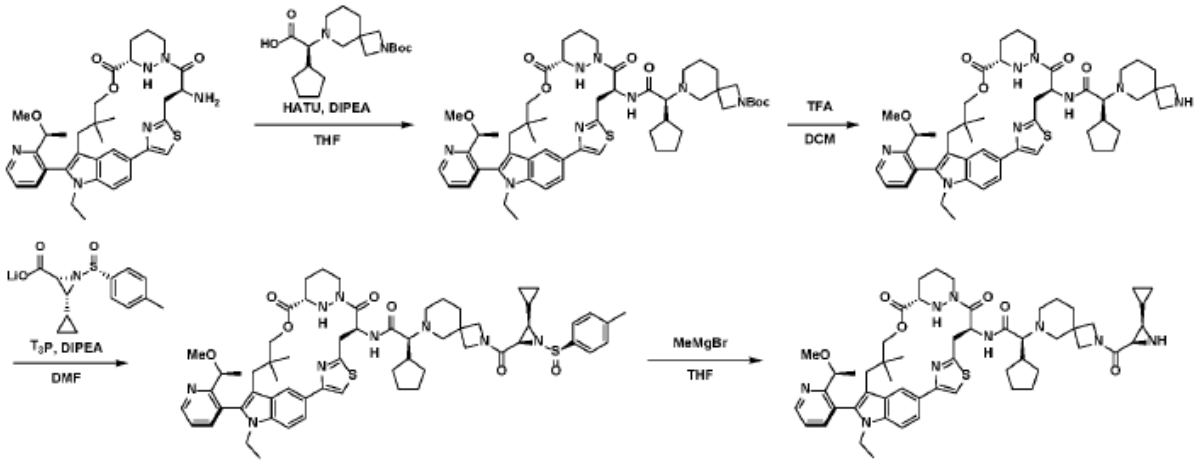
A una solución de (3R,4S)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-N,4-dimetilpirrolidin-3-carboxamida (318 mg, 0,364 mmol), litio (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxilato (128 mg, 0,472 mmol) y DIPEA (188 mL, 1,09 mmol) en MeCN (1,81 mL) a 0 °C se añadió HATU (207 mg, 0,545 mmol). Se añadió más MeCN (2,0 ml) y la reacción se calentó a temperatura ambiente. Luego de 16 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y H_2O. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O, $NaHCO_3$ sat., y salmuera, se secaron con $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron a presión reducida. Purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 0-5 %) para proporcionar el producto deseado (203 mg, 50 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{80}N_8O_8S$: 1121,59; se encontró 1121,6.

Paso 4: Síntesis de (3R,4S)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-1-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-N,4-dimetilpirrolidina-3-carboxamida

A una solución de (3R,4S)-N-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-

metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-1-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-N,4-dimetilpirrolidina-3-carboxamida (202 mg, 0,181 mmol) en THF (3,59 ml) a -78 °C se añadió MeMgBr (317 mL, 1,08 mmol, 3,4 M en 2-MeTHF). Después de 30 min la reacción se inactivó con la adición de NH_4Cl acuoso sat. (7,0 mL), se calentó a temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc y H_2O. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron a presión reducida. Purificación mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 10-99 %) para proporcionar el producto deseado (67 mg, 38 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{57}H_{74}N_8O_7$: 983,58; se encontró 983,9.

Ejemplo 12: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butil 6-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,6-diazaspiro[3,5]nonano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-(2-(terc-butoxicarbonil)-2,6-diazaspiro[3,5]nonan-6-il)-2-ciclopentilacético (363,20 mg, 1,03 mmol) en THF (5 mL) se añadió HATU (421,94 mg, 1,11 mmol) y DIPEA (307,32 mg, 2,38 mmol) a 0 °C, seguido de (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona (500 mg, 792,65 µmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió en NH_4Cl sat. frío (30 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (1 g, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente

en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{53}H_{73}N_8O_7S$: 965,5; se encontró 965,6;

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-(2,6-diazaspiro[3,5]nonan-6-il)acetamida

A una solución de terc-butilo 6-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,6-diazaspiro[3,5]nonano-2-carboxilato (1 g, 808,08 µmol) en DCM (10 mL) se añadió TFA (1,84 g, 16,16 mmol) a 0 °C, luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se añadió gota a gota hasta 100 mL de $NaHCO_3$ sat. a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 30 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar (800 mg, 94 % de rendimiento) como un sólido, que se usó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{48}H_{65}N_8O_5S$: 865,5; se encontró 865,5;

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,6-diazaspiro[3,5]nonan-6-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)- piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida

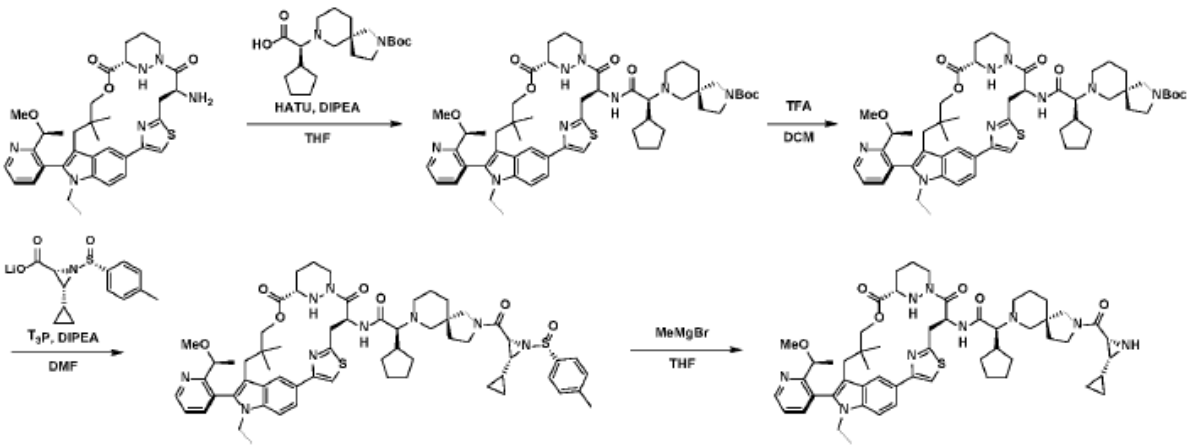
A una solución de (2S)-2-cicIopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinacicIoundecafano-4-iI)-2-((2,6-diazaspiro[3,5]nonan-6-iI)acetamida (800 mg, 924,71 µmol) y ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxílico (302,12 mg, 1,11 mmol, Li) en DMF (8 mL) se añadió DIPEA (836,57 mg, 6,47 mmol) y T_3P (706,14 mg, 1,11 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Luego la reacción se vertió en NH_4Cl sat. (100 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 50 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 30-100 % a MeOH/EtOAc al 0-20 %) para proporcionar el producto (350 mg, 33 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{61}H_{78}N_9O_7S_2$: 1112,5; se encontró 1112,5

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,6-diazaspiro[3,5]nonan-6-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,6-diazaspiro[3,5]nonan-6-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-

tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida (280 mg, 251,70 µmol) en THF (4,2 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 671,19 µL) a -70 °C en N_2. La mezcla se agitó a -70 ºC durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso sat. (30 mL) y luego la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida y se purificaron mediante cromatografía de fase inversa (45-65 % de MeCN/H_2O, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (69,17 mg, 28 % de rendimiento) como un sólido. a LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{54}H_{72}N_9O_6S$: 974,53; se encontró 974,5.

Ejemplo 13: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((R)-2-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,5]decan-7-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano- 4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5R)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((R)-2-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,5]decan-7-il)-2-ciclopentilacético (270,16 mg, 737,16 µmol) en THF (3,1 mL) se añadió HATU (298,98 mg, 786,31 µmol) y DIPEA (254,06 mg, 1,97 mmol). La solución se agitó durante 30 min y luego se añadió (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazoIa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona (310 mg, 491,44 µmol). Luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h y luego se añadió NH_4Cl sat. (10 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (15 ml), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida, luego el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (420 mg, 87 % de rendimiento) en forma de sólido. LCMS (ESI)

m/z [M + H] calculado para $C_{54}H_{75}N_8O_7S$: 979,30; se encontró 979,5.

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,5]decan-7-il)acetamida

A una solución de terc-butilo (5R)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato (420 mg, 428,89 µmol) en DCM (4,2 mL) se añadió TFA (978,04 mg, 8,58 mmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se añadió gota a gota a $NaHCO_3$ sat. (25 mL) a 0 °C. Luego, la mezcla se extrajo con DCM (3 x 15 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (40 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (350 mg, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{67}N_8O_5S$: 879,18; se encontró 879,5.

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((R)-2-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,5]decano-7-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil-piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)acetamida

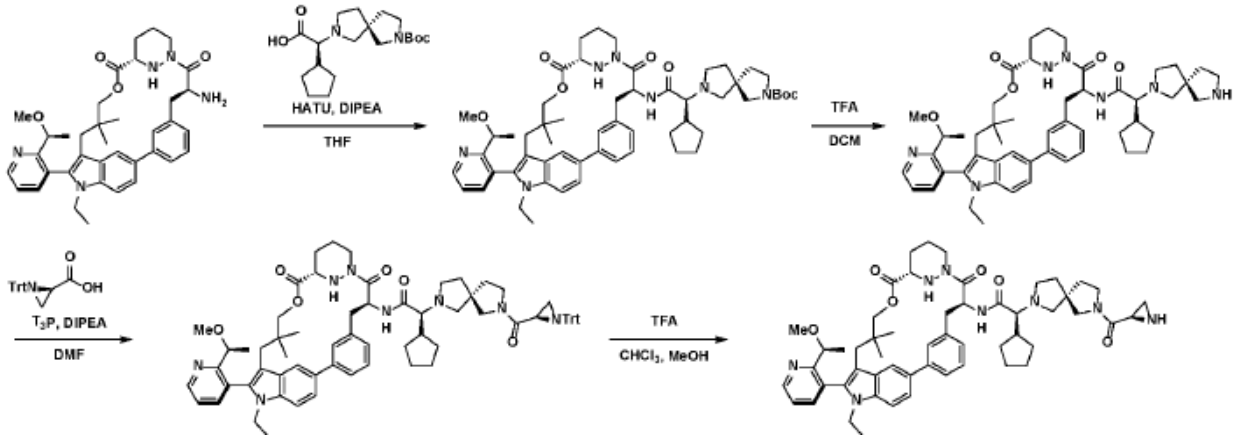
A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,5]decan-7-il)acetamida (350 mg, 398,11 µmol) y ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-[(R)-p-tolilsulfinil]aziridina-2-carboxílico (216,78 mg, 796,21 µmol, Li) en DMF (3,5 mL) se añadió T_3P (380,01 mg, 597,16 µmol) y DIPEA (411,61 mg, 3,18 mmol). Luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió H_2O (15 mL) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 15 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NH_4Cl sat. (25 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante TLC preparativa (EtOAc/éter de petróleo al 10 %) para proporcionar el producto (435 mg, bruto) en forma de sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{62}H_{80}N_9O_7S_2$: 1126,49; se encontró 1126,6.

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((R)-2-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,5]decan-7-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-2-((R)-2-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,5]decan-7-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)acetamida (435 mg, 386,16 µmol) en THF (4,5 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 1,03 mL) a -70 °C y la mezcla se agitó a -70 °C durante

2 h. NH_4Cl sat. (15 mL) se añadió gota a gota a -70 °C y luego la mezcla se calentó a temperatura ambiente. Se añadió EtOAc (3 x 15 mL) y la capa orgánica se separó y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 50-80 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (107 mg, 28 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{55}H_{74}N_9O_6S$: 988,55; se encontró 988,5.

Ejemplo 14: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((R)-aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (609,69 mg, 1,73 mmol) y (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-5,7-diona (830 mg, 1,33 mmol) en THF (16 mL) se añadió HATU (708,30 mg, 1,86 mmol) y DIPEA (515,91 mg, 3,99 mmol) a 0 °C, luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 h. El residuo se vertió en NH_4Cl sat. enfriado (50 mL), la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 100 %) para proporcionar el producto (1,2 g, 94% rendimiento) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{56}H_{76}N_7O_7$: 958,6; se encontró 958,7.

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil- 5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-

2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (1,2 g, 1,25 mmol) en DCM (12 mL) se añadió TFA (2,86 g, 25,05 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C y luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La mezcla se vertió en $NaHCO_3$ sat. frío (40 mL) y la fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (850 mg, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{51}H_{68}N_7O_5$: 858,5; se encontró 858,6.

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-1-tritilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

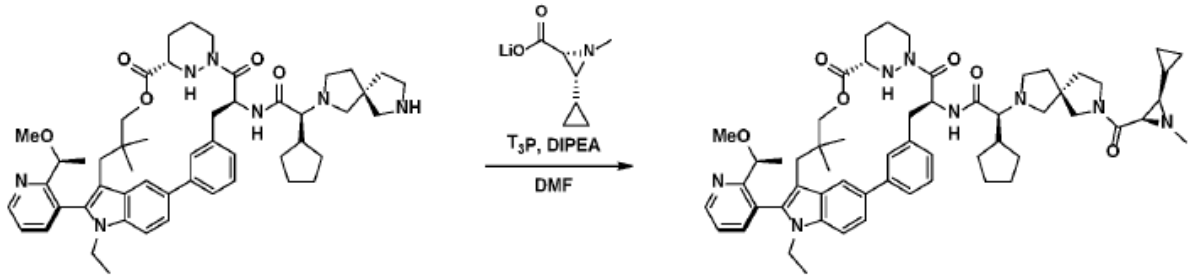
A una solución de ácido (R)-1-tritilaziridina-2-carboxílico (438,69 mg, 932,27 µmol) y (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenocicloundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (400 mg, 466,14 µmol) en DMF (4 mL) se añadió DIPEA (421,71 mg, 3,26 mmol) y T_3P (444,95 mg, 699,20 µmol) a 0 °C, luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El residuo se vertió en NH_4Cl sat. enfriado (40 mL), la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 30-100 %) para proporcionar el producto (300 mg, 55 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{73}H_{85}N_8O_6$: 1169,7; se encontró 1169,8.

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((R)-aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenocicloundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-1-tritilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (300 mg, 256,52 µmol) en MeOH (2 mL) y $CHCl_3$ (1 mL) se añadió TFA (1,75 g, 15,39 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h y luego se añadió a $NaHCO_3$ sat. (30 mL). La fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 10 mL), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se

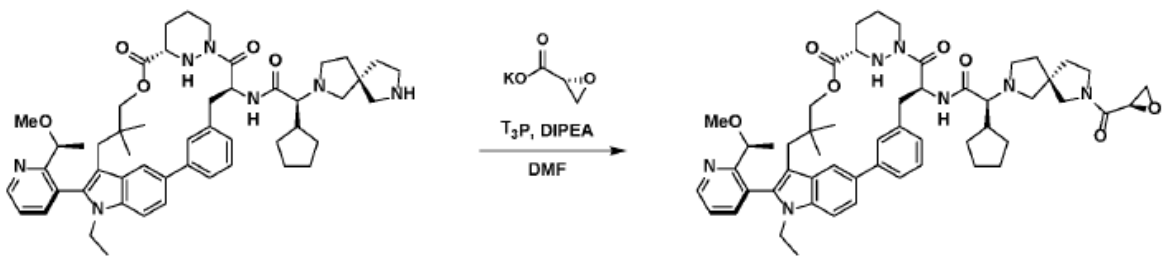
filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-65 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %), seguido de una segunda purificación mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 55-75 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (55,34 mg, 23 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{54}H_{71}N_8O_6$: 927,55; se encontró 927,6

Ejemplo 15: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-metilaziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida



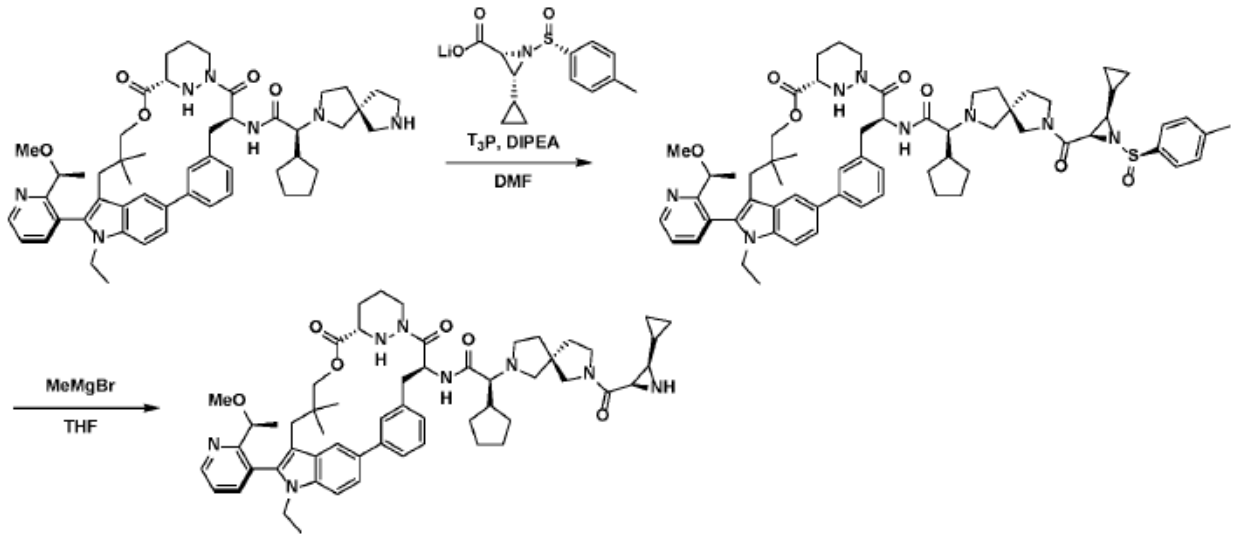
A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (200 mg, 229,33 µmol) en DMF (2 mL) se añadió ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-metilaziridina-2-carboxílico (40,76 mg, 275,20 µmol, Li), DIPEA (296,39 mg, 2,29 mmol) y T_3P (189,72 mg, 298,13 µmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, y luego se añadió NH_4Cl sat. (10 mL), se extrajo con DCM (3 x 10 mL), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (15 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-65 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (75,89 mg, 33 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calcd for $C_{58}H_{75}N_8O_7$: 995,58; se encontró 995,5.

Ejemplo 16: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-oxirano-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida



A una solución de ácido (R)-oxirano-2-carboxílico (103,73 mg, 815,74 µmol, K) y (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (350 mg, 407,87 µmol) en DMF (3,5 mL) se añadió DIPEA (316,29 mg, 2,45 mmol) y T_3P (311,46 mg, 489,44 µmol) a 0 °C, luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El residuo se vertió en NH_4Cl sat. enfriado (30 mL), la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-65 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (68,44 mg, 17 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{54}H_{70}N_7O_7$: 928,54; se encontró 928,5.

Ejemplo 17: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida

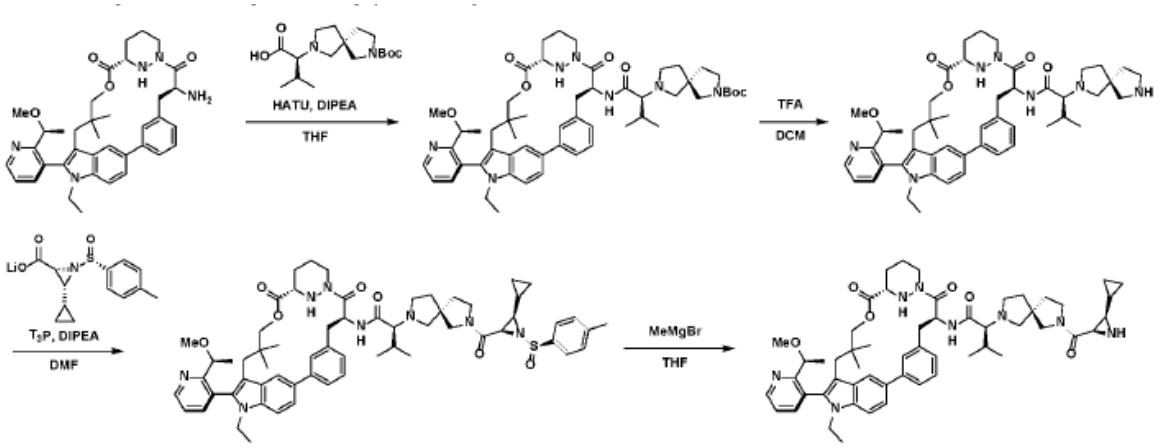
A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (252,65 mg, 751,64 µmol, Li) en DMF (4,5 mL) se añadió DIPEA (323,81 mg, 2,51 mmol) y T_3P (350,77 mg, 551,21 µmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de

reacción se inactivó con H_2O (10 ml) a 0 °C y luego se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (370 mg, 67 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{81}N_8O_7S$: 1105, 59, se encontró: 1105,7.

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida (190 mg, 171,88 µmol) en THF (2 ml) se añadió MeMgBr (3 M, 458,34 µL) a -70 °C, luego la mezcla se agitó a -70 °C durante 1 h. Se añadió NH_4Cl sat. (10 mL) a la mezcla de reacción, gota a gota, a -70 °C. Se eliminó el baño de enfriamiento y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-75 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (72,17 mg, 43 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{57}H_{75}N_8O_6$:967,58; se encontró: 967,5.

Ejemplo 18: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)bencenaciclоundecafano-4-il)-3-metilbutanamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((2S)-1-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-

indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico (289,81 mg, 887,81 µmol) en THF (3 mL) se añadió DIPEA (176,52 mg, 1,37 mmol) y HATU (272,65 mg, 717,08 µmol), luego la mezcla se agitó durante 20 min, seguido de la adición de (6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-5,7-diona (426 mg, 682,93 µmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se añadió NH_4Cl sat. (20 mL). La solución se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (636 mg, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{54}H_{74}N_7O_7$:932,56; se encontró: 932,6.

Paso 2: Síntesis de (2S)-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metil-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((2S)-1-(((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato (857 mg, 919,33 µmol) en DCM (9,3 mL) se añadió TFA (2,10 mg, 18,39 mmol) a 0 °C. Luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3,5 h. La mezcla de reacción se añadió gota a gota $NaHCO_3$ sat. (30 mL) a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 10 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (764 mg, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{66}N_7O_5$: 832,50; se encontró 832,5.

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida

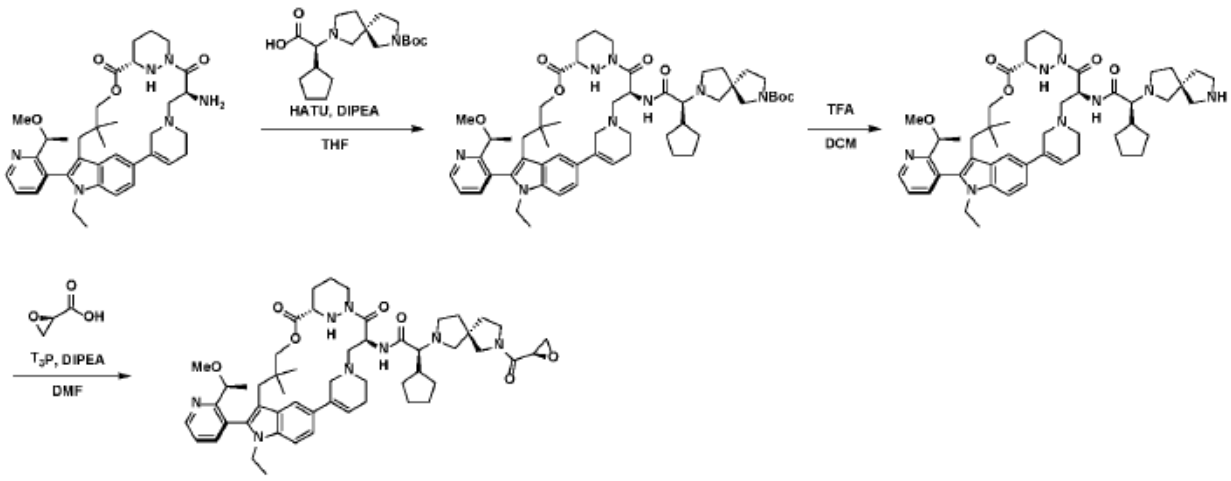
A una solución de (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxilato (89,98 mg, 331,70 µmol Li) y (2S)-N-(((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metil-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida (184 mg, 221,13 µmol) en DMF (1,9 mL) se añadió DIPEA (114,32 mg, 884,53 µmol) y T_3P (154,79 mg, 243,25 µmol). Luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió NH_4Cl sat. (10 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron a

presión reducida para proporcionar un producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/EtOAc al 0-100 %) para proporcionar el producto (170 mg, 71% rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M/2 + H] calculado para $C_{62}H_{78}N_8O_7S$/2+H: 540,78; se encontró 540,7.

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclоundecafano-4-il-3-metilbutanamida

A una solución de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida (255 mg, 236,24 µmol) en THF (2,6 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 628,98 µL) a -70 °C. Luego la mezcla se agitó a -70 °C durante 1 h. Se añadió NH_4Cl sat. (20 mL) gota a gota a -70 °C. Se eliminó el baño de enfriamiento y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente. Se añadió EtOAc (3 X 10 Ml) y la capa orgánica se separó y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 35-65 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (71,7 mg, 32 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{55}H_{73}N_8O_6$: 941,57; se encontró 941,6.

Ejemplo 19: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-oxirano-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il) acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-

diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (215,81 mg, 612,28 µmol) en MeCN (3,5 mL) a 0 °C se añadió HATU (243,39 mg, 640,11 µmol) y DIPEA (179,84 mg, 1,39 mmol). La mezcla se agitó durante 30 min, seguido de la adición de (6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-5,7-diona (350 mg, 556,61 µmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó mediante NH_4Cl sat. frío (50 mL), se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (680 mg, bruto) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{55}H_{79}N_8O_7$: 963,6; se encontró 963,7.

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

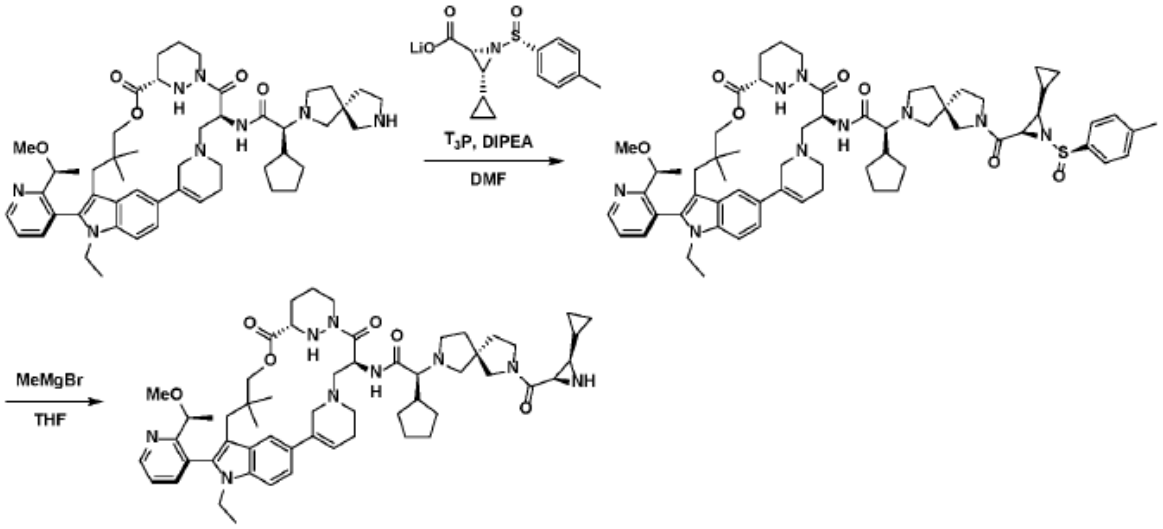
A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-cicIopentil-2-(((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (680 mg, 705,94 µmol) en DCM (7 mL) se añadió TFA (2,41 g, 21,18 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se vertió en $NaHCO_3$ sat. (10 mL), se extrajo con DCM (3 x 3 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (510 mg, bruto) en forma de un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{71}N_8O_5$: 863,5; se encontró 863,6.

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-oxirano-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de ácido (R)-oxirano-2-carboxílico (147,32 mg, 1,16 mmol K) y (2S)-2-cicIopentil-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (500 mg, 579,28 µmol) en DMF (5 mL) se añadió DIPEA (748,66 mg, 5,79 mmol) y T_3P (737,27 mg, 1,16 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (50 mL), se extrajo con EtOAc (3 x 15 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión

reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-75 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (184,4 mg, 33 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado por $C_{53}H_{73}N_8O_7$: 933,56; se encontró 933,6

Ejemplo 20: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)acetamida

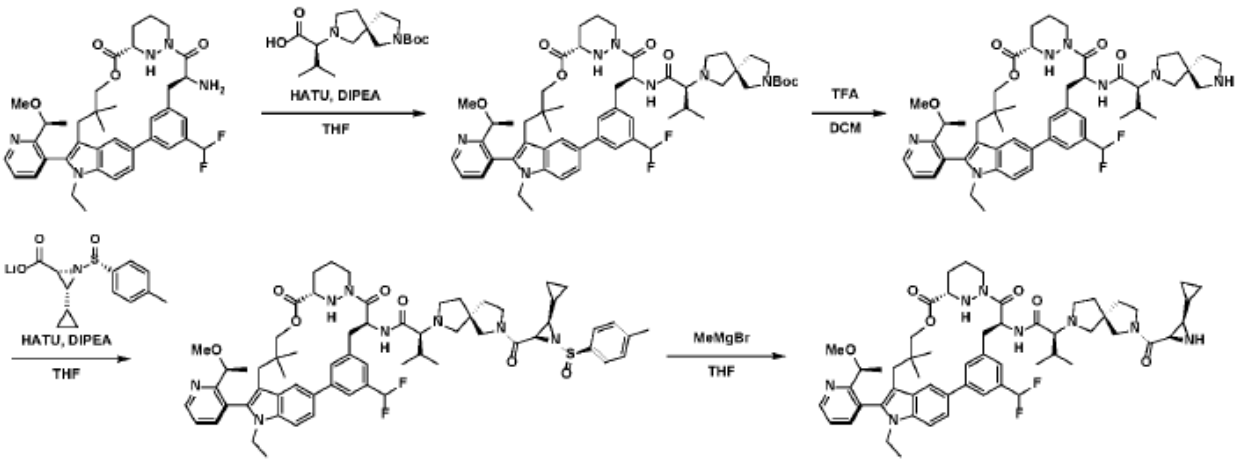
A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (400 mg, 463,42 µmol) y ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxílico (252,35 mg, 926,85 µmol, Li) en DMF (4 mL) se añadió DIPEA (299,47 mg, 2,32 mmol) y T_3P (294,91 mg, 463,42 µmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió a NH_4Cl sat. frío (20 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/EtOAc al 0-10 %) para proporcionar el producto (180 mg, 34% rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M+ H] calculado para $C_{63}H_{84}N_9O_7S$: 1110,61; se encontró 1110,8.

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-

piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)acetamida (200 mg, 180,11 µmol) en THF (2 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 480,29 µL). La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió NH_4Cl sat. frío (20 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-75 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (66,36 mg, 38 % de rendimiento) como un sólido. LCMS: (ESI) *m/z* [M+ H] calculado para $C_{56}H_{78}N_9O_6$:972,61; se encontró: 972,5.

Ejemplo 21: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)-3-metilbutanamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((2S)-1-(((6^{3}S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico (290,68 mg, 890,49 µmol) en THF (5 mL) se añadió HATU (338,59 mg, 890,49 µmol) y DIPEA (230,17 mg, 1,78 mmol) a 0 °C. Después de agitar durante 5 min, (6$_3$S,4S)-4-amino-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-5,7-diona (0,4 g, 593,66 µmol) se añadió a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (30

mL) y se inactivó con H_2O (20 mL). Luego, la capa acuosa se extrajo con 120 mL de EtOAc (4 x 30 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (10 mL) y se secaron en Na_2SO_4. El disolvente se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (0,5 g, bruto) como un aceite, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{55}H_{74}F_2N_7O_7$: 982,5; se encontró 982,5.

Paso 2: Síntesis de (2S)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)-3-metil-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida

A una solución de terc-butilo (5R)-7-((2S)-1-(((6^{3}S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)amino-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato (0,5 g, 509,06 µmol) en DCM (10 mL) se añadió TFA (3,85 g, 33,77 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se inactivó con H_2O (15 mL). La capa acuosa se extrajo con MTBE (2 x 15 mL). Luego la capa acuosa se trató con $NaHCO_3$ acuoso sat. a pH 7~8, luego se extrajo con EtOAc (5 x 20 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (10 mL) y se secaron en Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar el producto (0,45 g, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{50}H_{66}F_2N_7O_5$:882,50; se encontró: 882,4.

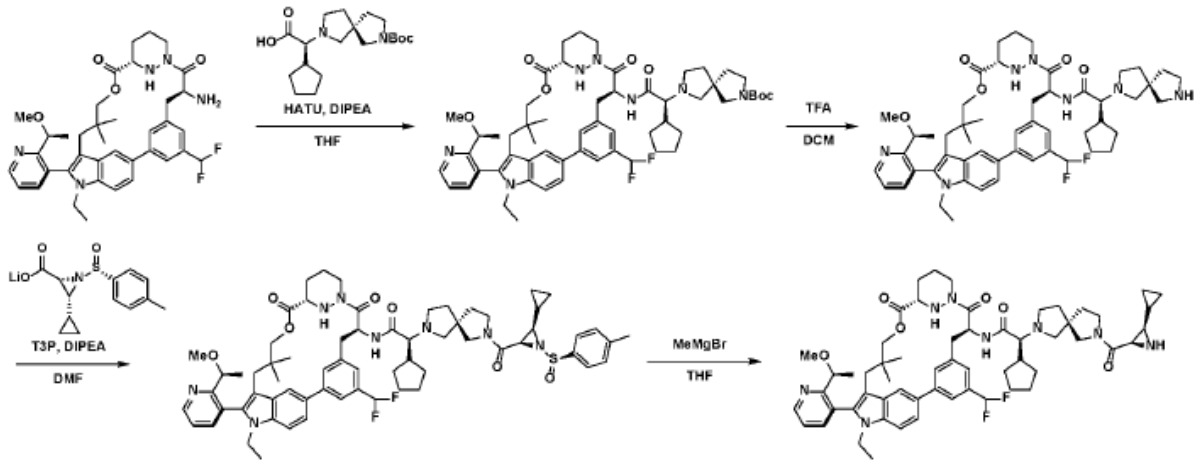
Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)-3-metilbutanamida

A una solución de ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxílico (270,71 mg, 1,02 mmol) en THF (3 mL) se añadió DIPEA (197,80 mg, 1,53 mmol) y HATU (290,96 mg, 765,23 µmol) a 0 °C. Después de agitar durante 5 min, (2S)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)-3-metil-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida (0,45 g, 510,15 µmol) se añadió a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Luego, el disolvente se eliminó a presión reducida y la mezcla resultante se diluyó con EtOAc (15 mL) y se lavó con H_2O (15 mL). Luego, la capa acuosa se extrajo con EtOAc (4 x 15 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (10 mL) y se secaron en Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 0-10 %) para proporcionar el producto (0,4 g, 69 % rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M/2+H] calculado para $C_{63}H_{79}F_2N_8O_7S$/2+1:565,3; se encontró: 565,7.

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenocicloundecafano-4-il-3-metilbutanamida

A una solución de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida (0,4 g, 354,17 µmol) en THF (5 mL) a -78 °C se añadió MeMgBr (3 M, 472,23 µL). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a -78 °C. Luego se añadió H_2O (10 mL) a la reacción a 0 °C. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (4 x 15 mL) y las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (10 mL) y se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 40-70 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (0,094 g, 27 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{56}H_{73}F_2N_8O_6$:991,56; se encontró: 992,2.

Ejemplo 22: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (313,87 mg, 890,49 µmol) en THF (0,4 mL) se añadió HATU (338,59 mg, 890,49 µmol) y DIPEA (230,17 mg, 1,78 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante

30 min a temperatura ambiente, seguido de la adición de una solución de (6^3S,4S)-4-amino-2^5-(difluormetil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-5,7-diona (400 mg, 593,66 µmol) en THF (0,4 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, y luego se añadió NH_4Cl acuoso sat. (20 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (800 mg, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{57}H_{76}F_2N_7O_7$: 1008,6; se encontró 1008,7

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^3S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-((((6^3S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato (800 mg, 595,10 µmol) en DCM (8 mL) se añadió TFA (1,36 g, 11,90 mmol) a 0 °C, luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió gota a gota a $NaHCO_3$ acuoso sat. (30 mL) a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el producto (630 mg, bruto) como un sólido, que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{68}F_2N_7O_5$: 908,5; se encontró 908,6.

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^3S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)acetamida

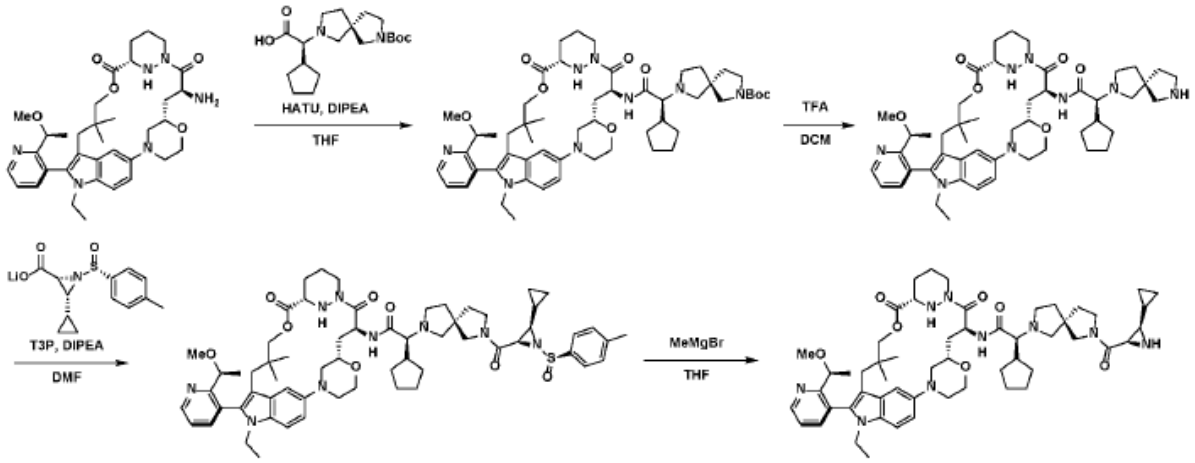
A una solución de ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxílico (350,60 mg, 1,32 mmol), (2S)-2-ciclopentil-N-((6^3S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (600 mg, 660,70 µmol) y DIPEA (512,33 mg, 3,96 mmol) en DMF (6 mL) se añadió T_3P (504,53 mg, 792,84 µmol) a 0 °C, luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El residuo se vertió en NH_4Cl acuoso sat. (60 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. Purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10-50 %) para proporcionar el producto (560 mg, 57 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para

$C_{65}H_{81}F_2N_8O_7S$: 1155,6; se encontró 1155,7.

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclounde cafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)acetamida (500 mg, 432,74 µmol) en THF (7,5 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 1,15 mL) a -70 °C en N_2. La mezcla se agitó a -70 ºC durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso sat. (30 mL). Luego, la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 40-70 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (105,94 mg, 24 % de rendimiento) como sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}H_{75}F_2N_8O_6$: 1017,58; se encontró 1017,4.

Ejemplo 23: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (310 mg, 879,51 µmol) en MeCN (4 mL) se añadió HATU (334,42 mg, 879,51

µmol) y DIPEA (227,34 mg, 1,76 mmol), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, seguido de la adición de (2^2S,6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona (371,03 mg, 586,34 µmol) a temperatura ambiente. Luego, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se vertió en H_2O (20 mL), se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/EtOAc al 0-10 %) para proporcionar el producto (400 mg, 71 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{54}H_{79}N_8O_8$: 966,59; se encontró 967,7.

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((2^2S,6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-((((2^2S,6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato (400 mg, 413,55 µmol) en DCM (1 mL) se añadió TFA (943,08 mg, 8,27 mmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se vertió en $NaHCO_3$ acuoso sat. (30 mL), se extrajo con DCM (3 x 20 mL), luego se lavó con salmuera (20 mL) y la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (220 mg, 61 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{49}H_{71}N_8O_6$: 866,54; se encontró 867,6.

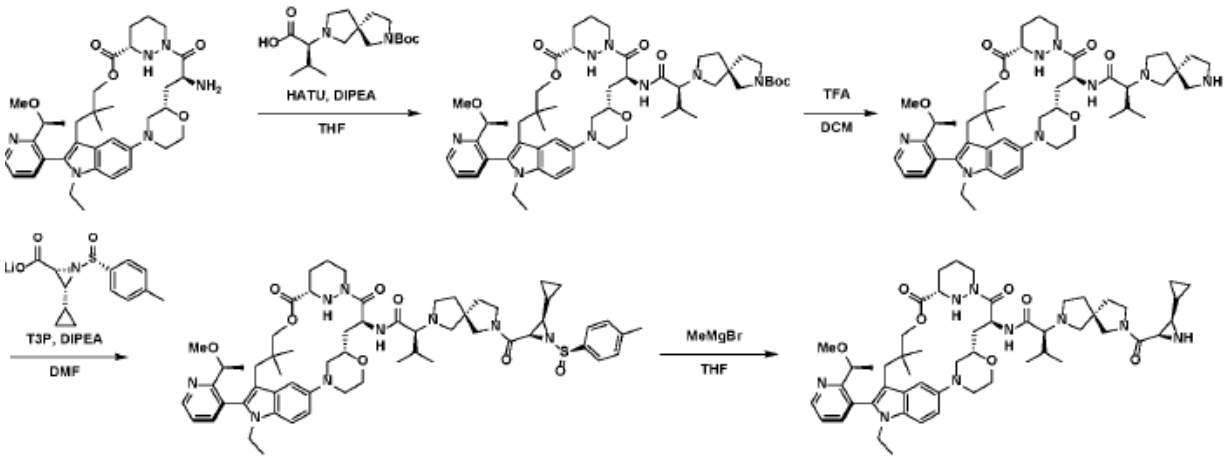
Paso 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^2S,6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-isopropilpiridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((2^2S,6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (320 mg, 369,03 µmol) y ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxílico (209,82 mg, 553,55 µmol) en DMF (3,5 mL) se añadió T_3P (258,32 mg, 405,94 µmol) y DIPEA (190,78 mg, 1,48 mmol) a temperatura ambiente, luego la reacción se agitó durante 1 h. La mezcla se vertió en H_2O (20 ml), se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml) y se lavó con salmuera (20 mL). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto (230 mg, 56 % de rendimiento) como un sólido LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{62}H_{84}N_9O_8S$: 1113,61; se encontró 1114,7

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-isopropilpiridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)acetamida (230 mg, 206,38 µmol) en THF (3 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 550,35 µL) a -78 °C, luego la mezcla se agitó a -78 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso sat. (20 mL). La fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 35-60 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (70,34 mg, 35 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{55}H_{78}N_9O_7$: 976,61; se encontró 976,6.

Ejemplo 24: Síntesis de (2S)-2-((R)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-3-metilbutanamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5R)-7-((2S)-1-(((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((R)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico (346,66 mg, 1,06 mmol) en THF (4 mL) se añadió DIPEA (257,35 mg, 1,99 mmol) y HATU (403,79 mg, 1,06 mmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó durante 30 min, seguido de la adición de (2^{2}S,6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-

$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona (420 mg, 663,73 µmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió H_2O (20 mL) a la mezcla y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 15 mL) y la fase orgánica se lavó con NH_4Cl acuoso sat. (3 x 20 mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (780 mg, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{77}N_8O_8$: 941,58; se encontró 941,5

Paso 2: Síntesis de (2S)-N-((2^2S,6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-3-metil-2-((R)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida

A una solución de terc-butilo (5R)-7-((2S)-1-(((2^2S,6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (620 mg, 658,73 µmol) en DCM (6 mL) se añadió TFA (1,50 g, 13,17 mmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se añadió gota a gota a 100 mL de $NaHCO_3$ acuoso sat., luego la mezcla se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (520 mg, 73 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{47}H_{69}N_8O_6$: 841,53; se encontró 841,4

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((R)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^2S,6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)- 10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-3-metilbutanamida

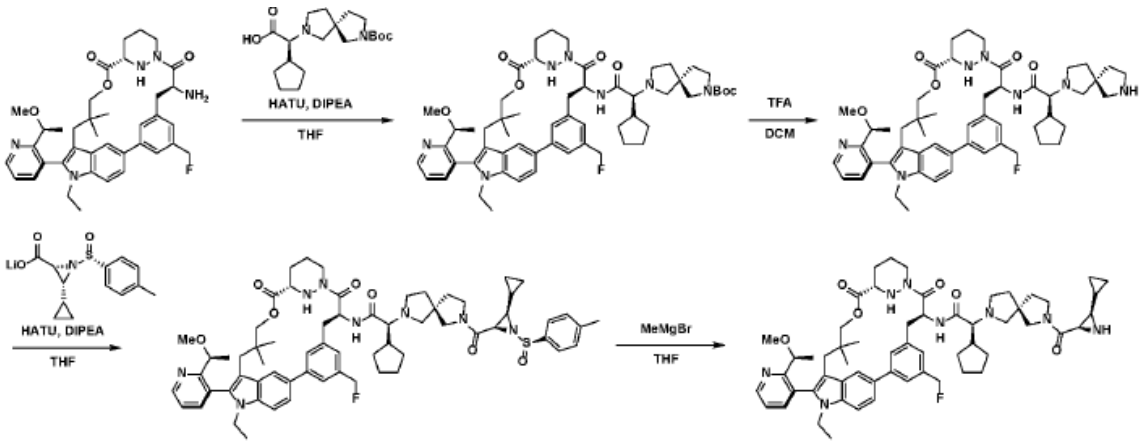
A una solución de (2S)-N-2-((2^2S,6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-3-metil-2-((R)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida (420 mg, 499,35 µmol) en DMF (4 mL) se añadió ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxílico (226,60 mg, 599,22 µmol, Li) a temperatura ambiente, seguido por DIPEA (258,15 mg, 2,00 mmol) y T_3P (349,55 mg, 549,29 µmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió H_2O (50 mL) a la mezcla y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y la fase orgánica se lavó con NH_4Cl acuoso sat (3 x 20 mL), se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %, luego MeOH/EtOAc al 0-20 %) para proporcionar el producto (370 mg, 61 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{60}H_{82}N_9O_8S$: 1088,59; se encontró 1088,7

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-((R)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^2S,6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-

piridazinaciclоundecafan-4-il)-3-metilbutanamida

A una solución de (2S)-2-((R)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-3-metilbutanamida (440 mg, 404,26 µmol) en THF (4,5 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 1,08 mL) a -78 °C, luego la mezcla se agitó a -78 °C durante 1 h en N_2. La mezcla se añadió gota a gota a NH_4Cl acuoso sat. frío (40 mL), luego la mezcla se extrajo con DCM (3 x 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El bruto fue purificado mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 35-65 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (109,2 mg, 28 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{53}H_{76}N_9O_7$: 950,59; se encontró 950,6

Ejemplo 25: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (362,79 mg, 1,03 mmol) en THF (4,5 mL) se añadió HATU (391,36 mg, 1,03 mmol) y DIPEA (266,05 mg, 2,06 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a temperatura ambiente, luego se añadió una solución de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-5,7-diona (450 mg, 686,19 µmol) en THF (4,5 mL), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El residuo se vertió en NH_4Cl acuoso sat. (30 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las fases

orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (900 mg, bruto) como un sólido, que se utilizado directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{57}H_{77}FN_7O_7$: 990,6; se encontró 990,6.

Paso 2: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6$_3$,6$_4$,6$_5$,6$_6$-hexahidro-1$_1$H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (900 mg, 636,20 µmol) en DCM (9 mL) se añadió TFA (1,45 g, 12,72 mmol) a 0 °C, luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió gota a gota a $NaHCO_3$ acuoso sat. (100 mL) a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 30 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (700 mg, 88 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{52}H_{69}FN_7O_5$: 890,5; se encontró 890,7.

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)acetamida

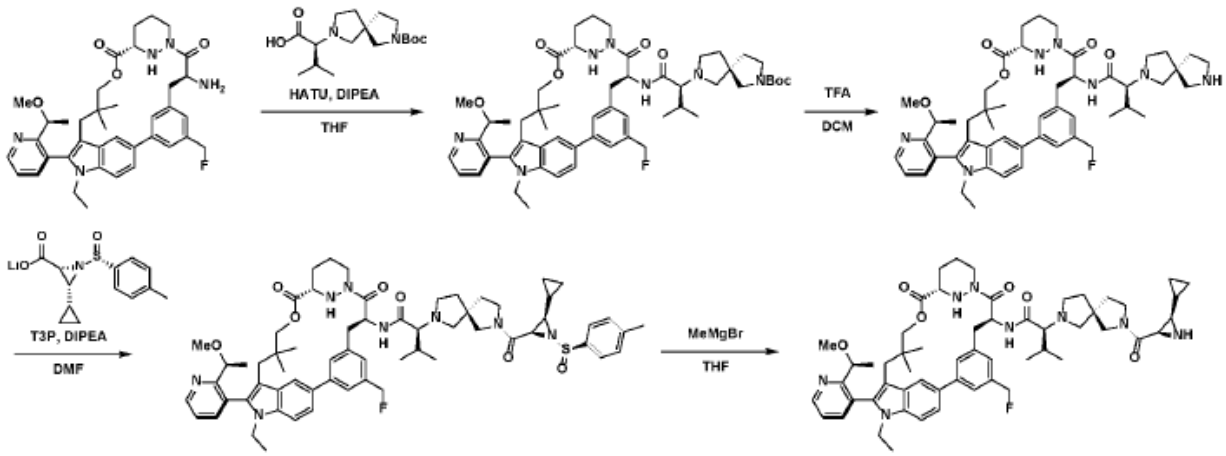
A una solución de ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxílico (320,11 mg, 1,18 mmol, Li) en THF (6 mL) se añadió HATU (406,40 mg, 1,07 mmol) y DIPEA (207,21 mg, 1,60 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadió una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (670 mg, 534,41 µmol) en THF (6 mL) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El residuo se vertió en NH_4Cl acuoso sat. (30 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 15 Ml), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el bruto producto que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %, luego MeOH/EtOAc al 50 %) para proporcionar el producto (330 mg, 52 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{85}H_{82}FN_8O_7$: 1137,6; se encontró 1137,7.

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-

il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-ciclopropil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida (400 mg, 351,66 µmol) en THF (6 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 937,77 mL) a -70 °C en N_2. Luego la mezcla se agitó a -70 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso sat. (30 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el bruto producto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 40-70 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (72 mg, 20 % de rendimiento) como sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}H_{76}FN_8O_6$: 999,59; se encontró 999,5

Ejemplo 26: Síntesis de (2S)-2-((R)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)-3-metilbutanamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((2S)-1-((((6^3S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico (440 mg, 1,35 mmol) y HATU (580,85 mg, 1,53 mmol) en THF (5 mL) se añadió (6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-5,7-diona (589,31 mg, 898,61 µmol) y DIPEA (290,35 mg, 2,25 mmol)

a 0 °C, luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se añadió a NH_4Cl acuoso sat. frío (20 mL). Luego, la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (1,27 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M+ H] calculado para $C_{55}H_{75}FN_7O_7$: 964,56; se encontró 964,7.

Paso 2: Síntesis de (2S)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metil-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((2S)-1-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (1,27 g, 1,32 mmol) en DCM (12 mL) se añadió TFA (4,51 g, 39,51 mmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió a $NaHCO_3$ acuoso sat. frío (100 mL). Luego, la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con (50 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (890 mg, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M+ H] calculado para $C_{50}H_{67}FN_7O_5$: 864,51; se encontró 864,6.

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida

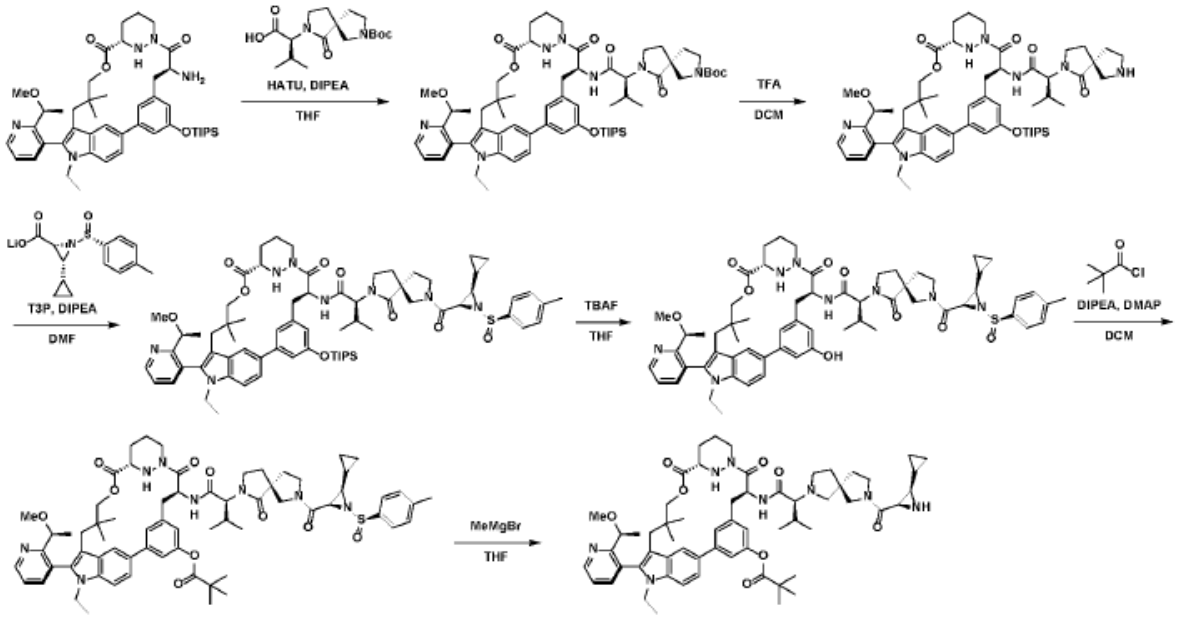
A una solución de ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxílico (397,01 mg, 1,46 mmol, Li) y (2S)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metil-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida (840 mg, 972,11 µmol) en DMF (9 mL) se añadió DIPEA (628,19 mg, 4,86 mmol) y T_3P (309,31 mg, 972,11 µmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió a NH_4Cl acuoso sat. frío (30 mL). Luego, la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/EtOAc al 0-10 %) para proporcionar el producto (700 mg, 65 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{63}H_{80}FN_8O_7S$: 1111,58; se encontró 1111,8.

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-

10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenocicloundecafano-4-il-3-metilbutanamida

A una solución de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida (350 mg, 314,92 µmol) en THF (4 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 839,77 µL) a -78 °C, luego la mezcla se agitó a -78 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió a NH_4Cl acuoso sat. frío (20 mL). Luego, la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron con Na_2SO4 anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida. El producto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-65 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) , para proporcionar el producto (107,96 mg, 18 % de rendimiento) como un sólido. LCMS: (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{56}H_{74}FN_8O_6$:973,57; se encontró: 973,5.

Ejemplo 27: Síntesis de pivalato de (6^3S,4S)-4-((S)-2-((R)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenocicloundecafano-2^5-il



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5R)-7-((2S)-1-(((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano- 2-carboxilato

A una solución de (6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-5,7-diona (0,55 g, 690,85 µmol) en THF (5,5 mL) se

añadió ácido (S)-2-((R)-7-(terc-butoxicarbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico (246,93 mg, 725,39 µmol), DIPEA (446,44 mg, 3,45 mmol) y HATU (315,22 mg, 829,02 µmol), luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se vertió en H_2O frío (50 mL) y se agitó durante 5 min. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera (20 mL), se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (0,82 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{63}H_{92}N_7O_9Si$: 1118,66; se encontró 1118,7.

Paso 2: Síntesis de (2S)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metil-2-((S)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida

A una solución de terc-butilo (5R)-7-((2S)-1-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-6-oxo-2,7-diazaspiro[4,4] nonan-2-carboxilato (0,89 g, 795,69 µmol) en DCM (9 mL) se añadió TFA (2,27 g, 19,89 mmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente en N_2 durante 1 h. La mezcla se vertió en $NaHCO_3$ acuoso sat. (60 mL) a 0 °C y se neutralizó a pH 7-8. La mezcla resultante se extrajo con DCM (2 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (0,7 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}H_{84}N_7O_7Si$: 1018,61; se encontró 1018,6.

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida

A una solución de (2S)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metil-2-((S)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida (0,7 g, 687,35 µmol) y ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxílico (246,20 mg, 904,27 µmol, Li) en DMF (7 mL) se añadió DIPEA (533,00 mg, 4,12 mmol) y T_3P (568,62 mg, 893,55 µmol), luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se vertió en H_2O frío (80 mL) y se agitó durante 5 min. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (0,7 g, 81 % de rendimiento)

como un sólido.

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida

A una solución de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida (0,7 g, 553,05 µmol) en THF (7 mL) se añadió TBAF (1 M, 1,66 mL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en N_2 durante 1 h. La reacción se inactivó con NH_4Cl/H_2O acuoso sat. (1:1, 70 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL) y se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (0,54 g, 88 % de rendimiento) como un sólido.

Paso 5: Síntesis de pivalato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il

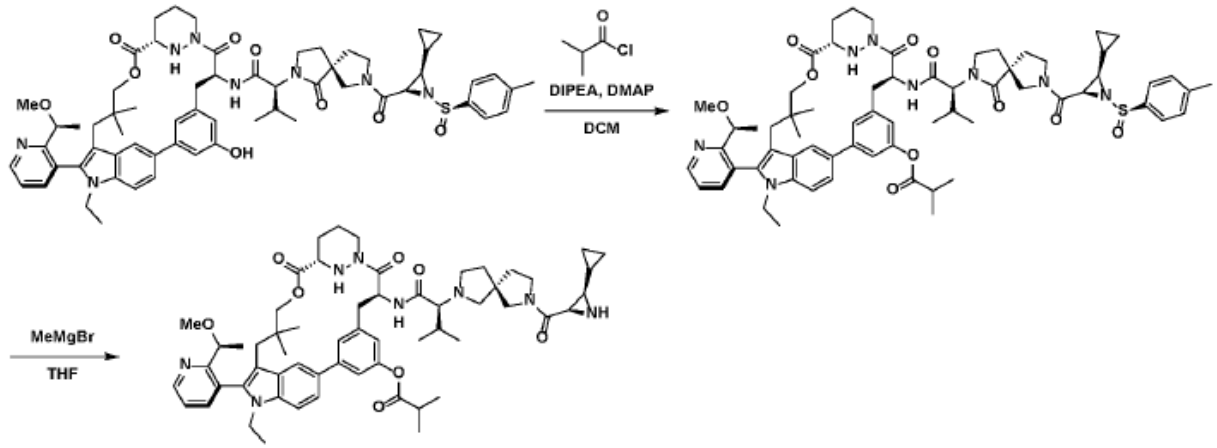
A una solución de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilibutanamida (0,54 g, 486,76 µmol) y DIPEA (188,73 mg, 1,46 mmol) en DCM (8 mL) se añadió cloruro de 2,2-dimetilpropanoil (76,30 mg, 632,79 µmol) y DMAP (5,95 mg, 48,68 µmol) a 0 °C, la mezcla se agitó a temperatura ambiente en N_2 durante 1 h. La mezcla de reacción se vertió en H_2O frío (100 mL) y se extrajo con DCM (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera (40 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (0,51 g, 88 % de rendimiento) como un sólido.

Paso 6: Síntesis de pivalato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-25-il

A una solución de pivalato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonilo)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina -2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il (0,49 g, 410,56 µmol) en

THF (5 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 615,84 µL) a -78 °C, luego la mezcla se agitó a -78 °C en N_2 durante 30 min. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso sat. (60 mL) y luego la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-75 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (232,42 mg, 53 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{60}H_{79}N_8O_9$: 1055,60; se encontró 1055,5.

Ejemplo 28: Síntesis de isobutirato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-25-il



Paso 1: Síntesis de isobutirato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-25-iI

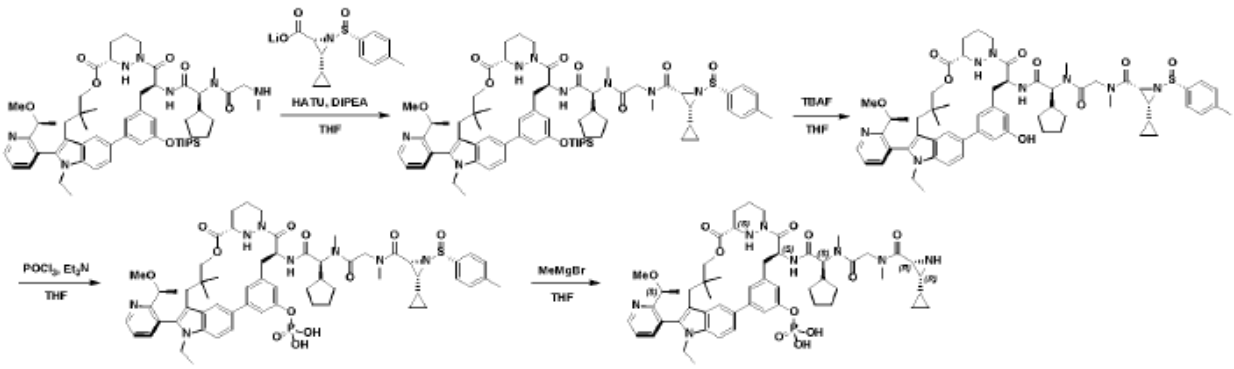
A una solución de (2S)-2-ciclopropil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-iI)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida (750 mg, 660,55 µmol) y DIPEA (256,12 mg, 1,98 mmol) en DCM (8 mL) se añadió cloruro de 2-metilpropanoiloI (91,50 mg, 858,72 µmol) y DMAP (8,07 mg, 66,06 µmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se vertió en solución de NH_4CI acuoso sat. (20 mL) y luego la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml) y se separó. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto. El producto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/EtOAc al 0-10 %) para proporcionar el producto (500 mg, 63 % de rendimiento) como sólido. LCMS: (ESI) *m/z* [M+ H] calculado para

$C_{68}H_{85}N_8O_{10}S$:1025,60; se encontró: 1025,6.

Paso 2: Síntesis de isobutirato de (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-25-il

A una solución de isobutirato de (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-1-oxo-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-25-il (400 mg, 331,81 µmol) en THF (5 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 884,83 µL) a -78 °C, y se agitó durante 1 h. La mezcla se añadió a NH_4Cl acuoso sat. (20 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-65 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) y el eluyente se liofilizó para proporcionar el producto (103,15 mg, 29 % de rendimiento) como un sólido. LCMS: (ESI) *m/z* [M+ H] calculado para $C_{61}H_{79}N_8O_9$: 1067,60; se encontró: 1067,6.

Ejemplo 29: Síntesis de fosfato dihidrógeno de (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-2^5-il



Paso 1: Síntesis de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-((((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamida

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)-2-(N-metil-2-(metilamino)acetamido)acetamida (0,2 g, 198,73 µmol) y ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-

tolisulfinil)aziridina-2-carboxílico (113,91 mg, 317,97 µmol, Li) en THF (3,5 mL) se añadió DIPEA (115,58 mg, 894,28 µmol) y HATU (113,34 mg, 298,09 µmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en H_2O frío (30 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 15 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera (10 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (0,2 g, 80 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{70}H_{97}N_8O_9SSi$: 1253,7; se encontró 1253,7.

Paso 2: Síntesis de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-cicIopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicIoundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamida

A una solución de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((triisopropilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamida (0,2 g, 159,53 µmol) en THF (1,5 mL) se añadió TBAF (1 M, 191,43 µL) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se inactivó con NH_4CI/H_2O acuoso sat (1:1, 20 mL) y se extrajo con EtOAc (10 x 3 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (0,14 g, 80 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{61}H_{76}N_8O_9S$: 1097,5; se encontró 1097,5.

Paso 3: Síntesis de fosfato dihidrógeno (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-cicIopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,63,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-Ii

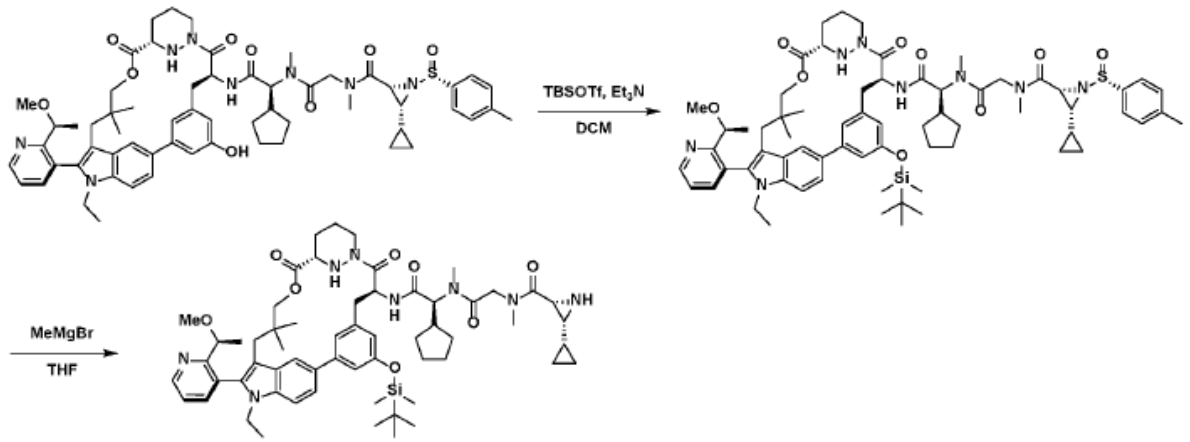
A una solución (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-cicIopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamida (1 g, 911,27 µmol) en THF (50 mL) a 0°C se añadió Et_3N (1,90 mL, 13,67 mmol), seguido de $POCI_3$ (127,02 µL, 1,37 mmol), luego la mezcla se agitó durante 30 min a 0 °C. Se añadió Na_2CO_3 (20 mL) y la mezcla resultante se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla se ajustó a pH 7 con 1 N de HCl y luego se extrajo con DCM (5 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (1,07 g, bruto) como un sólido, que se usó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{61}H_{78}N_8O_{12}PS$:

1177,51; se encontró 1177,6.

Paso 4: Síntesis de fosfato dihidrógeno (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-2^5-il

A una solución de fosfato dihidrógeno (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-Piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-2^5-il (400 mg, 339,75 µmol) en THF (4 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 905,99 µL) a -78 °C, luego la mezcla se agitó a -78 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso sat. (20 mL), luego la fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 25-55 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (31,60 mg, 8 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{54}H_{72}N_8O_{11}P$: 1039,51; se encontró 1039,5.

Ejemplo 30: Síntesis de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-2-((((6^3S,4S)-2^5-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-1-ciclopentil-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamida



Paso 1: Síntesis de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-2-((((6^3S,4S)-2^5-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-1-ciclopentil-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxamida

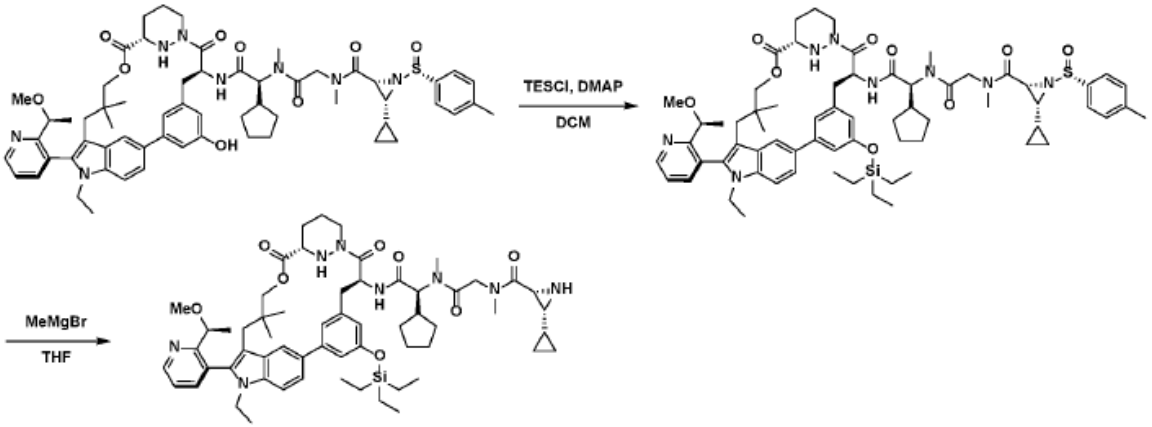
A una solución (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-((((6^3S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-

indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridin-2-carboxamida (200 mg, 182,25 µmol) en DCM (2 mL) se añadió Et_3N (55,33 mg, 546,76 µmol) y TBSOTf (96,35 mg, 364,51 µmol) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a 30 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (30 mL) a 0 °C y luego se extrajo con EtOAc (3 x 15 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (MeOH/EtOAc al 10 %) para proporcionar el producto (150 mg, 57 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{67}H_{91}N_8O_9SSi$: 1211,6; se encontró 1211,7.

Paso 2: Síntesis de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-2-(((6^{3}S,4S)-2^5-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-1-ciclopentil-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamida

A una solución de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-2-(((6^{3}S,4S)-2^5-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-1-ciclopentil-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxamida (300 mg, 247,60 µmol) en THF (3 mL) a -70 °C se añadió MeMgBr (3 M, 660,27 µL). La mezcla se agitó a -70 °C durante 1 h. La reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso sat. (30 mL) a 0 °C, y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 15 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 80-98 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) y se liofilizó para proporcionar el producto (56,05 mg, 76 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{60}H_{85}N_8O_8Si$: 1073,63; se encontró: 1073,6

Ejemplo 31: Síntesis de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((trietilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamida



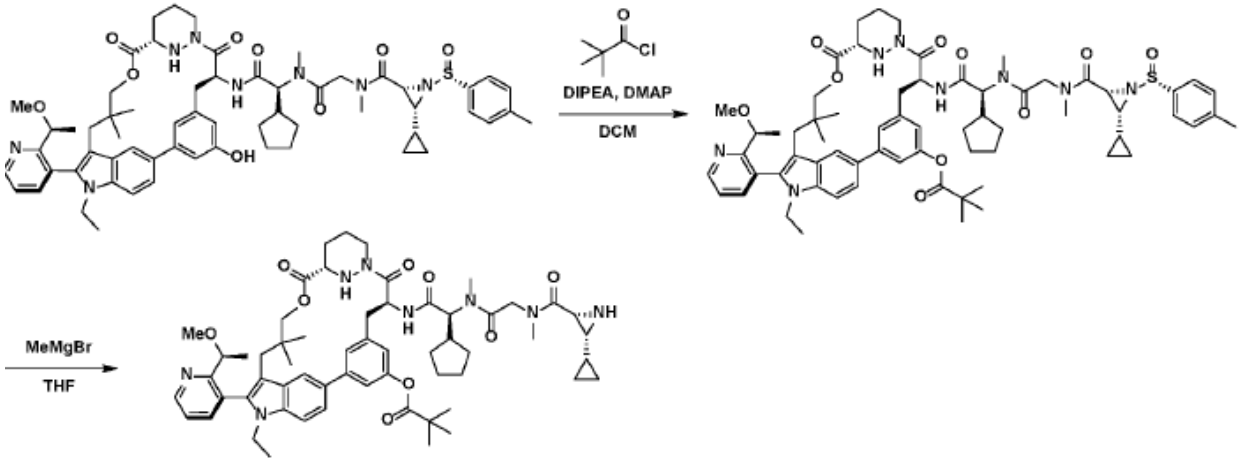
Paso 1: Síntesis de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((trietilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxamida

A una solución de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamida (500 mg, 455,64 µmol) y DMAP (244,11 mg, 2,28 mmol) en DCM (5 mL) se añadió cloro(trietil)silano (206,02 mg, 1,37 mmol) y después la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (10 ml) a 0 °C y luego se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (280 mg, 36 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M +H] calculado para $C_{67}H_{91}N_8O_9SSi$:1211,63; se encontró: 1211,8.

Paso 2: Síntesis de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((trietilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)- 3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamida

A una solución de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^5-((trietilsilil)oxi)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamida (260 mg, 214,59 µmol) en THF (2,5 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 286,12 µL) a -70 °C, luego la mezcla se agitó a -70 °C durante 1 h. Se añadió NH_4Cl acuoso sat. (10 mL) a la mezcla de reacción gota a gota a -70 °C. Se eliminó el baño de enfriamiento y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 75-98 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (40,27 mg, 17 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{60}H_{85}N_8O_8Si$: 1073,63; se encontró 1073,5.

Ejemplo 32: Síntesis de pivalato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-2^5-il



Paso 1: Síntesis de pivalato de (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il

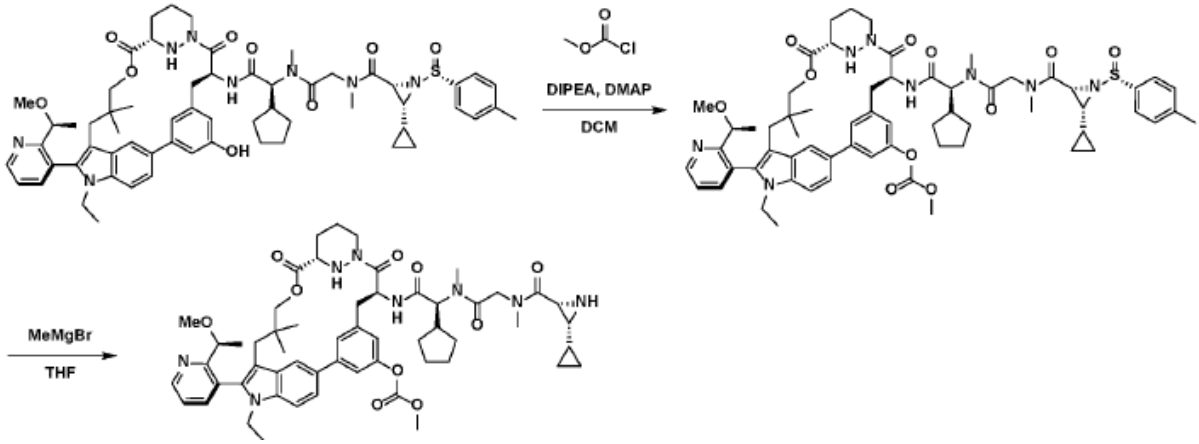
A una solución (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-((((6^3S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamida (500 mg, 455,64 µmol) y DIPEA (176,66 mg, 1,37 mmol) en DCM (7,5 mL) se añadió cloruro de 2,2-dimetilpropanoilo (71,42 mg, 592,33 µmol) y DMAP (5,57 mg, 45,56 µmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (10 mL) a 0 °C y luego se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 15 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (450 mg, 76 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M +H] calculado para $C_{66}H_{85}N_8O_{10}S$: 1181,60; se encontró 1181,6.

Paso 2: Pivalato de (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-((S)-1- metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il

A una solución de pivalato de (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il (330 mg, 279,31 µmol) en THF (3 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 744,83 µL) a -70 °C, luego la mezcla se agitó a -70 °C durante 1 h. Se añadió NH_4Cl acuoso sat. (10 mL), gota a gota, a la mezcla de reacción a -70 °C. Se eliminó el baño de enfriamiento y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se concentraron

a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 55-85 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) y se liofilizó para proporcionar el producto (120 mg, 41 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{59}H_{79}N_8O_9$: 1043,60; se encontró 1043,6.

Ejemplo 33: Síntesis de metil carbonato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-2^5-il



Paso 1: Síntesis de metil carbonato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-2^5-il

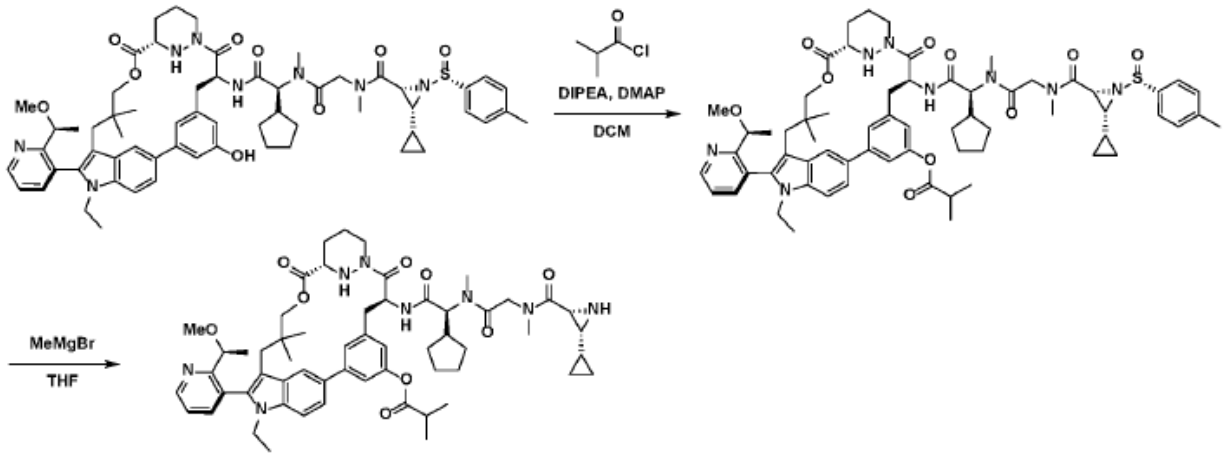
A una solución de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamida (500 mg, 455,64 µmol) y DIPEA (176,66 mg, 1,37 mmol) en DCM (7,5 mL) se añadió carbonocloridato de metilo (55,97 mg, 592,33 µmol) y DMAP (5,57 mg, 45,56 µmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con H^2O (10 ml) a 0 °C y luego se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 15 mL), se secaron en NazSO4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (450 mg, 82 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M +H] calculado para $C_{63}H_{79}N_8O_{11}S$: 1155,55; se encontró 1155,6.

Paso 2: Síntesis de metil carbonato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-

indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il

A una solución de metil carbonato de (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il (170 mg, 147,13 µmol) en THF (1,7 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 392,36 µL) a -70 °C, luego la mezcla se agitó a -70 °C durante 1 h. Se añadió NH_4Cl acuoso sat. (10 mL), gota a gota, a la mezcla de reacción a -70 °C. Se eliminó el baño de enfriamiento y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 35-65 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (50,12 mg, 33 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{56}H_{73}N_8O_{10}$: 1017,55; se encontró 1017,5.

Ejemplo 34: Síntesis de isobutirato (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il



Paso 1: Síntesis de isobutirato (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il

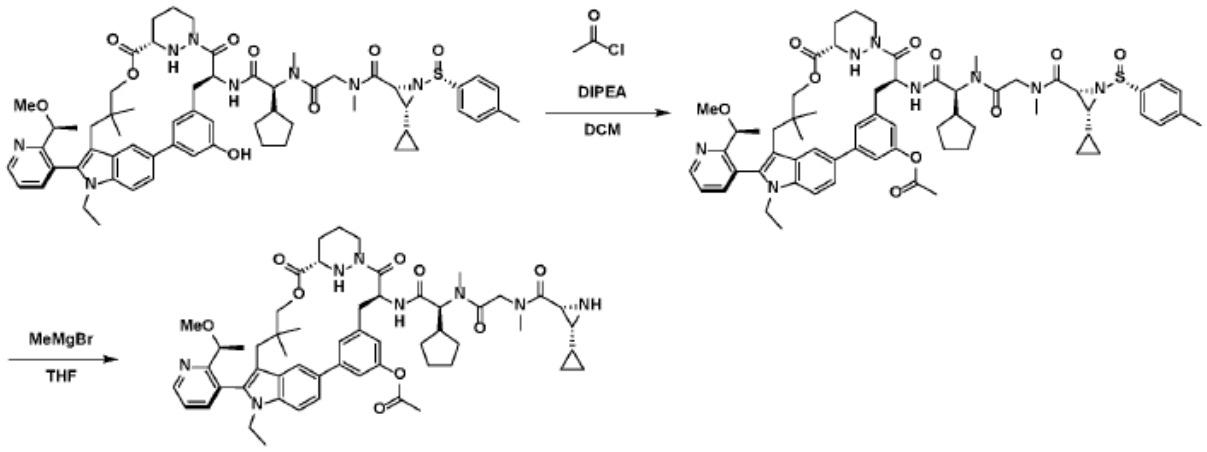
A una solución de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-((((6^3S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamido) (7,8 g, 7,11 mmol) y DIPEA (2,76 g, 21,32 mmol) en DCM (120 mL) se añadió cloruro de 2-metilpropanoilo (984,56 mg, 9,24 mmol) y DMAP (86,84 mg, 710,79 µmol) a 0 °C. La mezcla se

agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se vertió en H_2O frío (360 ml) y se extrajo con DCM (3 x 120 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (6,7 g, 81 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M/2 + H] calculado para $C_{65}H_{83}N_8O_{10}S$: 584,7; se encontró 584,7.

Paso 2: Síntesis de isobutirato (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il

A una solución de isobutirato (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-12-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il (6,2 g, 5,31 mmol) en THF (75 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 7,97 mL) a -70 °C. La mezcla se agitó a -70 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl acuoso sat. (80 mL) a -70 °C, y luego se diluyó con H_2O (80 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 35-70 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %). El eluyente se liofilizó para proporcionar el producto (4,77 g, 83 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}H_{77}N_8O_9$: 1029,58; se encontró 1029,6

Ejemplo 35: Síntesis de acetato de (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il



Paso 1: Síntesis de acetato de (6^3S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-

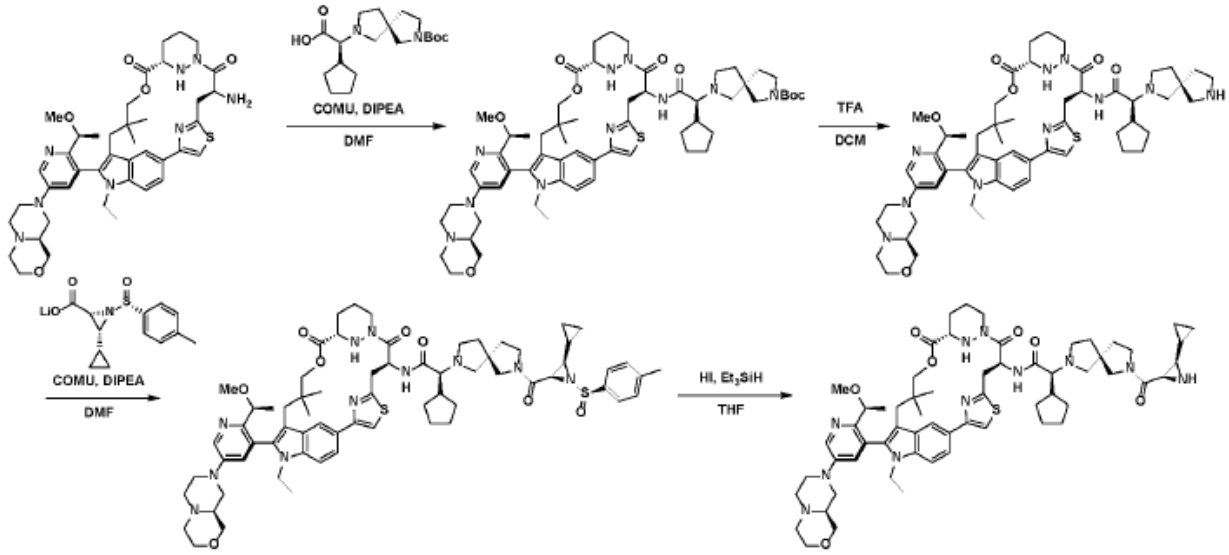
metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il

A una solución de (2R,3R)-N-(2-(((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-hidroxi-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)(metil)amino)-2-oxoetil)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamido) (110 mg, 100,24 µmol) y DIPEA (38,87 mg, 300,72 µmol) en DCM (1,1 mL) se añadió cloruro de acetilo (9,44 mg, 120,29 µmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se vertió en H_2O frío (20 mL) y se extrajo con DCM (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera (10 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo al 0-100 %) para proporcionar el producto (105 mg, 92 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{79}N_8O_{10}S$: 1139,6; se encontró 1139,6.

Paso 2: Síntesis de acetato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metilaziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il

A una solución de acetato de (6^{3}S,4S)-4-((S)-2-ciclopentil-2-(2-((2R,3R)-3-ciclopropil-N-metil-1-((R)-p-tolisulfinil)aziridina-2-carboxamido)-N-metilacetamido)acetamido)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-2^5-il (100 mg, 87,77 µmol) en THF (1 mL) se añadió MeMgBr (3 M, 146,28 µL) a -70 °C. La mezcla se agitó a -70 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl acuoso sat. (2 mL) a -70 °C, y luego se diluyó con H_2O (20 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL) Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 45-75 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (20,8 mg, 24 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{56}H_{73}N_8O_9$: 1001,55; se encontró 1001,5.

Ejemplo 36: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución agitada de (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-5,7-diona (715 mg, 0,936 mmol), DIPEA (4840,19 mg, 37,440 mmol) y ácido (S)-[(5S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il](ciclopentil)acético (429,01 mg, 1,217 mmol) en DMF (8 mL) se añadió COMU (441,07 mg, 1,030 mmol) en DMF (0,5 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó mediante la adición de H_2O a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (632 mg, 60 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{60}H_{84}N_{10}O_8S$: 1105,63; se encontró 1105,8

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina -8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución agitada de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (659 mg) en DCM (6 mL) se añadió TFA (2 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La

mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 × 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla de producto bruto se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{55}H_{76}N_{10}O_6S$: 1005,57; se encontró 1005,8

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-1-((R)-terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-1-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)amino)acetamida

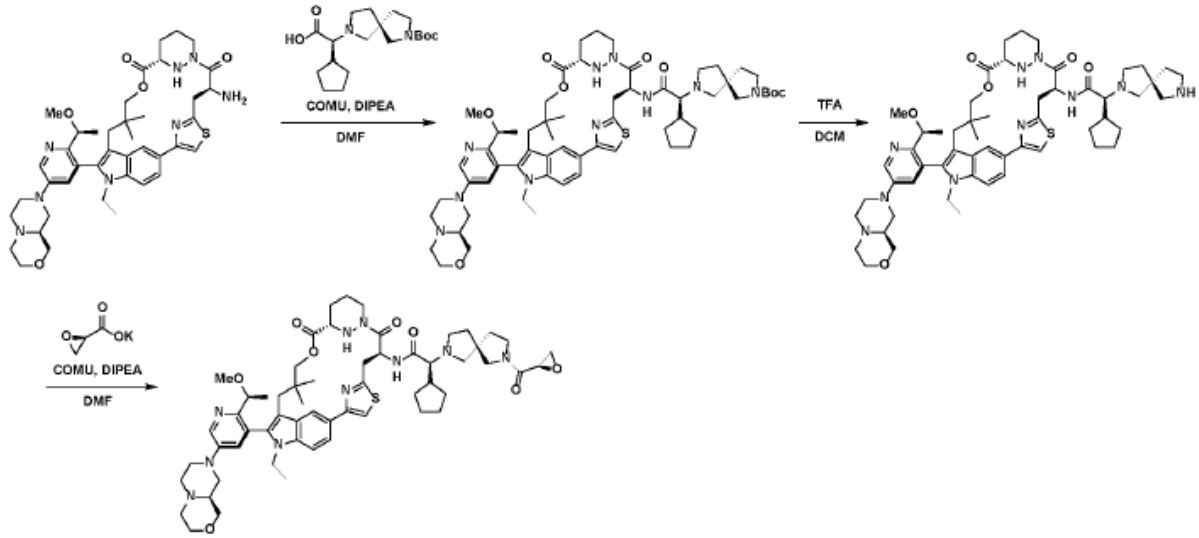
A una solución agitada de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (445 mg, 0,429 mmol), DIPEA (2215,52 mg, 17,160 mmol) y litio (2R,3R)-3-ciclopropil-1-[(R)-2-metilpropano-2-sulfinil]aziridina-2-carboxilato (152,51 mg, 0,643 mmol) en DMF (4 mL) se añadió COMU (220,24 mg, 0,515 mmol) en DMF(1 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con H_2O a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (410 mg, 69 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{65}H_{91}N_{11}O_8S_2$: 1218,66; se encontró 1218,9

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-cicIopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)acetamida

A una solución agitada de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-1-((R)-terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)acetamida (600 mg, 0,492 mmol) en THF (6 mL) se añadió Et_3SiH (572,50 mg, 4,920 mmol) y HI (629,78 mg, 4,920 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a 0 °C. La reacción se detuvo con DIPEA (600 mg) en EtOAc (100 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4

anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % De MeOH/DCM) para proporcionar el producto (200 mg, 36 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{61}H_{83}N_{11}O_7S$: 1114,63; se encontró 1113,0

Ejemplo 37: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-oxirano-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una mezcla agitada de ácido (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona (229 mg, 0,297 mmol) y DIPEA (1,54 g, 11,880 mmol) en DMF (3 mL) se añadió (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (314,08 mg, 0,891 mmol) y COMU (254,41 mg, 0,594 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (1 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (158 mg, 48 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para

$C_{60}H_{84}N_{10}O_8S$: 1105,6; se encontró 1106,0

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

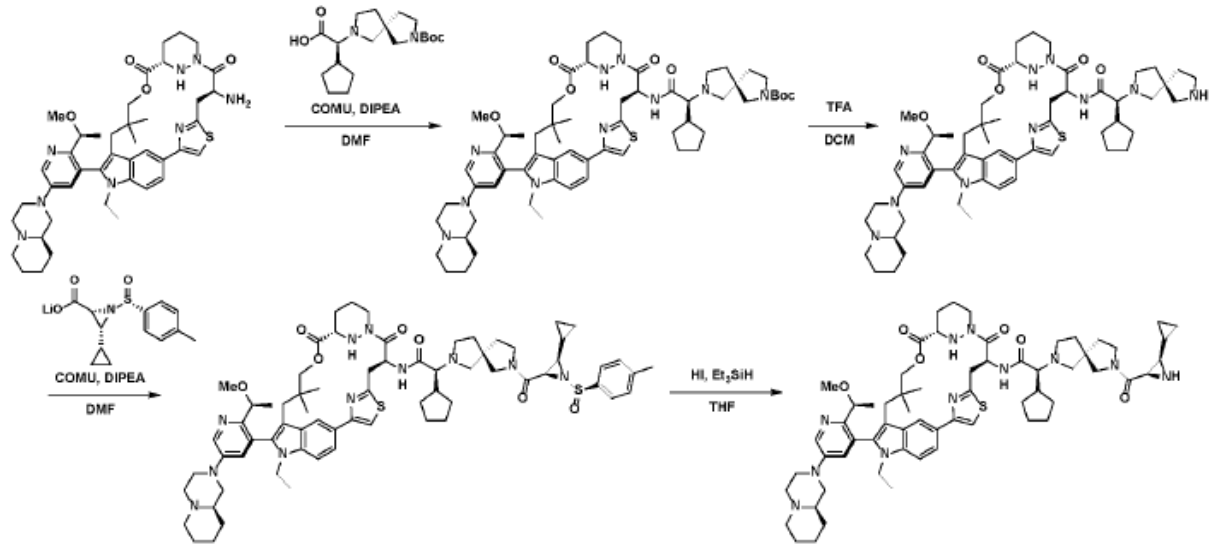
Una mezcla de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato (158 mg, 0,143 mmol) y TFA (0,8 mL, 8,161 mmol) en DCM (1,6 mL) se agitó durante 1 h a 0 °C en atmósfera de aragón. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y se diluyó con EtOAc (100 mL). La mezcla se neutralizó a pH 7 con $NaHCO_3$ acuoso sat., las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 Ml), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (158 mg, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{55}H_{76}N_{10}O_6S$: 1005,57; se encontró 1005,8

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-2-((S)-7-((R)-oxirano-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución agitada de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (146 mg, 0,145 mmol) y DIPEA (750,77 mg, 5,800 mmol) en DMF (2 mL) se añadió (2R)-oxirano-2-carboxilato de potasio (54,96 mg, 0,435 mmol) y COMU (124,39 mg, 0,290 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla de reacción final se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (50 mL). La mezcla resultante se lavó con salmuera (3 x 50 mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 38-54 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (31,7 mg, 20 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}H_{78}N_{10}O_8S$: 1075,58; se encontró 1076,1

Ejemplo 38: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazina-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclounde cafano-4-

il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución agitada de (6^{3}S,4S,Z)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-5,7-diona (720 mg, 0,936 mmol), DIPEA (4840,19 mg, 37,440 mmol) y ácido (S)-[(5S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il](ciclopentil)acético (429,01 mg, 1,217 mmol) en DMF (8 mL) se añadió COMU (441,07 mg, 1,030 mmol) en DMF (0,5 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó mediante la adición de H_2O a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (620 mg, 60 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{61}H_{86}N_{10}O_7S$: 1103,65; se encontró:1103,9

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazasespiro[4,4]nonano-2-carboxilato (620

mg) en DCM (6 mL) se añadió TFA (2 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat., la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 × 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (500 mg, bruto), que se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}H_{78}N_{10}O_5S$: 1003,60; se encontró 1003,8

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida

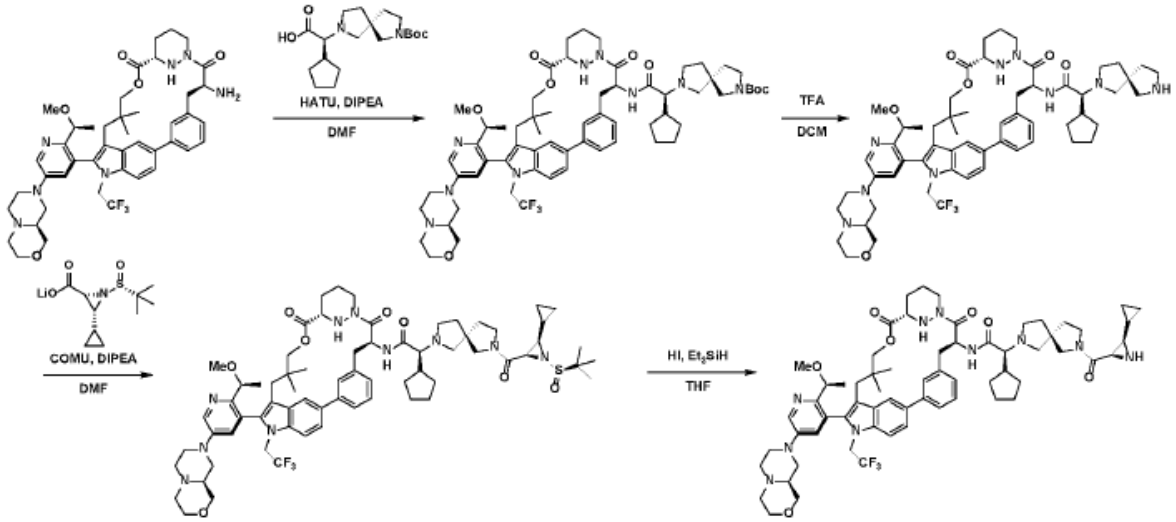
A una solución agitada de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (430 mg, 0,429 mmol), DIPEA (2215,52 mg, 17,160 mmol) y litio (2R,3R)-3-ciclopropil-1-(R)-2-metilpropano-2-sulfinil]aziridina-2-carboxilato (152,51 mg, 0,643 mmol) en DMF (4 mL) se añadió COMU (220,24 mg, 0,515 mmol) en DMF (1 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con H_2O a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc, las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (400 mg, 69 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{66}H_{93}N_{11}O_7S_2$: 1216,68; se encontró:1217,0

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida

A una solución agitada de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S,Z)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida (480 mg, 0,395 mmol) en THF (5 mL) se añadió Et_3SiH (458,74 mg, 3,950 mmol) y HI (504,64 mg, 3,950 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a 0 °C. La reacción se inactivó con DIPEA (500 mg) en EtOAc (100 mL) a 0 °C y extrajo con EtOAc (200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (60 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la

filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (123 mg, 28 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{62}H_{85}N_{11}O_6S$: 1112,65; se encontró 1113,0

Ejemplo 39: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida**



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución agitada de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-5,7-diona (380 mg, 0,465 mmol), DIPEA (2398 mg, 18,595 mmol) y ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (253,81 mg, 0,721 mmol) en DMF (5 mL) se añadió HATU (229,64 mg, 0,605 mmol) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a temperatura ambiente y luego se diluyó con H_2O. La mezcla resultante se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto (560 mg, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{63}H_{84}F_3N_9O_8$: 1152,65; se encontró 1152,4

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-(((6^{3}S,4S)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-11-(2,2,2-trifluoroetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (680 mg, 0,590 mmol) en DCM (14 mL) se añadió TFA (3,5 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. El residuo se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat., la mezcla resultante se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, se concentró el filtrado a presión reducida para proporcionar el producto (620 mg, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}H_{76}F_3N_9O_8$: 1052,59; se encontró 1052,8

Paso 3: Síntesis de terc-butilo ((1S,2R,3R)-2-((5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carbonil)-3-ciclopropiloaziridina-1-ium-1-il)-I3-sulfanolato

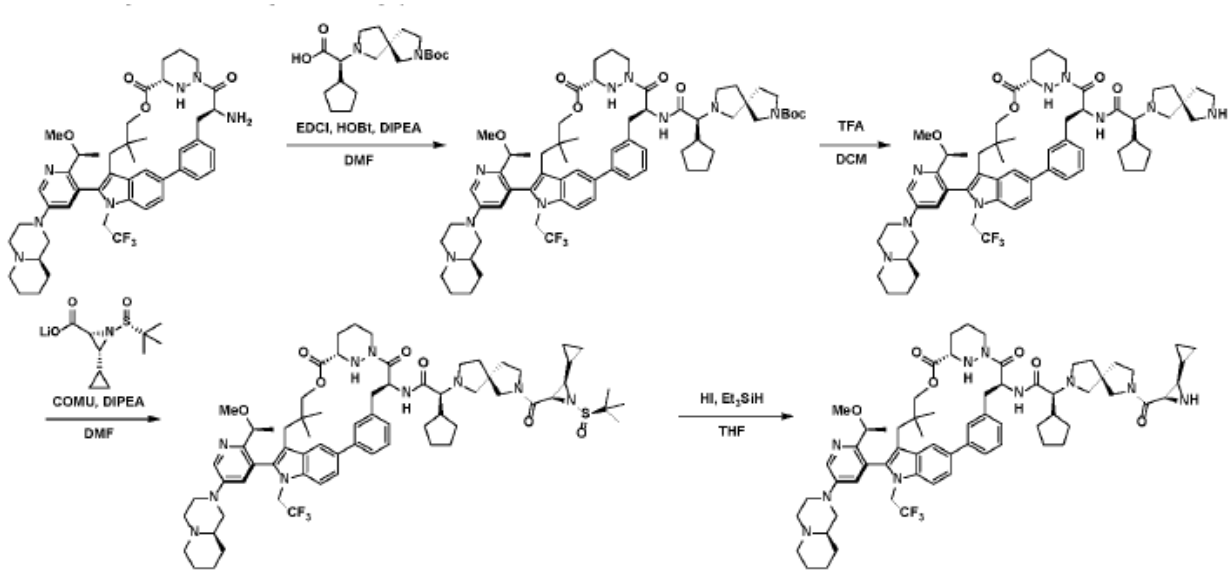
A una solución agitada de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-11-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (500 mg, 0,475 mmol), DIPEA (2456,40 mg, 19,00 mmol) y litio (2R,3R)-1-((R)-terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (146,54 mg, 0,617 mmol) en DMF (5 mL) se añadió COMU (244,19 mg, 0,570 mmol) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se diluyó con H_2O y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (6 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (400 mg, 66 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{68}H_{92}F_3N_{10}O_8S$: 1266,69; se encontró 1265,9

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-12-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida

A una solución agitada de terc-butilo ((1S,2R,3R)-2-((5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-

(((6^{3}S,4S)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carbonil)-3-ciclopropiloaziridina-1-ium-1-il)-l3-sulfanolato (460 mg, 0,364 mmol) en THF (6 mL) se añadió Et_3SiH (422 mg, 3,640 mmol) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de argón. A la mezcla anterior se añadió HI (278 mg, 2,184 mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 30 min más. La reacción se detuvo mediante la adición de EtOAc (20 ml que contenían 470 mg de DIPEA) a 0 °C. La mezcla resultante se diluyó con H_2O frío y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en $MgSO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de DCM/MeOH con 0,1% de Et_3N) para proporcionar (149,5 mg, 35 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{83}F_3N_{10}O_7$: 1161,65; se encontró 1162,1

Ejemplo 40: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-12-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato

A una mezcla agitada de (6^{3}S,4S)-4-amino-12-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona

(800 mg, 0,980 mmol) y ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (518,36 mg, 1,470 mmol) en DCM (16 mL) se añadió DIPEA (3,02 mL, 17,326 mmol), HOBt (1324,77 mg, 9,800 mmol) y EDCI•HCl (913,20 mg, 5,880 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h. La mezcla se diluyó con DCM (30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (6 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (600 mg, 47 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{86}F_3N_9O_7$: 1150,67; se encontró 1151,1

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclodecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una mezcla agitada de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclodecafano-4-il)amino)-2-oxoetilo)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (600 mg, 0,522 mmol) en DCM (6 mL) se añadió y TFA (6 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en DCM (5 mL). El residuo se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 30 mL), se lavó con salmuera (30 mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (580 mg, 95% de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{59}H_{78}F_3N_9O_5$: 1050,62; se encontró 1051,0

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclodecafano-4-il)acetamida

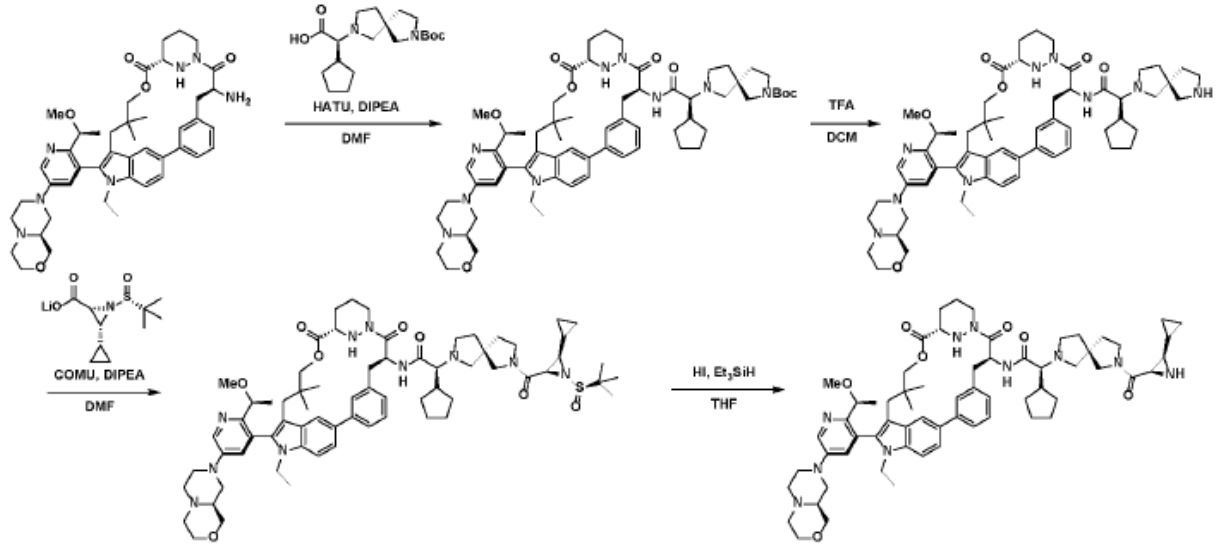
A una mezcla agitada de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclodecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (580 mg, 0,552 mmol) y litio (2R,3R)-1-((R)-terc-butilsulfinilo)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (366,82 mg, 1,546 mmol) en DMF (8 mL) se añadió DIPEA (1 mL, 5,741 mmol) y COMU (307 mg) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h. La mezcla se diluyó con H_2O (30 mL). La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión

reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (540 mg, 69 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{69}H_{93}F_3N_{10}O_7S$: 1263,70; se encontró 1264,5

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-12-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)acetamida

A una mezcla agitada de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-ilI)-2-ciclopentiI-N-((6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenocicloundecafano-4-iI)acetamida (540 mg, 0,427 mmol) y Et_3SiH (745,35 mg, 6,405 mmol) en THF (12 mL) se añadió HI (546,63 mg, 4,270 mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 30 min. La solución de reacción se añadió a una solución fría de DIPEA (9 g) en EtOAc (100 ml). La mezcla resultante se lavó con salmuera (7 x 20 mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida a temperatura ambiente. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (140 mg, 27 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{65}H_{85}F_3N_{10}O_6$: 1159,67; se encontró 1160,0

Ejemplo 41: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclooundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una mezcla agitada de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclooundecafano-5,7-diona (200 mg, 0,262 mmol) y DIPEA (1361,14 mg, 10,54 mmol) en MeCN (3 mL) se añadió ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (157,08 mg, 0,446 mmol) y HATU (149,31 mg, 0,393 mmol) en porciones a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h, la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 × 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 40 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (260 mg, 90 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{63}H_{87}N_9O_8$: 1098,68; se encontró 1098,9

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclooundecafano-4-il)-2-((S)-2,7- diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una mezcla de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclooundecafano-4-il)amino)-2-oxoetilo)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (250 mg, 0,246 mmol) en DCM (2,6 mL) se añadió TFA (1,3 mL) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h, la mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 40 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Luego de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto (180 mg), que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}H_{79}N_9O_6$: 998,62; se encontró 998,7

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclooundecafano-4-il)acetamida

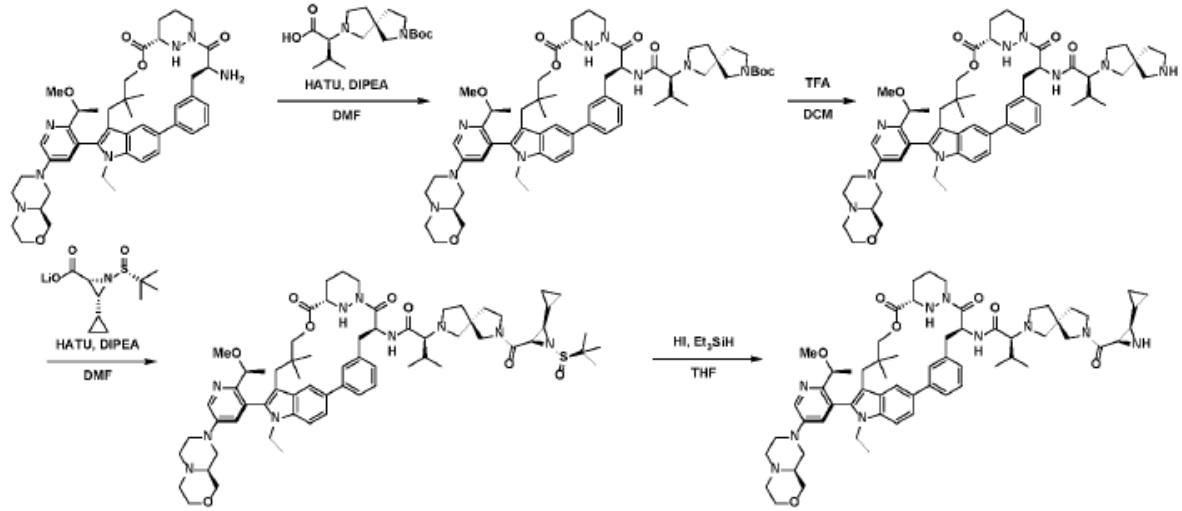
A una mezcla agitada de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-

bencenacicloundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (160mg, 0,160 mmol) y DIPEA (833,51 mg, 6,438 mmol) en MeCN (2 mL) se añadió litio (2R,3R)-1-((R)-terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (52,3 mg, 0,220 mmol) y COMU (102,96 mg, 0,240 mmol) en porciones a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h, la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 × 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (100 mg, 51 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{68}H_{94}N_{10}O_8S$: 1211,71; se encontró 1211,3

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)acetamida

En un vial de 40 mL se añadió (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfonil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)acetamida (75 mg, 0,062 mmol) y THF (2 mL) a 0 °C. Luego se añadió gota a gota trietilsilano (71,98 mg, 0,620 mmol) y HI (79,18 mg, 0,620 mmol). Después de 30 min, la mezcla se añadió a la mezcla de DIPEA (80,5 mg, 0,620 mmol) y EtOAc (4 mL) a 0 °C. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (3 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (3,2 mg, 5 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z,* calculado para $C_{64}H_{86}N_{10}O_7$: 1107,68; se encontró 1107,9

Ejemplo 42: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida



Paso 1: Síntesis de (6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona

A una solución agitada de terc-butilo ((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)carbamato (700 mg, 0,810 mmol) en DCM (7 mL) se añadió TFA (3 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (600 mg, 96% de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{44}H_{57}N_7O_5$: 764,45; se encontró 764,6

Paso 2: Síntesis de terc butilo (5S)-7-((2S)-1-(((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución agitada de (6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-5,7-diona (600 mg, 0,785 mmol) y ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-metilbutanoico (384,55 mg, 1,177 mmol) en DMF (4 mL) se añadió DIPEA (4060,08 mg, 31,400 mmol) y HATU (447,92 mg, 1,177 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y luego se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó

mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (600 mg, 71 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{61}H_{85}N_9O_8$: 1072,66; se encontró 1072,9

Paso 3: Síntesis de (2S) N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)-3-metil-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida

A una solución agitada de terc-butilo (5S)-7-((2S)-1-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (600 mg, 0,559 mmol) en DCM (6 mL) se añadió TFA (3 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 × 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (450 mg, 82% de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{56}H_{77}N_9O_6$: 972,61; se encontró 972,8

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-1-((R)-terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida

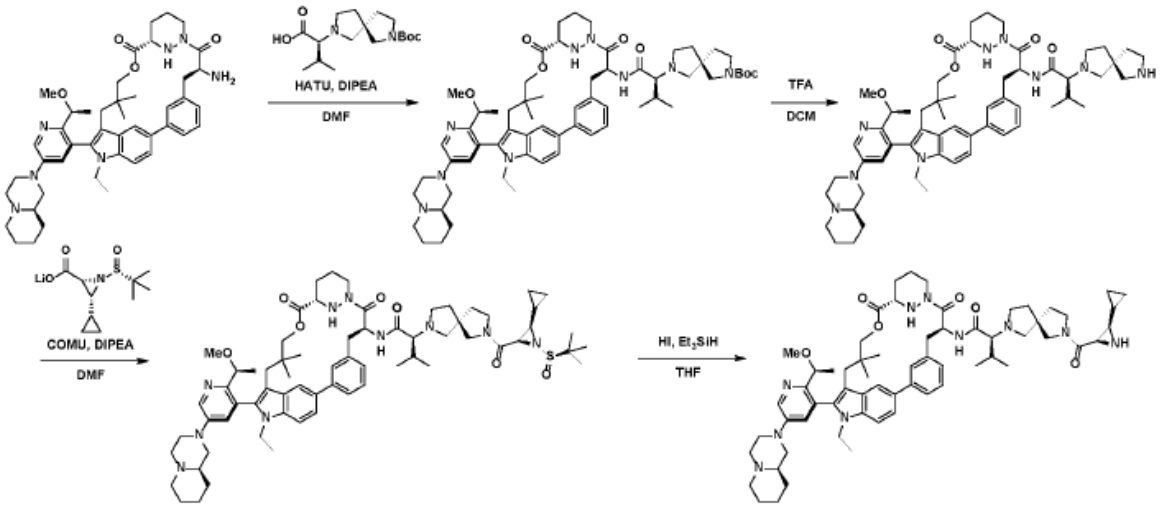
A una solución agitada de (2S)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounde cafano-4-il)-3-metil-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)butanamida (439 mg, 0,452 mmol) y litio (2R,3R)-3-ciclopropil-1-[(R)-2-metilpropano-2-sulfinil]aziridina-2-carboxilato (156,66 mg, 0,678 mmol) en DMF (4 mL) se añadió DIPEA (2334,19 mg, 18,080 mmol) y HATU (257,52 mg, 0,678 mmol) en porciones a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (300 mg, 56 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{66}H_{92}N_{10}O_8S$: 1185,69; se encontró 1186,0

Paso 5: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-

8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida

A una solución agitada de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-1-((R)-terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-1-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-3-metilbutanamida (425 mg, 0,358 mmol) en THF se añadió Et_3SiH (416,82 mg, 3,580 mmol) y HI (458,53 mg, 3,580 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 20 min a 0 °C. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (200 mL) y DIPEA (1,85 g, 14,32 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se lavó con salmuera (3 x 300 mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (100 mg, 25 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{62}H_{84}N_{10}O_7$: 1081,66; se encontró 1082,0

Ejemplo 43: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^3S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-((((6^3S,4S)-1^1-etilo-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencecicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato

A una mezcla agitada de (6^3S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietilo)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-5,7-diona (300 mg, 0,394

mmol) y DIPEA (2035 mg, 15,760 mmol) en MeCN (5 mL) se añadió ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (277,53 mg, 0,788 mmol) y HATU (224,54 mg) en porciones a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (270 mg, 62 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{89}N_9O_7$: 1096,70; se encontró 1096,4

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una mezcla agitada de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etilo-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato (270 mg, 0,246 mmol) en DCM (3 mL) se añadió TFA (1,5 mL) gota a gota a 0 °C. Después de 1 h, la mezcla se basificó hasta pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (180 mg, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{59}H_{81}N_9O_5$: 996,64; se encontró 996,6

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida

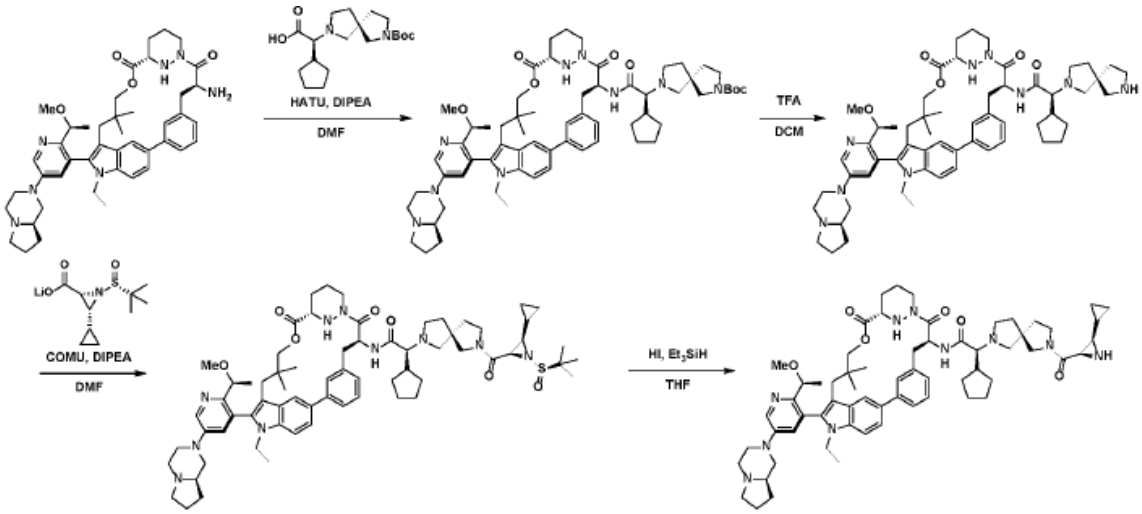
A una mezcla agitada de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (180 mg, 0,181 mmol) y DIPEA (937,69 mg, 7,269 mmol) en MeCN (2 mL) se añadió litio (2R,3R)-1-((R)-terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (47,5 mg, 0,200 mmol) y COMU (64,3 mg, 0,150 mmol) en porciones a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h, la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 × 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (100 mg, 45 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{69}H_{96}N_{10}O_7S$: 1209,73; se encontró 1210,0

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-

2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida

En un vial de 40 mL se añadió (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida (75 mg, 0,062 mmol) y THF (2 mL) a 0 °C. Luego se añadió gota a gota trietilsilano (72,09 mg, 0,620 mmol) y HI (79,31 mg, 0,620 mmol). Después de 30 min, se añadió la solución anterior a una mezcla de DIPEA (225 mg, 0,620 mmol) y EtOAc (5 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (4 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (1,6 mg, 3 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{65}H_{88}N_{10}O_6$: 1105,70; se encontró 1106,1

Ejemplo 44: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etilo-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetilo-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se añadió (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-

$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclounDecafano-5,7-diona (226 mg, 0,642 mmol), DMF (8 mL), DIPEA (345 mg, 2,675 mmol), HATU (610 mg, 1,605 mmol), a 0 °C. La mezcla resultante se diluyó con H_2O (100 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto (400 mg, 69 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{63}H_{87}N_9O_7$: 1082,68; se encontró 1082,5

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

En un vial de 40 mL se añadió terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (400 mg, 0,370 mmol) y DCM (8 mL), TFA (4 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente y después se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (300 mg, 82 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}N_{79}N_9O_5$: 982,63; se encontró 982,8

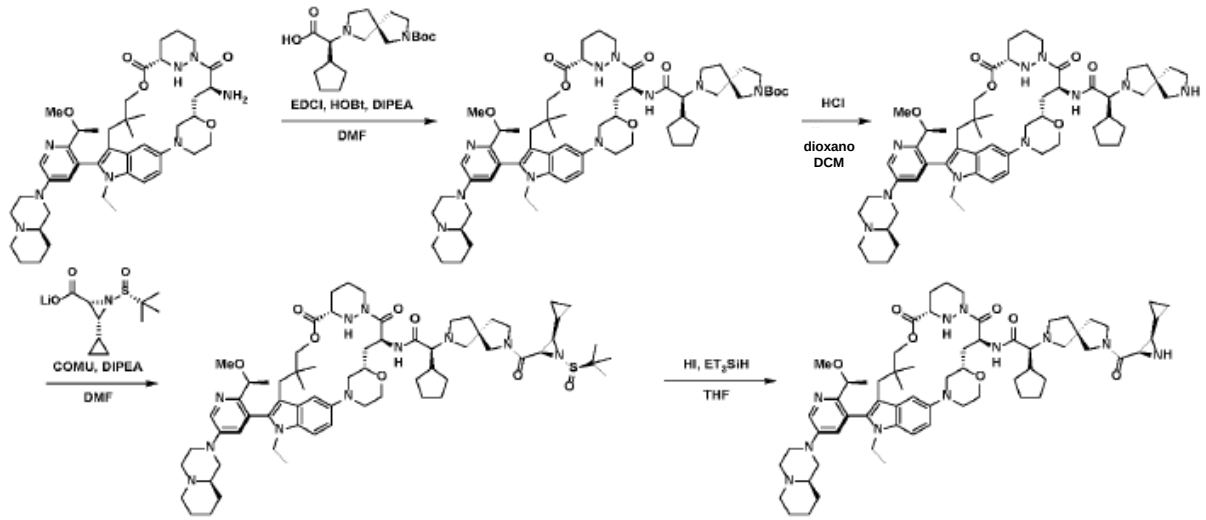
Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)acetamida

En un matraz de fondo redondo de 50 mL se añadió (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (300 mg, 0,305 mmol) y ácido (2R,3R)-3-ciclopropil-1-[(R)-2-metilpropano-2-sulfinil]aziridina-2-carboxílico (141 mg, 0,610 mmol), COMU (156,85 mg, 0,366 mmol), DIPEA (394 mg, 3,050 mmol), y DMF (6 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 0 °C y luego se diluyó con H_2O (100 ml). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 10 %) para proporcionar el producto (200 mg, 54 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{68}H_{94}N_{10}O_7S$: 1195,71; se encontró 1195,6

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo -6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida

En un vial de 40 mL se añadió (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida (200 mg, 0,167 mmol), THF (4 mL), y Et_3SiH (155,47 mg, 1,336 mmol) a 0 °C. A la mezcla anterior se añadió HI (171,03 mg, 1,336 mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 20 min. La mezcla resultante se diluyó con DIPEA (1 ml) en EtOAc (40 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se lavó con salmuera (2 x 40 mL). La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (7 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (20 mg, 10 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{86}N_{10}O_6$: 1091,68; se encontró 1092,1

Ejemplo 45: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazina-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución agitada de (2^{2}S,6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-

oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona (800 mg, 1,038 mmol) y ácido (S)-[(5S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il](ciclopentil)acético (438,87 mg, 1,246 mmol) en DMF (10 mL) se añadió DIPEA (2,71 mL, 15,57 mmol) y EDCI (1610,76 mg, 10,38 mmol) en porciones a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se inactivó mediante la adición de H_2O (100 mL) a temperatura ambiente y luego extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (830 mg, 72 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{62}H_{92}N_{10}O_8$: 1105,72; se encontró 1106,0

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)- 2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución agitada de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato (800 mg, 0,724 mmol) en DCM (5 mL) se añadió HCl (4M en dioxano, 5 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se concentró a presión reducida para proporcionar (830 mg, bruto) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{57}H_{84}N_{10}O_6$: 1005,67; se encontró 1005,9

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida

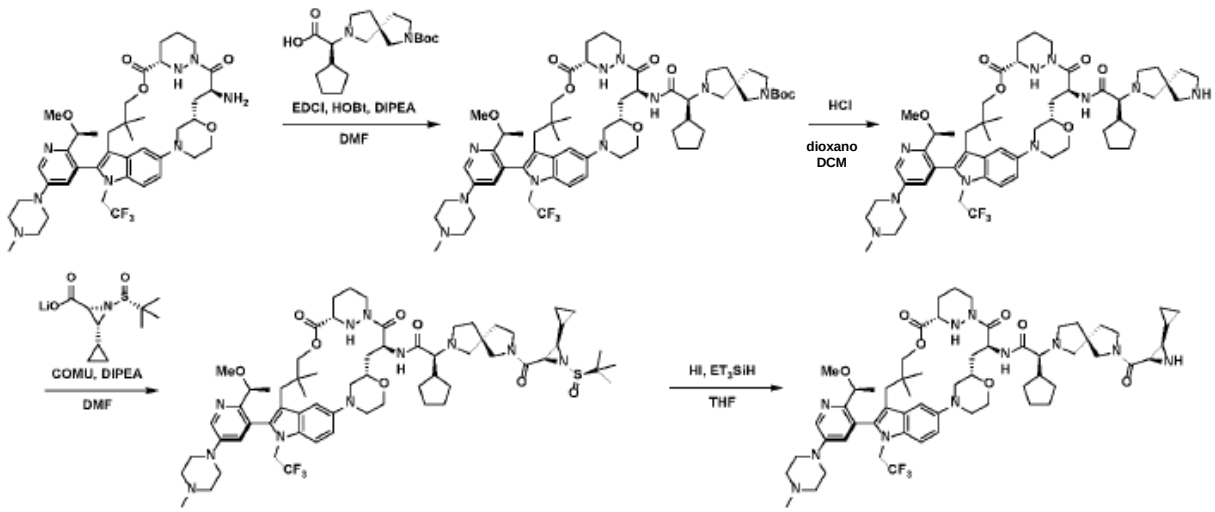
A una solución agitada de (2S)-2-ciclopentil-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)- 2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (830 mg, 0,826 mmol) y litio (2R,3R)-3-ciclopropil-1-[(R)-2-metilpropano-2-sulfinil]aziridina-2-carboxilato (293,79 mg, 1,239 mmol) en DMF (10 mL) se añadió DIPEA (4267,99 mg, 33,04 mmol) y COMU (459,67 mg, 1,074 mmol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con H_2O (10 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión

reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (7 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (760 mg, 75 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{67}H_{99}N_{11}O_8S$: 1218,75; se encontró 1219,0

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida

A una solución agitada de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida (600 mg, 0,492 mmol) en THF (10 mL) se añadió trietilsilano (572,49 mg, 4,92 mmol) y HI (629,77 mg, 4,92 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 30 min. La reacción se inactivó mediante la adición de una mezcla de EtOAc (200 mL) y DIPEA (3,5 mL) a 0 °C. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (7 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (155 mg, 28 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{63}H_{91}N_{11}O_7$: 1114,72; se encontró 1115,0

Ejemplo 46: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-

$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución agitada de (2^2S,6^3S,4S)-4-amino-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-5,7-diona (200 mg, 0,255 mmol) y ácido (S)-[(5S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il](ciclopentil)acético (134,72 mg, 0,383 mmol) en DCM (3 mL) se añadió DIPEA (1,78 mL, 10,219 mmol), HOBt (172,15 mg, 1,275 mmol) y EDCI (488,46 mg, 2,550 mmol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y luego se diluyó con EtOAc (100 mL). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (250 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (130 mg, 45 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{59}H_{85}F_3N_{10}O_8$: 1119,66; se encontró 1120,0

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((2^2S,6^3S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietilo)-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una mezcla agitada de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((2^2S,6^3S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (130 mg, 0,128 mmol) en DCM (1 mL) se añadió HCl (4 M en dioxano) (1 mL) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. Esto resultó en el producto (130 mg, bruto) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{54}H_{77}F_3N_{10}O_6$: 1019,61; se encontró 1019,8

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-1-((R)-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((2^2S,6^3S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida

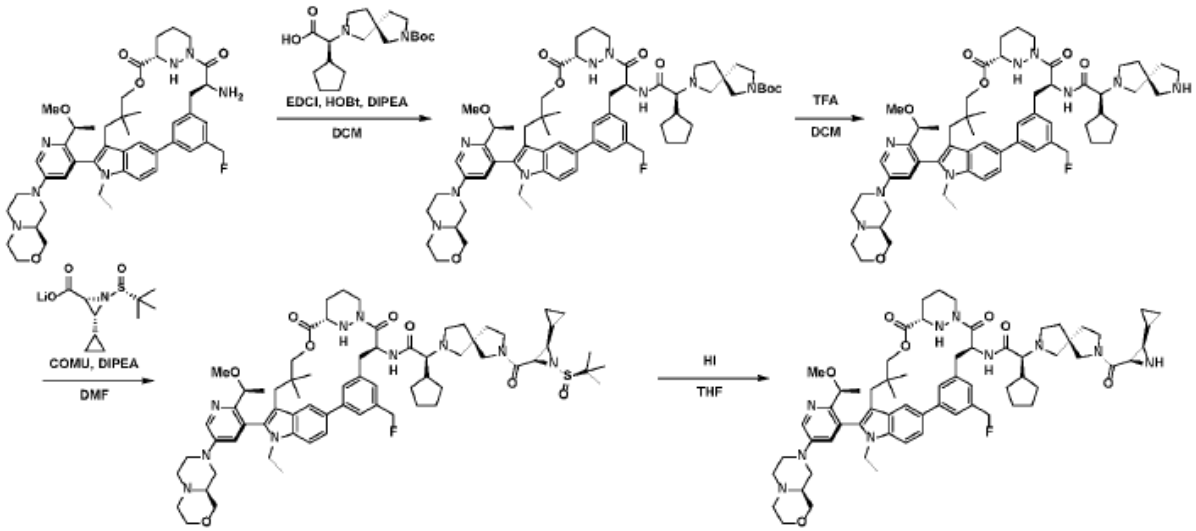
A una solución agitada de (2S)-2-ciclopentil-N-((2^2S,6^3S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietilo)-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (140 mg, 0,137 mmol) y litio (2R,3R)-3-ciclopropil-1-[(R)-2-metilpropano-2-sulfinil]aziridina-2-carboxilato (65,17 mg, 0,274 mmol) en DMF (2 mL) se

añadió DIPEA (0,96 mL, 5,480 mmol) y COMU (76,48 mg, 0,178 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con H_2O a temperatura ambiente. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (130 mg, 76 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{92}F_3N_{11}O_8$: 1232,69; se encontró 1232,9

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietilo)-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida

A una mezcla agitada de (2S)-2-((S)-7-((2R,3R)-1-((R)-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((2^{2}S,6^{3}S,4S)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1^1-(2,2,2-trifluoroetil)-6^1,6^2,6^1,6^2,6^3,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinaciclоundecafano-4-il)acetamida (116 mg, 0,094 mmol) en THF (3 mL) se añadió trietilsilano (109,43 mg, 0,940 mmol) y HI (120,38 mg, 0,940 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 40 min a 0 °C. La reacción se inactivó mediante la adición de EtOAc (200 mL) y DIPEA (0,64 mL) a 0 °C. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (45 mg, 42 % de rendimiento) en forma de un sólido. LMCS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{60}H_{84}F_3N_{11}O_7$: 1128,66; se encontró 1129,0

Ejemplo 47: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencecicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-5,7-diona (250 mg, 0,314 mmol), DIPEA (1217 mg, 9,420 mmol) y ácido (S)-[(5S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il](ciclopentil)acético (166 mg, 0,471 mmol) en DCM (50 mL) se añadió HOBt (424 mg, 3,140 mmol) y EDCI (361 mg, 1,884 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h. La mezcla resultante se lavó con salmuera (5 x 20 mL) y se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 0-100 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %). Para proporcionar el producto (275 mg, 77 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{88}FN_9O_8$: 1130,68; se encontró 1130,2

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (275 mg, 0,243 mmol) en DCM (3 mL) se añadió TFA (1,5 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h. La mezcla se concentró a presión reducida, se basificó a pH 7 con $NaHCO_3$ acuoso

sat. La mezcla resultante se extrajo con 10 % de DCM/MeOH (4 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (230 mg, 92% de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{59}H_{80}FN_9O_6$: 1030,63; se encontró 1030,2

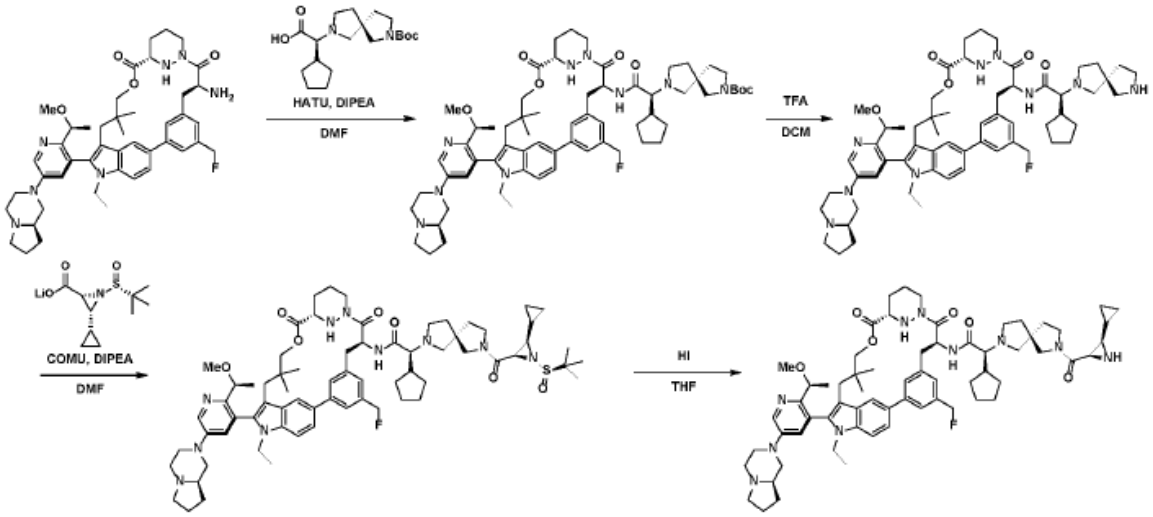
Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (250 mg, 0,243 mmol), DIPEA (313 mg, 2,430 mmol) y litio (2R,3R)-3-ciclopropil-1-[(R)-2-metilpropano-2-sulfinil]aziridina-2-carboxilato (173 mg, 0,729 mmol) en DMF (3 mL) se añadió COMU (125 mg, 0,292 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 0-100 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (210 mg, 69 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{69}H_{95}FN_{10}O_8S$: 1243,71; se encontró 1243,3

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida (600 mg, 0,482 mmol) en THF (90 mL) se añadió HI (370 mg, 2,892 mmol) en THF (3 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se añadió a una solución de DIPEA (9 g) en EtOAc frío (100 mL). La mezcla resultante se lavó con salmuera (7 x 20 mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida a temperatura ambiente. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (121,9 mg, 20 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{65}H_{87}FN_{10}O_7$: 1139,68; se encontró 1140,1

Ejemplo 48: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^6-(fluorometil)-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-5,7-diona (600 mg, 0,769 mmol), DIPEA (994,18 mg, 7,690 mmol) y ácido (S)-[(5S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il](ciclopentil)acético (406,70 mg, 1,153 mmol) en DMF (7 mL) se añadió HATU (438,73 mg, 1,153 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 0-100 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (465 mg 54 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{88}FN_9O_7$: 1114,69; se encontró 1114,5

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclооundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (460

mg, 0,413 mmol) en DCM (6 mL) se añadió TFA (3 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se basificó a pH 7-8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (340 mg, bruto) como un sólido. El producto bruto se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{59}H_{80}FN_9O_5$: 1014,63; se encontró 1014,6

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida

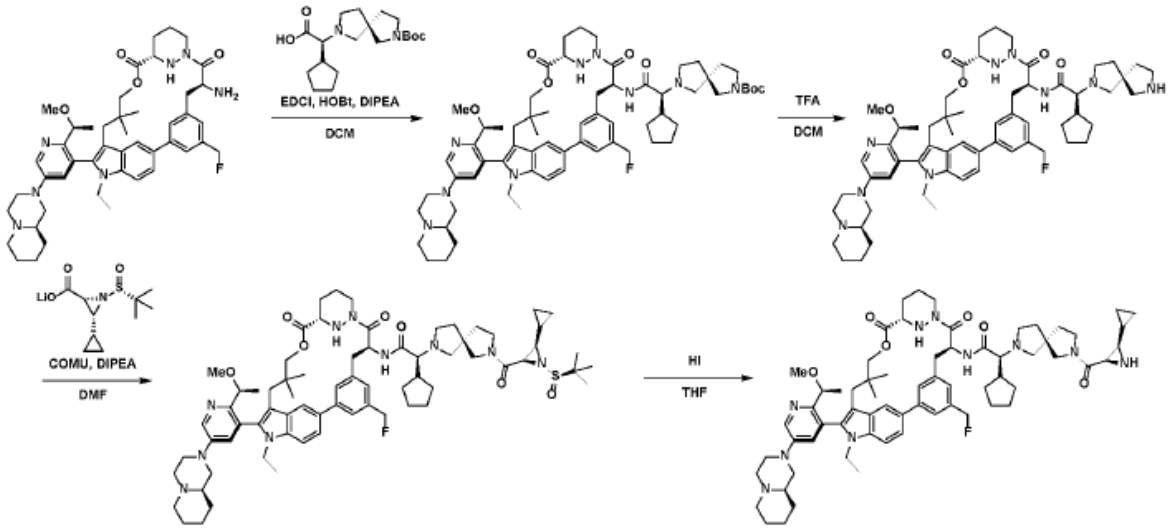
A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (500 mg, 0,486 mmol), DIPEA (628,39 mg, 4,860 mmol) y litio (2R,3R)-3-ciclopropil-1-[(R)-2-metilpropano-2-sulfinil]aziridina-2-carboxilato (346,04 mg, 1,458 mmol) en DMF se añadió COMU (249,72 mg, 0,583 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 0-100 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (480 mg 80 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado $C_{69}H_{95}FN_{10}O_7S$: 1227,72; se encontró 1227,7

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclundecafano-4-il)acetamida (310 mg, 0,253 mmol) en THF (45 mL) se añadió una solución de HI (193,80 mg, 1,518 mmol) en THF (0,5 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 20 min a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La reacción se inactivó mediante la adición de una solución de DIPEA (300 mg) en EtOAc (50 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 mL),

se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (94,9 mg, 32 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{65}H_{87}FN_{10}O_6$: 1123,69; se encontró 1124,1

Ejemplo 49: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S}-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencecicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^6-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-5,7-diona (500 mg, 0,630 mmol), DIPEA (2,44 g, 18,90 mmol) y ácido (S)-[(5S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il](ciclopentil)acético (266,34 mg, 0,756 mmol) en DCM (50 mL) se añadió HOBt (255,26 mg, 1,890 mmol) y EDCI (1,81 g, 9,450 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 0-100 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (523 mg 83 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{65}H_{90}FN_9O_7$: 1128,70; se encontró 1128,6.

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-

$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (187 mg, 0,166 mmol) en DCM (2 mL) se añadió TFA (1 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se basificó a pH 7-8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El producto bruto (154 mg, bruto) en forma de un sólido se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{60}H_{82}FN_9O_5$: 1028,65; se encontró 1028,7

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclundecafano-4-il)acetamida

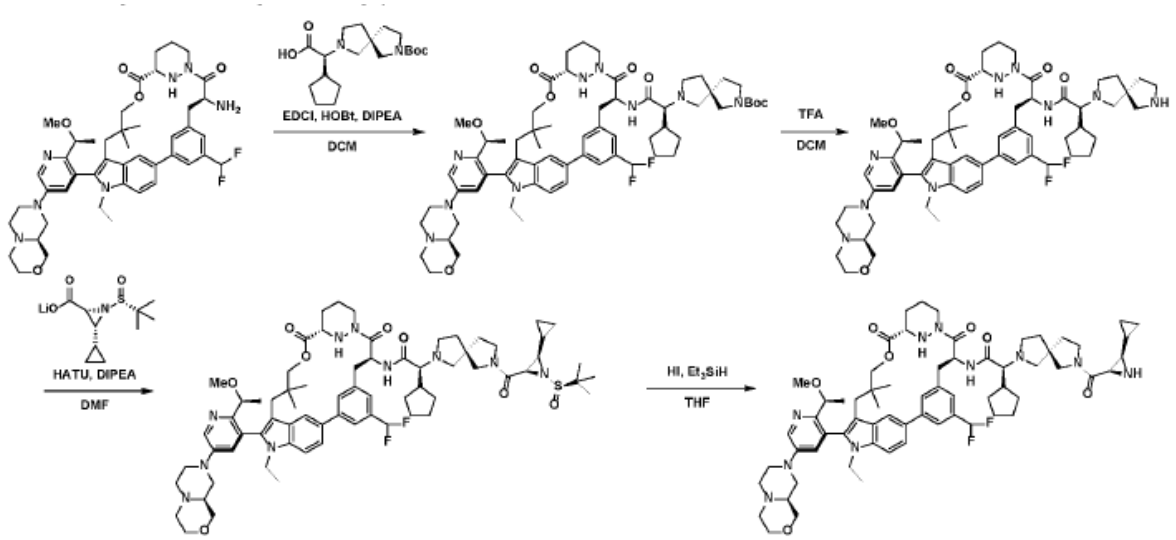
A una solución de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenociclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (178 mg, 0,173 mmol), DIPEA (223,71 mg, 1,730 mmol) y litio (2R,3R)-3-ciclopropil-1-[(R)-2-metilpropano-2-sulfinil]aziridina-2-carboxilato (123,19 mg, 0,519 mmol) en DMF (3 mL) se añadió COMU (88,90 mg, 0,208 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno para proporcionar (140 mg, 65 %) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + Na]; calculado para $C_{70}H_{97}FN_{10}O_7S$: 1263,71; se encontró 1263,7

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)- 2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-2^5-(fluorometil)-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-$6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6$-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida (420 mg, 0,338 mmol) en THF (45 mL) se añadió HI (607 mg, 2,704 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a 0°C en una atmósfera

de nitrógeno. La reacción se inactivó mediante la adición de DIPEA (300 mg) al EtOAc frío (50 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (125 mg, 31 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{66}H_{89}FN_{10}O_6$: 1137,71; se encontró 1138,1

Ejemplo 50: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)- hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2- ((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencecicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de 50 mL se añadió ((6^{3}S,4S)-4-amino-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-5,7-diona (500 mg, 0,614 mmol), ácido (S)-[(5S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il](ciclopentil)acético (649,53 mg, 1,842 mmol), DIPEA (2,38 g, 18,420 mmol), HOBt (415,00 mg, 3,070 mmol) y EDCI (3,30 g, 17,192 mmol) en DCM (5 mL). La solución resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente, después la solución resultante se diluyó con DCM y se lavó con salmuera (2 x 50 mL). La mezcla se secó en Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante

cromatografía SFC (MeOH/CO_2 al 0-89 %) para proporcionar el producto (501 mg, 71 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{87}F_2N_9O_8$: 1148,67; se encontró 1148,4

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

En un matraz de fondo redondo de 50 mL se añadió terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (700 mg, 0,610 mmol) en DCM (6 mL) y TFA (3 mL) a 0 °C. La solución resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. La mezcla se concentró a presión reducida y se ajustó a pH 8 mediante la adición de $NaHCO_3$ acuoso sat. a 0 °C y se extrajo con 100 mL de (MeOH/DCM al 10 %). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El producto bruto (613 mg, bruto) en forma de un sólido se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{59}H_{79}F_2N_9O_6$: 1048,62; se encontró: 1048,6

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)acetamida

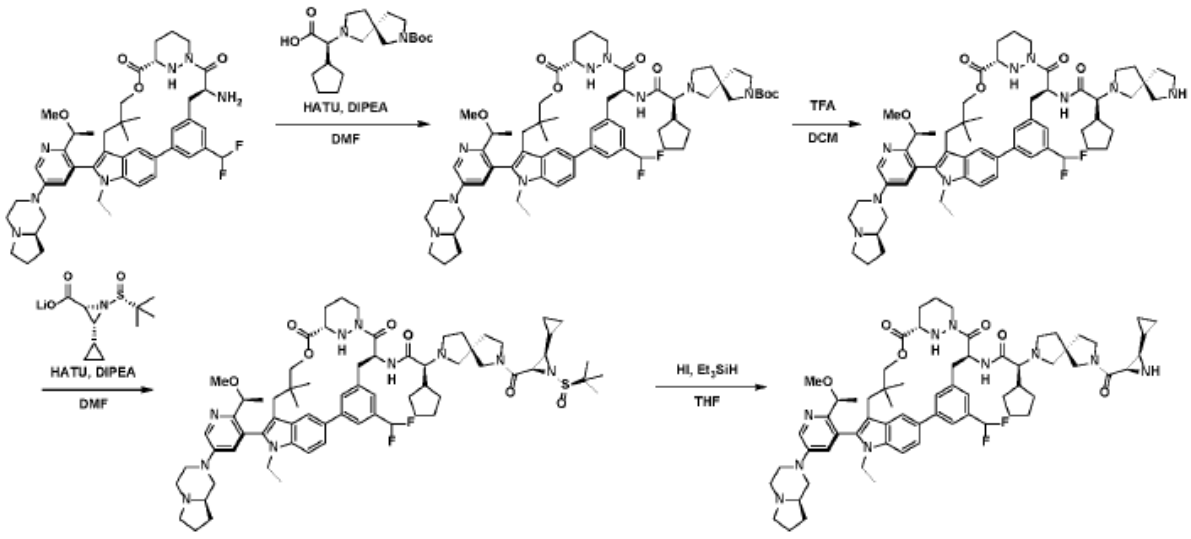
Una mezcla de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (590 mg, 0,563 mmol), litio (2R,3R)-1-((R)-terc-butilisulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (173,57 mg, 0,732 mmol), DIPEA (1,45 g, 11,260 mmol) y HATU (235,39 mg, 0,619 mmol) en DMF (6 ml) se agitó durante 1 h a 0 °C. La mezcla resultante se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 0-100 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (290 mg, 41 % de rendimiento) como sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{69}H_{94}F_2N_{10}O_8S$: 1261,70; se encontró 1261,3

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-

bencenacicloundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)acetamida (290 mg, 0,230 mmol) en THF (5 mL) se añadió Et_3SiH (267,28 mg, 2,30 mmol) y HI (235,22 mg, 1,84 mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 20 min a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La reacción se añadió a EtOAc (100 mL) con DIPEA (600 mg). La mezcla resultante se lavó con salmuera (7 x 20 mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida a temperatura ambiente. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (71,7 mg, 24 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{65}H_{86}F_2N_{10}O_7$: 1157,68; se encontró 1158,1

Ejemplo 51: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencecicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de 50 mL se añadió (6^{3}S,4S)-4-amino-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-

bencenociclоundecafano-5,7-diona (560 mg, 0,702 mmol), ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (296,82 mg, 0,842 mmol), DIPEA (1,36 g, 10,53 mmol), y HATU (293,51 mg, 0,772 mmol) en MeCN (6 mL). La solución resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La solución resultante se diluyó con H_2O (10 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL), la capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 mL). La capa orgánica se secó en Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 18 %) para proporcionar el producto (594 mg, 75 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{87}F_2N_9O_7$: 1132,68; se encontró 1132,3

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

En un matraz de fondo redondo de 50 mL se añadió terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (580 mg, 0,512 mmol) en DCM (6 mL), y TFA (3 mL). La solución resultante se agitó durante 2 h temperatura ambiente. La mezcla se inactivó con la adición de $NaHCO_3$ acuoso sat. (20 mL) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 40 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El producto bruto (509 mg, bruto) en forma de un sólido se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{59}H_{79}F_2N_9O_5$: 1032,63; se encontró 1032,6

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)acetamida

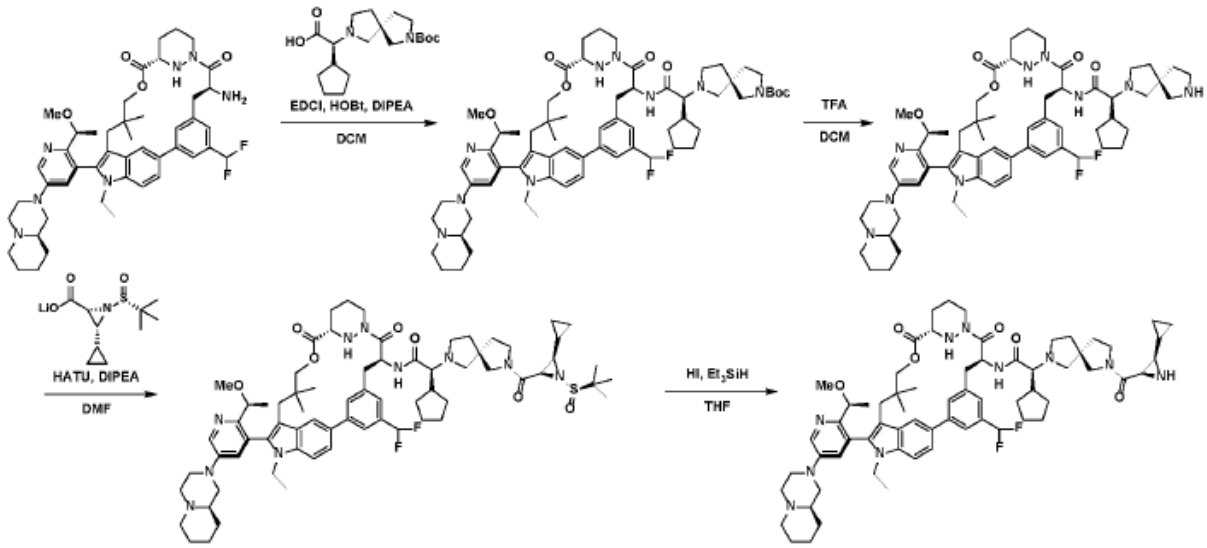
A una mezcla de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclоundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (499 mg, 0,483 mmol), litio (2R,3R)-1-((R)-terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (149,08 mg, 0,628 mmol), DIPEA (937,08 mg, 7,245 mmol) y HATU (202,17 mg, 0,531 mmol) en DMF (6 mL) se agitó durante 1 h a 0 °C en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y luego se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se

concentró a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeCN/H_2O al 0-100 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (406 mg, 67 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{69}H_{94}F_2N_{10}O_7S$: 1245,71; se encontró 1245,8

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^3S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^3S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-5-((R)-hexahidropirrolo[1,2-a]pirazin-2(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)acetamida (406 mg, 0,326 mmol) en THF (5 mL) se añadió Et_3SiH (378,99 mg, 3,260 mmol) y HI (750,45 mg, 5,868 mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 20 min a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se basificó a pH 7 a 8 con DIPEA (0,3 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (140 mg, 38 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{65}H_{86}F_2N_{10}O_6$: 1141,68; se encontró 1142,1

Ejemplo 52: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^3S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octohidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclounDecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etilo-1^2-(2-((S)-1-metoxietilo)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencecicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato

En un matraz de fondo redondo de 50 mL se añadió (6^{3}S,4S)-4-amino-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietilo)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetilo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenocicloundecafano-5,7-diona (598 mg, 0,736 mmol), ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (311,49 mg, 0,883 mmol), DIPEA (2,86 g, 22,080 mmol), HOBt (497,55 mg, 3,680 mmol) y EDCI (3,53 g, 18,400 mmol) en DCM (8 mL). La solución resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La solución resultante se diluyó con H_2O (10 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL), luego se lavó con salmuera (2 x 50 mL). La mezcla se secó en Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 16 %) para proporcionar el producto (568 mg, 67 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{65}H_{89}F_2N_9O_7$: 1146,69; se encontró 1146,5

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenocicloundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

En un matraz de fondo redondo de 50 mL se añadió terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietilo)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridina-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato (560 mg, 0,488 mmol) en DCM (6 mL), y TFA (3 mL). La solución resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se inactivó mediante

la adición de $NaHCO_3$ acuoso sat. (20 mL) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El producto bruto (416 mg, 81 % de rendimiento) en forma de sólido se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{60}H_{81}F_2N_9O_5$: 1046,64; se encontró 1046,6

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-25-(difluorometil)-11-etil-12-(2-((S)-1-metoxietilo)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida

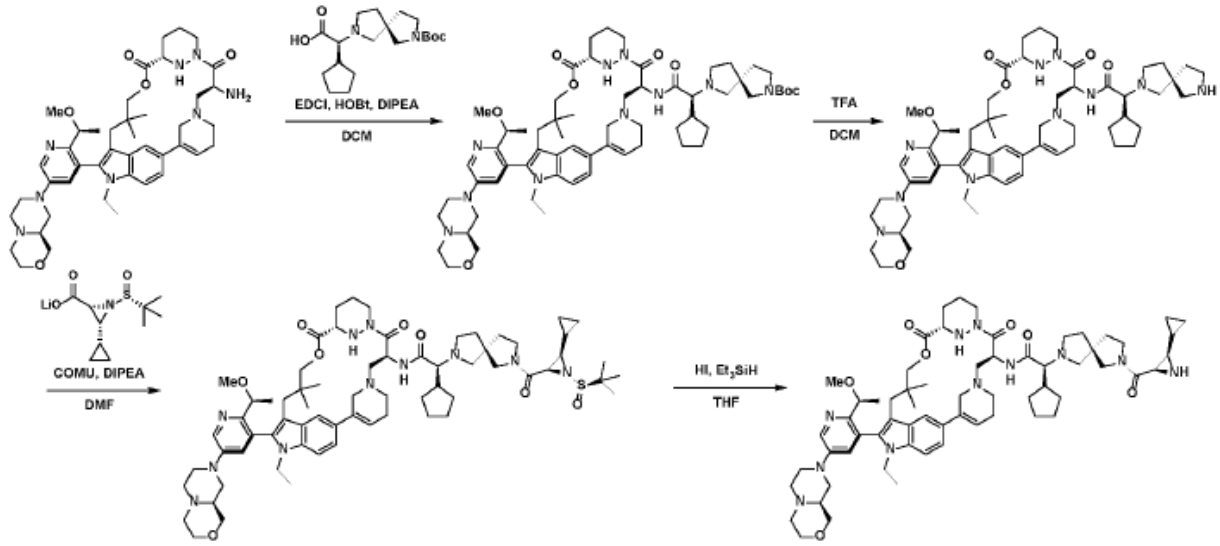
Una mezcla de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (400 mg, 0,382 mmol), litio (2R,3R)-1-((R)-terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (117,90 mg, 0,497 mmol), DIPEA (247,03 mg, 1,910 mmol) y HATU (159,89 mg, 0,420 mmol) en DMF (4 mL) se agitó durante 1 h a 0 °C en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (MeOH/H_2O al 0-100 %, NH_4HCO_3 al 0,1 %) para proporcionar el producto (463 mg, 96 % de rendimiento) como sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{70}H_{96}F_2N_{10}O_7S$: 1259,72; se encontró 1259,5

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-2^5-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida

A una solución de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((63S,4S)-25-(difluorometil)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il) piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenaciclundecafano-4-il)acetamida (360 mg, 0,286 mmol) en THF (4 mL) se añadió Et_3SiH (332,31 mg, 2,86 mmol) y HI (658,01 mg, 5,148 mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 20 min a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se basificó a pH 7 a 8 con DIPEA (0,3 mL) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de

la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (102 mg, 31 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{66}H_{88}F_2N_{10}O_6$: 1155,70; se encontró 1156,1

Ejemplo 53: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaespiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución agitada de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-12-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-5,7-diona (720 mg, 0,936 mmol) y ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (495,02 mg, 1,404 mmol) en DCM (15 mL) se añadió EDC•HCl (1076,92 mg, 5,616 mmol) y HOBt (1265,13 mg, 9,360 mmol) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0 °C. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 2 %) para proporcionar el producto

(670 mg, 58 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{62}H_{90}N_{10}O_8$: 1103,70; se encontró 1104,0

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounDecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución agitada de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounDecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato (670 mg, 0,607 mmol) en DCM (7 mL) se añadió TFA (7 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El producto bruto (640 mg, 84 % de rendimiento) en forma de sólido se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{57}H_{82}N_{10}O_6$: 1003,65; se encontró 1003,7

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounDecafano-4-il)acetamida

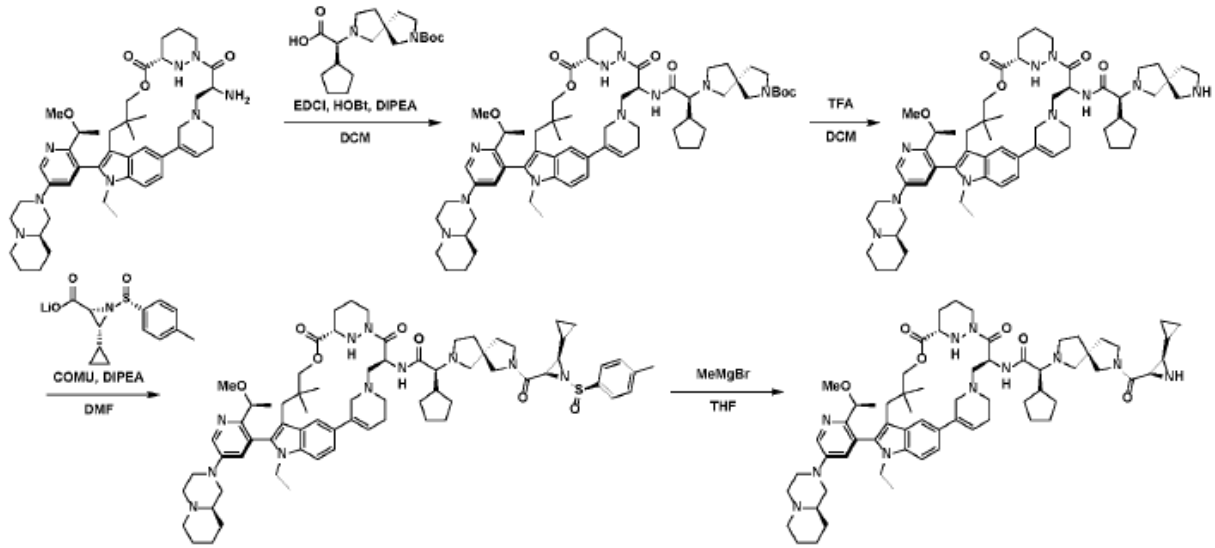
A una solución agitada de (2S)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclounDecafano-4-il)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida (640 mg, 0,638 mmol) y litio (2R,3R)-1-((R)-terc-butilisulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carboxilato (378,32 mg, 1,595 mmol) en DMF (12 mL) se añadió DIPEA (824,40 mg, 6,380 mmol) y COMU (355,13 mg, 0,829 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (6 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (490 mg, 57 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{67}H_{97}N_{11}O_8S$: 1216,73; se encontró 1217,1

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-

hexahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicIoundecafano-4-il)acetamida

A una solución agitada de (2S)-2-((5S)-7-((2R,3R)-1-(terc-butilsulfinil)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(5-((S)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicIoundecafano-4-il)acetamida (490 mg, 0,403 mmol) y Et_3SiH (702,45 mg, 6,045 mmol) en THF (12 mL) se añadió HI (515,17 mg, 4,030 mmol) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a 0 ° C. La mezcla se basificó a pH 8 con DIPEA. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 15mL), se secó en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (150 mg, 32 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{63}H_{89}N_{11}O_7$: 1112,70; se encontró 1113,0

Ejemplo 54: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazina-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicIoundecafano-4-il)acetamida



Paso 1: Síntesis de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-ciclopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicIoundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaespiro[4,4]nonano-2-carboxilato

A una solución agitada de (6^{3}S,4S)-4-amino-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-

decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclоundecafano-5,7-diona (260 mg, 0,339 mmol) y ácido (S)-2-((S)-7-(terc-butoxicarbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-2-ciclopentilacético (179 mg, 0,509 mmol) en DCM (6 mL) se añadió DIPEA (876 mg, 6,78 mmol) y EDC•HCl (390 mg, 2,034 mmol) y HOBt (458 mg, 3,390 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno durante 2 h. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (MeOH/DCM al 2 %) para proporcionar el producto (280 mg, 75 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{63}H_{92}N_{10}O_7$: 1101,72; se encontró 1102,1

Paso 2: Síntesis de (2S)-2-cicIopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietiI)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicIoundecafano-4-iI)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)acetamida

A una solución agitada de terc-butilo (5S)-7-((1S)-1-cicIopentil-2-(((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-iI)piridin-3-iI)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicIoundecafano-4-il)amino)-2-oxoetil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-carboxilato (280 mg, 0,254 mmol) en DCM (3 mL) se añadió TFA (3 mL) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno durante 1 h. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El producto bruto (240 mg, 94 % de rendimiento) en forma de sólido se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{58}H_{84}N_{10}O_5$: 1001,67; se encontró 1001,6

Paso 3: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicIoundecafano-4-il)acetamida

A una solución agitada de (2S)-2-cicIopentil-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietilo)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-iI)piridin-3-iI)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^1H-8-oxa-1(5,3)-indoIa-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicIoundecafano-4-iI)-2-((S)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-iI)acetamida (150 mg, 0,15 mmol) y litio (2R,3R)-3-ciclopropilo-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carboxilato (102 mg, 0,375 mmol) en DMF (2 mL) se añadió COMU (83 mg, 0,195 mmol) y DIPEA (194 mg, 1,50 mmol) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 1 h. La mezcla se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ acuoso sat. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas

orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (MeOH/DCM al 6 %) para proporcionar el producto (140 mg, 75 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H]/2; calculado para $C_{71}H_{97}N_{11}O_7S$: 1248,74; se encontró 625,2

Paso 4: Síntesis de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropilaziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietilo)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclundecafano-4-il)acetamida

A una solución agitada de (2S)-2-ciclopentil-2-((S)-7-((2R,3R)-3-ciclopropil-1-((R)-p-tolilsulfinil)aziridina-2-carbonil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-N-((6^{3}S,4S)-1^1-etil-1^2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2^1,2^2,2^3,2^6,6^1,6^2,6^3,6^4,6^5,6^6-decahidro-1^{1}H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinaciclundecafano-4-il)acetamida (90 mg, 0,072 mmol) en THF (1 mL) se añadió MeMgBr (1 M, 0,576 mL) a -78 °C en N_2. Luego la mezcla se agitó a -78 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso sat. (20 mL) a 0 °C. Luego se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 x 15 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL) y se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (8 % de MeOH/DCM) para proporcionar el producto (55 mg, 66 % de rendimiento) en forma de un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{64}H_{91}N_{11}O_6$: 1110,73; se encontró 1111,1

Tabla 6: Ejemplos de compuestos preparados por métodos de la presente invención

Ej. núm.	Fórmula molecular	MW calculado	MW observado LCMS (ESI) *m/z*
A1	$C_{51}H_{66}N_8O_7S$	[M + H] = 935,49	[M + H] = 935,4
A2	$C_{55}H_{73}N_9O_6S$	[M + H] = 988,55	[M + H] = 988,5
A3	$C_{57}H_{75}N_9O_6S$	[M + H] = 1014,57	[M + H] = 1014,5
A4	$C_{52}H_{69}N_9O_6S$	[M + H] = 948,52	[M + H] = 948,6
A5	$C_{52}H_{69}N_9O_6S$	[M + H] = 948,52	[M + H] = 948,3
A6	$C_{52}H_{68}N_8O_7S$	[M + H] = 949,50	[M + H] = 949,5
A7	$C_{54}H_{70}N_8O_7S$	[M + H] = 975,52	[M + H] = 975,5
A8	$C_{54}H_{71}N_9O_6S$	[M + H] = 974,53	[M + H] = 974,5
A9	$C_{55}H_{73}N_9O_6S$	[M + H] = 988,55	[M + H] = 988,5
A10	$C_{54}H_{70}N_8O_6$	[M + H] = 927,55	[M + H] = 927,6

Ej. núm.	Fórmula molecular	MW calculado	MW observado LCMS (ESI) *m/z*
A11	$C_{58}H_{74}N_8O_7$	[M + H] = 995,58	[M + H] = 995,5
A12	$C_{54}H_{69}N_7O_7$	[M + H] = 928,54	[M + H] = 928,5
A13	$C_{57}H_{74}N_8O_6$	[M + H] = 967,58	[M + H] = 967,5
A14	$C_{55}H_{72}N_8O_6$	[M + H] = 941,57	[M + H] = 941,6
A15	$C_{53}H_{72}N_8O_7$	[M + H] = 933,56	[M + H] = 933,6
A16	$C_{56}H_{77}N_9O_6$	[M + H] = 972,61	[M + H] = 972,5
A17	$C_{56}H_{72}F_2N_8O_6$	[M + H] = 991,56	[M + H] = 992,2
A18	$C_{58}H_{74}F_2N_8O_6$	[M + H] = 1017,58	[M + H] = 1017,4
A19	$C_{55}H_{77}N_9O_7$	[M + H] = 976,61	[M + H] = 976,6
A20	$C_{53}H_{75}N_9O_7$	[M + H] = 950,59	[M + H] = 950,6
A21	$C_{58}H_{75}FN_8O_6$	[M + H] = 999,59	[M + H] = 999,5
A22	$C_{56}H_{73}FN_8O_6$	[M + H] = 973,57	[M + H] = 973,5
A23	$C_{61}H_{83}N_{11}O_7S$	[M + H] = 1114,63	[M + H] = 1013,0
A24	$C_{58}H_{78}N_{10}O_8S$	[M + H] = 1075,58	[M + H] = 1076,1
A25	$C_{62}H_{85}N_{11}O_6S$	[M + H] = 1112,65	[M + H] = 1113,0
A26	$C_{64}H_{83}F_3N_{10}O_7$	[M + H] = 1161,65	[M + H] = 1162,1
A27	$C_{65}H_{85}F_3N_{10}O_6$	[M + H] = 1159,67	[M + H] = 1160,0
A28	$C_{64}H_{86}N_{10}O_7$	[M + H] = 1107,68	[M + H] = 1107,9
A29	$C_{62}H_{84}N_{10}O_7$	[M + H] = 1081,66	[M + H] = 1082,0
A30	$C_{65}H_{88}N_{10}O_6$	[M + H] = 1105,70	[M + H] = 1106,1
A31	$C_{64}H_{86}N_{10}O_6$	[M + H] = 1091,68	[M + H] = 1092,1
A32	$C_{63}H_{91}N_{11}O_7$	[M + H] = 1114,72	[M + H] = 1115,0
A33	$C_{60}H_{84}F_3N_{11}O_7$	[M + H] = 1128,66	[M + H] = 1129,0
A34	$C_{65}H_{87}FN_{10}O_7$	[M + H] = 1139,68	[M + H] = 1140,1
A35	$C_{65}H_{87}FN_{10}O_6$	[M + H] = 1123,69	[M + H] = 1124,1
A36	$C_{66}H_{89}FN_{10}O_6$	[M + H] = 1137,71	[M + H] = 1138,1
A37	$C_{65}H_{86}F_2N_{10}O_7$	[M + H] = 1157,68	[M + H] = 1158,1
A38	$C_{65}H_{86}F_2N_{10}O_6$	[M + H] = 1141,68	[M + H] = 1142,1
A39	$C_{66}H_{88}F_2N_{10}O_6$	[M + H] = 1155,70	[M + H] = 1156,1

Ej. núm.	Fórmula molecular	MW calculado	MW observado LCMS (ESI) *m/z*
A40	$C_{63}H_{89}N_{11}O_7$	[M + H] = 1112,70	[M + H] = 1113,0
A41	$C_{64}H_{91}N_{11}O_6$	[M + H] = 1110,73	[M + H] = 1111,1
A42	$C_{56}H_{75}N_9O_6S$	[M + H] = 1002,57	[M + H] = 1002,9
A43	$C_{54}H_{71}N_9O_6S$	[M + H] = 974,54	[M + H] = 974,6
A44	$C_{51}H_{67}N_9O_6S$	[M + H] = 934,50	[M + H] = 934,5
B1	$C_{60}H_{87}N_{11}O_7$	[M + H] = 1074,69	[M + H] = 1074,8
B2	$C_{64}H_{93}N_{11}O_8$	[M + H] = 1144,73	[M + H] = 1144,9
B3	$C_{60}H_{87}N_{11}O_8$	[M + H] = 1090,68	[M + H] = 1091,0
B4	$C_{62}H_{81}F_3N_{10}O_7$	[M + H] = 1135,63	[M + H] = 1135,6
B5	$C_{61}H_{80}F_3N_{11}O_7S$	[M + H] = 1168,60	[M + H] = 1168,8
B6	$C_{54}H_{68}F_3N_9O_6S$	[M + H] = 1028,51	[M + H] = 1028,5
B7	$C_{58}H_{79}N_{11}O_7S$	[M + H] = 1074,60	[M + H] = 1075,0
B8	$C_{64}H_{86}N_{10}O_7$	[M + H] = 1107,68	[M + H] = 1108,1
B9	$C_{61}H_{83}N_{11}O_7S$	[M + H] = 1114,63	[M + H] = 1114,9
B10	$C_{62}H_{89}N_{11}O_7$	[M + H] = 1100,71	[M + H] = 1100,5
B11	$C_{60}H_{84}F_3N_{11}O_8$	[M + H] = 1144,66	[M + H] = 1145,0
B12	$C_{62}H_{86}F_3N_{11}O_8$	[M + H] = 1170,67	[M + H] = 1171,0
B13	$C_{59}H_{81}N_{11}O_7S$	[M + H] = 1088,61	[M + H] = 1088,9
B14	$C_{63}H_{89}N_{11}O_6$	[M + H] = 1096,71	[M + H] = 1097,1
B15	$C_{62}H_{89}N_{11}O_8$	[M + H] = 1116,70	[M + H] = 1117,0
B16	$C_{52}H_{69}N_9O_6S$	[M + H] = 948,52	[M + H] = 948,5
B17	$C_{58}H_{78}N_{10}O_7S$	[M + H] = 1059,59	[M + H] = 1059,6
B18	$C_{58}H_{79}N_9O_7S$	[M + H] = 1046,59	[M + H] = 1046,5
B19	$C_{61}H_{83}N_{11}O_6S$	[M + H] = 1098,64	[M + H] = 1099,0
B20	$C_{53}H_{66}F_3N_9O_7S$	[M + H] = 1030,49	[M + H] = 1030,4
B21	$C_{51}H_{64}F_3N_9O_7S$	[M + H] = 1004,47	[M + H] = 1004,5
B22	$C_{50}H_{62}F_3N_9O_7S$	[M + H] = 990,46	[M + H] = 990,3
B26	$C_{54}H_{68}F_3N_9O_6S$	[M + H] = 1028,51	[M + H] = 1028,5
B27	$C_{52}H_{66}F_3N_9O_6S$	[M + H] = 1002,49	[M + H] = 1002,4
B28	$C_{51}H_{64}F_3N_9O_6S$	[M + H] = 988,48	[M + H] = 988,5
B29	$C_{56}H_{70}F_3N_9O_7S$	[M + H] = 1070,52	[M + H] = 1070,5
B30	$C_{54}H_{68}F_3N_9O_7S$	[M + H] = 1044,50	[M + H] = 1044,5
B31	$C_{57}H_{72}F_3N_9O_6S$	[M + H] = 1068,54	[M + H] = 1068,5
B32	$C_{55}H_{70}F_3N_9O_6S$	[M + H] = 1042,52	[M + H] = 1042,4

Ej. núm.	Fórmula molecular	MW calculado	MW observado LCMS (ESI) *m/z*
B33	$C_{54}H_{68}F_3N_9O_6S$	[M + H] = 1028,51	[M + H] = 1028,5
B34	$C_{53}H_{66}F_3N_9O_7S$	[M + H] = 1030,49	[M + H] = 1030,4
B37	$C_{61}H_{83}N_{11}O_6S$	[M + H] = 1098,64	[M + H] = 1098,8
B38	$C_{60}H_{81}N_{11}O_7S$	[M + H] = 1100,61	[M + H] = 1100,9
B39	$C_{61}H_{83}N_{11}O_7$	[M + H] = 1082,66	[M + H] = 1082,6
B40	$C_{54}H_{68}F_3N_9O_7$	[M + H] = 1012,53	[M + H] = 1012,7
B41	$C_{55}H_{74}F_3N_9O_6$	[M + H] = 1014,58	[M + H] = 1014,8
B42	$C_{64}H_{85}FN_{10}O_6$	[M + H] = 1109,67	[M + H] = 1109,8
B44	$C_{53}H_{66}F_3N_9O_8$	[M + H] = 1014,51	[M + H] = 1014,6
B45	$C_{54}H_{72}F_3N_9O_7$	[M + H] = 1016,56	[M + H] = 1016,7
B46	$C_{63}H_{83}FN_{10}O_7$	[M + H] = 1111,65	[M + H] = 1111,7
B47	$C_{62}H_{85}N_{11}O_7S$	[M + H] = 1128,65	[M + H] = 1129,0
B48	$C_{60}H_{83}N_{11}O_7S$	[M + H] = 1102,63	[M + H] = 1102,7
B49	$C_{62}H_{82}F_3N_{11}O_7S$	[M + H] = 1182,62	[M + H] = 1183,0
B50	$C_{60}H_{80}F_3N_{11}O_7S$	[M + H] = 1156,60	[M + H] = 1156,7
B52	$C_{60}H_{82}F_3N_{11}O_7$	[M + H] = 1126,65	[M + H] = 1126,8
B55	$C_{61}H_{79}F_3N_{10}O_7$	[M + H] = 1121,62	[M + H] = 1121,7
B56	$C_{58}H_{76}F_3N_{11}O_7S$	[M + H] = 1128,57	[M + H] = 1128,8
B58	$C_{61}H_{84}F_3N_{11}O_6$	[M + H] = 1124,67	[M + H] = 1125,0
B59	$C_{60}H_{84}F_3N_{11}O_7$	[M + H] = 1128,66	[M + H] = 1128,7
B60	$C_{62}H_{81}F_3N_{10}O_6$	[M + H] = 1119,64	[M + H] = 1119,8
B61	$C_{59}H_{78}F_3N_{11}O_6S$	[M + H] = 1126,59	[M + H] = 1126,7
B62	$C_{63}H_{86}F_3N_{11}O_6$	[M + H] = 1150,68	[M + H] = 1150,7
B63	$C_{61}H_{84}F_3N_{11}O_7$	[M + H] = 1140,66	[M + H] = 1140,8
B64	$C_{61}H_{87}N_{11}O_7$	[M + H] = 1086,69	[M + H] = 1087,2
B65	$C_{63}H_{86}F_3N_{11}O_7$	[M + H] = 1166,68	[M + H] = 1166,7
B67	$C_{59}H_{82}F_3N_{11}O_9$	[M + H] = 1146,64	[M + H] = 1146,9
B68	$C_{61}H_{79}F_3N_{10}O_8$	[M + H] = 1137,61	[M + H] = 1137,8
B69	$C_{58}H_{76}F_3N_{11}O_8S$	[M + H] = 1144,57	[M + H] = 1144,8
B71	$C_{64}H_{84}F_3N_{11}O_7S$	[M + H] = 1208,63	[M + H] = 1208,9
B72	$C_{62}H_{82}F_3N_{11}O_7S$	[M + H] = 1182,62	[M + H] = 1182,8
B73	$C_{62}H_{85}N_{11}O_7S$	[M + H] = 1128,65	[M + H] = 1128,7
B74	$C_{64}H_{87}N_{11}O_7S$	[M + H] = 1154,66	[M + H] = 1154,9
B75	$C_{59}H_{82}F_3N_{11}O_8$	[M + H] = 1130,64	[M + H] = 1130,9

Ej. núm.	Fórmula molecular	MW calculado	MW observado LCMS (ESI) *m/z*
B76	$C_{61}H_{79}F_3N_{10}O_7$	[M + H] = 1121,62	[M + H] = 1121,9
B77	$C_{58}H_{76}F_3N_{11}O_7S$	[M + H] = 1128,57	[M + H] = 1128,8
B84	$C_{62}H_{86}F_3N_{11}O_7$	[M + H] = 1154,68	[M + H] = 1154,8
B85	$C_{64}H_{83}F_3N_{10}O_6$	[M + H] = 1145,66	[M + H] = 1145,9
B86	$C_{61}H_{80}F_3N_{11}O_6S$	[M + H] = 1152,61	[M + H] = 1152,8
B87	$C_{59}H_{85}N_{11}O_8$	[M + H] = 1076,67	[M + H] = 1077,1
B88	$C_{61}H_{82}N_{10}O_7$	[M + H] = 1067,65	[M + H] = 1067,9
B89	$C_{59}H_{78}F_3N_{11}O_7S$	[M + H] = 1142,59	[M + H] = 1142,8
B90	$C_{62}H_{89}N_{11}O_7$	[M + H] = 1100,70	[M + H] = 1101,1
B91	$C_{60}H_{78}F_3N_{11}O_7S$	[M + H] = 1154,59	[M + H] = 1154,8
B92	$C_{63}H_{81}F_3N_{10}O_7$	[M + H] = 1147,63	[M + H] = 1147,9
B94	$C_{60}H_{78}F_3N_{11}O_8S$	[M + H] = 1170,58	[M + H] = 1171,1
B95	$C_{63}H_{81}F_3N_{10}O_8$	[M + H] = 1163,63	[M + H] = 1163,9
B96	$C_{61}H_{84}F_3N_{11}O_9$	[M + H] = 1172,65	[M + H] = 1172,9
B100	$C_{59}H_{79}F_3N_{12}O_8S$	[M + H] = 1173,59	[M + H] = 1173,9
B101	$C_{62}H_{82}F_3N_{11}O_8$	[M + H] = 1166,64	[M + H] = 1166,9
B106	$C_{60}H_{81}F_3N_{12}O_7S$	[M + H] = 1171,61	[M + H] = 1171,7
B113	$C_{57}H_{74}F_3N_{11}O_8S$	[M + H] = 1130,55	[M + H] = 1130,5
B114	$C_{60}H_{77}F_3N_{10}O_8$	[M + H] = 1123,60	[M + H] = 1124,1
B115	$C_{58}H_{80}F_3N_{11}O_9$	[M + H] = 1132,62	[M + H] = 1132,7
B116	$C_{58}H_{75}F_3N_{10}O_7S$	[M + H] = 1113,56	[M + H] = 1113,5
B117	$C_{57}H_{73}F_3N_{10}O_8S$	[M + H] = 1115,54	[M + H] = 1115,5
B118	$C_{55}H_{71}F_3N_{10}O_7S$	[M + H] = 1073,53	[M + H] = 1073,5
B119	$C_{54}H_{69}F_3N_{10}O_8S$	[M + H] = 1075,51	[M + H] = 1075,6
C1	$C_{60}H_{78}N_8O_9$	[M + H] = 1055,60	[M + H] = 1055,5
C2	$C_{61}H_{78}N_8O_9$	[M + H] = 1067,60	[M + H] = 1067,6
C3	$C_{54}H_{71}N_8O_{11}P$	[M + H] = 1039,51	[M + H] = 1039,5
C4	$C_{60}H_{84}N_8O_8Si$	[M + H] = 1073,63	[M + H] = 1073,6
C5	$C_{60}H_{84}N_8O_8Si$	[M + H] = 1073,63	[M + H] = 1073,5
C6	$C_{59}H_{78}N_8O_9$	[M + H] = 1043,60	[M + H] = 1043,6
C7	$C_{56}H_{72}N_8O_{10}$	[M + H] = 1017,55	[M + H] = 1017,5
C8	$C_{58}H_{76}N_8O_9$	[M + H] = 1029,58	[M + H] = 1029,6
C9	$C_{56}H_{72}N_8O_9$	[M + H] = 1001,55	[M + H] = 1001,5
D1	$C_{51}H_{67}N_9O_7S$	[M + H] = 950,50	[M + H] = 950,5

Ej. núm.	Fórmula molecular	MW calculado	MW observado LCMS (ESI) *m/z*
D2	$C_{51}H_{67}N_9O_7S$	[M + H] = 950,50	[M + H] = 950,5
D3	$C_{57}H_{74}N_8O_7$	[M + H] = 983,58	[M + H] = 983,5
D4	$C_{57}H_{74}N_8O_7$	[M + H] = 983,58	[M + H] = 983,9
F1	$C_{56}H_{77}N_{11}O_7S$	[M + H] = 1048,58	[M + H] = 1048,6
F2	$C_{56}H_{74}F_3N_{11}O_7S$	[M + H] = 1102,55	[M + H] = 1102,6
F3	$C_{59}H_{82}F_3N_{11}O_7$	[M + H] = 1114,65	[M + H] = 1114,7
F4	$C_{58}H_{80}F_3N_{11}O_6$	[M + H] = 1084,63	[M + H] = 1084,7
F5	$C_{57}H_{80}F_3N_{11}O_7$	[M + H] = 1088,63	[M + H] = 1088,7
F6	$C_{59}H_{80}N_{10}O_6$	[M + H] = 1025,64	[M + H] = 1025,7
F7	$C_{61}H_{82}N_{10}O_6$	[M + H] = 1051,65	[M + H] = 1051,9
F8	$C_{56}H_{77}N_{11}O_6S$	[M + H] = 1032,59	[M + H] = 1032,7
F9	$C_{58}H_{79}N_{11}O_6S$	[M + H] = 1058,60	[M + H] = 1058,7
F10	$C_{59}H_{85}N_{11}O_7$	[M + H] = 1060,67	[M + H] = 1060,7
F11	$C_{56}H_{74}F_3N_{11}O_6S$	[M + H] = 1086,56	[M + H] = 1086,9
F12	$C_{59}H_{81}N_{11}O_6S$	[M + H] = 1072,62	[M + H] = 1072,7
F13	$C_{60}H_{87}N_{11}O_7$	[M + H] = 1074,69	[M + H] = 1074,7
F14	$C_{60}H_{82}F_3N_{11}O_6$	[M + H] = 1110,65	[M + H] = 1111,1
F15	$C_{61}H_{79}F_3N_{10}O_6$	[M + H] = 1105,62	[M + H] = 1105,7
F16	$C_{58}H_{76}F_3N_{11}O_6S$	[M + H] = 1112,58	[M + H] = 1112,6

Ensayos biológicos

Todos los compuestos (A5, A17, A18 y C18) exhibieron un IC_{50} de 8 µM o menos en el ensayo de potencia pERK descrito a continuación con respecto a AsPC-1 (K-Ras G12D). Todos los compuestos exhibieron una IC_{50} de 7 µM o menos en el ensayo de viabilidad celular descrito a continuación con respecto a AsPC-1 (K-Ras G12D).

Ensayo de potencia: pERK

El propósito de este ensayo fue medir la capacidad de los compuestos de prueba para inhibir K-Ras en las células. K-Ras activado induce la fosforilación aumentada de ERK en Treonina 202 y Tirosina 204 (pERK). Este procedimiento mide una reducción en pERK celular en respuesta a los compuestos de prueba. El procedimiento descrito a continuación en células NCI-H358 es aplicable a K-Ras G12C.

Nota: Este protocolo puede ejecutarse al sustituir otras líneas celulares para caracterizar los inhibidores de otras variantes de RAS que incluyen, por ejemplo, AsPC-1 (K-Ras G12D), Capan-1 (K-Ras G12V), o NCI- H1355 (K-Ras G13C).

Las células NCI-H358 se cultivaron y mantuvieron usando medios y procedimientos

recomendados por la ATCC. El día anterior a la adición del compuesto, las células se colocaron en placas de cultivo celular de 384 pocillos (40 µl/pocillo) y se cultivaron durante la noche en una incubadora a 37 °C, CO2 al 5 %. Los compuestos de prueba se prepararon en 10 diluciones de 3 veces en DMSO, con una concentración alta de 10 mM. El día del ensayo, se agregó 40 nL de compuesto de prueba a cada pocillo de la placa de cultivo celular mediante el uso de un manipulador de líquidos Echo550 (LabCyte®). Las concentraciones del compuesto de prueba se evaluaron en duplicado. Después de la adición del compuesto, las células se incubaron durante 4 horas a 37 °C, CO2 al 5 %. Después de la incubación, se eliminó el medio de cultivo y las células se lavaron una vez con solución salina amortiguada con fosfato.

En algunos experimentos, el nivel de pERK celular se determinó utilizando el Kit de ensayo AlphaLISA SureFire Ultra p-ERK1/2 (PerkinElmer). Las células se lisaron en 25 µL de amortiguador de lisis, con agitación a 600 RPM a temperatura ambiente. El lisado (10 µL) se transfirió a una placa Opti-plate de 384 pocillos (PerkinElmer) y se añadió 5 µL de mezcla de aceptor. Después de una incubación durante 2 horas en la oscuridad, se agregó 5 µL de mezcla de donante, la placa se selló y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. La señal se leyó en un lector de placas Envision (PerkinElmer) mediante el uso de configuraciones estándar de AlphaLISA. El análisis de los datos sin procesar se realizó en Excel (Microsoft) y Prism (GraphPad). La señal se grafica en función del logaritmo de diez en diez de la concentración de compuesto, y se determinó la IC_{50} mediante el ajuste de un modelo de respuesta de la concentración sigmoidal de 4 parámetros.

En otros experimentos, pERK celular se determinó en In-Cell Western. Después del tratamiento del compuesto, las células se lavaron dos veces con 200 µL de solución salina amortiguada con Tris (TBS) y se fijaron durante 15 minutos con 150 µL de paraformaldehído al 4 % en TBS. Las células fijas se lavaron 4 veces durante 5 minutos con TBS que contenía Triton X-100 al 0,1 % (TBST) y luego se bloquearon con 100 µl de amortiguador de bloqueo Odyssey (LI-COR) durante 60 minutos a temperatura ambiente. El anticuerpo primario (pERK, CST-4370, Cell Signaling Technology) se diluyó 1:200 en tampón de bloqueo y se agregó 50 µL a cada pocillo y se incubó durante la noche a 4 °C. Las células se lavaron 4 veces durante 5 minutos con TBST. Se agregaron el anticuerpo secundario (IR-800CW de conejo, LI-COR, diluido 1:800) y mancha de ADN DRAQS (LI-COR, diluido 1:2000) y se incubaron durante 1-2 horas a temperatura ambiente. Las células se lavaron 4 veces durante 5 minutos con TBST. Las placas se escanearon en un Li-COR Odyssey CLx Imager. El análisis de los datos sin procesar se realizó en Excel (Microsoft) y Prism (GraphPad).

La señal se grafica en función del logaritmo de diez en diez de la concentración de compuesto, y se determinó la IC_{50} mediante el ajuste de un modelo de respuesta de la concentración sigmoidal de 4 parámetros.

Con respecto a G13C, sigue otro protocolo de ensayo pERK.

Nota: Este protocolo se puede ejecutar sustituyendo otras líneas celulares para

caracterizar inhibidores de otras variantes de RAS, incluyendo, por ejemplo, AsPC-1 (K-Ras G12D), Capan-1 (K-Ras G12V) o NCI-H358 (K-Ras G12C).

Las células MIA PaCa-2 KRAS G13C A12 se cultivaron y se mantuvieron mediante el uso de medios y procedimientos recomendados por la ATCC. El día anterior a la adición del compuesto, las células se colocaron en placas de cultivo celular de 384 pocillos (8000 células/40 µl/pocillo) y se cultivaron durante la noche en una incubadora a 37 °C, CO2 al 5 %. Los compuestos de prueba se prepararon en 10 diluciones de 3 veces en DMSO, con una alta concentración de 10, 1, o 0,1 mM. El día del ensayo, se agregó 40 nL de compuesto de prueba a cada pocillo de la placa de cultivo celular mediante el uso de un manipulador de líquidos Echo550 (LabCyte®). Las concentraciones del compuesto de prueba se evaluaron en duplicado. Después de la adición del compuesto, las células se incubaron durante 4 horas a 37°C, CO2 al 5 %. Después de la incubación, se eliminó el medio de cultivo y las células se lavaron una vez con solución salina amortiguada con fosfato.

En algunos experimentos, el nivel de pERK celular se determinó utilizando el Kit de ensayo AlphaLISA SureFire Ultra p-ERK1/2 (PerkinElmer). Las células se lisaron en 25 µL de amortiguador de lisis, con agitación a 600 RPM a temperatura ambiente. El lisado (10 µL) se transfirió a una placa Opti-plate de 384 pocillos (PerkinElmer) y se agregó 5 µL de mezcla de aceptor. Después de una incubación durante 2 horas en la oscuridad, se agregó 5 µL de mezcla de donante, la placa se selló y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. La señal se leyó en un lector de placas Envision (PerkinElmer) mediante el uso de configuraciones estándar de AlphaLISA. El análisis de los datos sin procesar se realizó en Genedata Screener y Prism (GraphPad). Los datos se normalizaron mediante los siguientes cálculos: ((señal de muestra - control de bajo promedio)/(promedio de DMSO- control de bajo promedio))*100. La señal se grafica en función del logaritmo de diez en diez de la concentración de compuesto, y se determinó la IC_{50} mediante el ajuste de un modelo de respuesta de la concentración sigmoidal de 4 parámetros.

En otros experimentos, pERK celular se determinó en In-Cell Western. Después del tratamiento del compuesto, las células se lavaron dos veces con 200 µL de solución salina amortiguada con Tris (TBS) y se fijaron durante 15 minutos con 150 µL de paraformaldehído al 4 % en TBS. Las células fijas se lavaron 4 veces durante 5 minutos con TBS que contenía Triton X-100 al 0,1 % (TBST) y luego se bloquearon con 100 µl de amortiguador de bloqueo Odyssey (LI-COR) durante 60 minutos a temperatura ambiente. El anticuerpo primario (pERK, CST-4370, Cell Signaling Technology) se diluyó 1:200 en tampón de bloqueo y se agregó 50 µL a cada pocillo y se incubó durante la noche a 4 °C. Las células se lavaron 4 veces durante 5 minutos con TBST. Se agregaron el anticuerpo secundario (IR-800CW de conejo, LI-COR, diluido 1:800) y mancha de ADN DRAQS (LI-COR, diluido 1:2000) y se incubaron durante 1-2 horas a temperatura ambiente. Las células se lavaron 4 veces durante 5 minutos con TBST. Las placas se escanearon en un Li-COR Odyssey CLx Imager. El análisis de los datos sin procesar se realizó

en Excel (Microsoft) y Prism (GraphPad). La señal se grafica en función del logaritmo de diez en diez de la concentración de compuesto, y se determinó la IC_{50} mediante el ajuste de un modelo de respuesta de la concentración sigmoidal de 4 parámetros.

Determinación de la viabilidad celular en líneas de células cancerígenas mutantes de RAS

Protocolo: Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Glo®

Nota: El siguiente protocolo describe un procedimiento para monitorear la viabilidad celular de líneas de células cancerosas de mutante de K-Ras en respuesta a un compuesto de la invención. Se pueden emplear otras isoformas de RAS, aunque la cantidad de células que se sembrará variará en función de la línea celular utilizada.

El objetivo de este ensayo celular era determinar los efectos de los compuestos de prueba en la proliferación de tres líneas de células cancerosas humanas (NCI-H358 (K-Ras G12C), AsPC-1 (K-Ras G12D), y Capan-1 (K-Ras G12V)) en un período de tratamiento de 5 días al cuantificar la cantidad de ATP presente en el punto final al usar el reactivo CellTiter-Glo® 2,0 (Promega).

Las células se sembraron a 250 células/pocillo en 40 µL de medio de crecimiento en placas de ensayo de 384 pocillos y se incubaron durante la noche en una atmósfera humidificada de CO2 al 5 % a 37 °C. El día del ensayo, 10 mM de soluciones madre de compuestos de prueba se diluyeron primero en 3 mM de soluciones con DMSO al 100 %. Las soluciones de compuesto bien mezcladas (15 µL) se transfirieron a los siguientes pocillos que contenían 30 µL de DMSO al 100%, y se repitieron hasta que se hizo una dilución serial de 3 veces y 9 concentraciones (concentración de ensayo de partida de 10 µM). Los compuestos de prueba (132,5 nL) se dispensaron directamente en las placas de ensayo que contenían células. Las placas se agitaron durante 15 segundos a 300 rpm, se centrifugaron y se incubaron en una atmósfera humidificada de CO_2 al 5 % a 37 °C durante 5 días. El día 5, las placas de ensayo y sus contenidos se equilibraron a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos. Se agregó reactivo CellTiter- GIo® 2,0 (25 µL) y los contenidos de placas se mezclaron durante 2 minutos en un agitador orbital antes de la incubación a temperatura ambiente durante 10 minutos.

La luminiscencia se midió mediante el uso de PerkinElmer Enspire. Los datos se normalizaron mediante lo siguiente: (Señal de muestra/promedio DMSO)*100. Los datos se ajustaron mediante un ajuste logístico de cuatro parámetros.

Otro protocolo de ensayo CTG empleado con respecto a MIA PaCa-2 KRAS G13C A12 (K-Ras G13C, en particular, es el siguiente: *Nota: se pueden emplear otras isoformas de RAS (por ejemplo, NCI-H358 (K-Ras G12C), AsPC-1 (K-Ras G12D) y Capan-1 (K-Ras G12V), aunque el número de células que se cultivarán variará según la línea celular utilizada).*

El objetivo de este ensayo celular era determinar los efectos de los compuestos de prueba en la proliferación de líneas de células cancerosas humanas en un período de tratamiento de 5 días al cuantificar la cantidad de ATP presente en el punto final al usar el reactivo CellTiter-Glo®

2,0 (Promega).

Se cultivaron células a razón de 250 células/pocillo en 40 µL de medio de crecimiento en placas de ensayo de 384 pocillos y se incubaron durante la noche en una atmósfera humidificada de CO_2 al 5 % a 37 °C. Los compuestos de prueba se prepararon en diluciones triples de 9 puntos en DMSO, con una alta concentración de 10, 1 o 0,1 mM. El día del ensayo, los compuestos de prueba (40 nL) se dispensaron directamente en las placas de ensayo que contenían células. Las placas se agitaron durante 15 segundos a 300 rpm, se centrifugaron y se incubaron en una atmósfera humidificada de CO_2 al 5 % a 37 °C durante 5 días. El día 5, las placas de ensayo y sus contenidos se equilibraron a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos. Se agregó reactivo CellTiter- GIo® 2,0 (25 µL) y los contenidos de placas se mezclaron durante 2 minutos en un agitador orbital antes de la incubación a temperatura ambiente durante 10 minutos. La luminiscencia se midió mediante el uso de PerkinElmer Enspire. Los datos se normalizaron mediante lo siguiente: (Señal de muestra/promedio DMSO)*100. Los datos se ajustaron mediante un ajuste logístico de cuatro parámetros.

Alteración de la interacción del dominio de unión a B-Raf Ras ($BRAF^{RBD}$) con K-Ras mediante compuestos de la invención (también llamado ensayo FRET o ensayo MOA)

Nota: El siguiente protocolo describe un procedimiento para monitorear la alteración de la unión de K-Ras G12C (GMP-PNP) a $BRAF^{RBD}$ mediante un compuesto de la invención. Este protocolo también puede ejecutarse sustituyendo otras proteínas o nucleótidos de Ras, como K-Ras G12D y K-Ras G13D.

El objetivo de este ensayo bioquímico era medir la capacidad de los compuestos de prueba de facilitar la formación de complejo ternario entre una isoforma K-Ras cargada con nucleótido y ciclofinila A; el complejo ternario resultante altera la unión a una construcción de $BRAF^{RBD}$, que inhibe la señalización de K-Ras a través de un efector RAF. Los datos se informaron como valores de IC_{50}.

En un tampón de ensayo que contiene 25 mM de HEPES, pH 7,3, 0,002 % de Tween20, 0,1 % de BSA, 100 mM de NaCI y 5 mM de $MgCl_2$, la ciclofilina A sin marcado, His6-K-Ras-GMPPNP y GST-$BRAF^{RBD}$ se combinan en una placa de ensayo de 384 pocillos a concentraciones finales de 25 µM, 12,5 nM y 50 nM, respectivamente. El compuesto estaba presente en pocillos de placa como una serie de dilución de 10 puntos 3 veces que comienza a una concentración final de 30 µM. Después de la incubación a 25 °C durante 3 horas, se añadió una mezcla de anti-His Eu-W1024 y anti-GST aloficocianina a los pocillos de ensayo de muestra a concentraciones finales de 10 nM y 50 nM, respectivamente, y la reacción se incuba durante 1,5 horas. La señal TR-FRET se leyó en un lector de microplacas (Ex 320 nm, Em 665/615 nm). Los compuestos que facilitan la alteración del complejo K-Ras:RAF se identificaron como aquellos que provocan una reducción de la relación TR-FRET con respecto a los pocillos de control con DMSO.

Reticulación de proteínas Ras con compuestos de la invención para formar conjugados

El siguiente ensayo de reticulación describe un método para determinar la formación de aductos covalentes mediante un compuesto de la presente invención con una proteína Ras.

Nota: El siguiente protocolo describe un procedimiento para monitorizar la reticulación de K-Ras G12C (GMP-PNP) a un compuesto de la invención. Este protocolo también puede ejecutarse sustituyendo otras proteínas o nucleótidos de Ras, como K-Ras G12D y K-Ras G13D.

El propósito de este ensayo bioquímico era medir la capacidad de los compuestos de prueba para marcar covalentemente isoformas de K-Ras cargadas de nucleótidos. En un tampón de ensayo que contiene 12,5 mM de HEPES, pH 7,4, 75 mM de NaCl, 1 mM de $MgCl_2$, 1 mM de BME, 5 µM de ciclofilina A , y 2 µM de compuesto de prueba, se diluyó 10 veces una solución de 5 µM de K-Ras cargada con GMP-PNP (1-169) G12C para obtener una concentración final de 0,5 µM; con un volumen de muestra final de 100 µL.

La muestra se incubó a 25 °C durante un período de hasta 24 horas antes de inactivarla mediante la adición de 10 µL de ácido fórmico al 5%. Las muestras inactivadas se centrifugan a 15 000 rpm durante 15 minutos en una centrifugadora de sobremesa antes de inyectar una alícuota de 10 µL en una columna C4 de fase inversa y eluir en el espectrómetro de masas con un gradiente creciente de acetonitrilo en la fase móvil. El análisis de datos sin procesar se llevó a cabo usando software Waters MassLynx MS, con % unido calculado a partir de los picos de proteína desconvolucionados para K-Ras etiquetado y no etiquetado.

Paneles de proliferación celular in vitro

La potencia para la inhibición del crecimiento celular se evaluó en CrownBio usando métodos estándar. Brevemente, las líneas celulares se cultivaron en medio adecuado y luego se colocaron en placas en metilcelulosa 3D. La inhibición del crecimiento celular se determinó por CellTiter-GIo® después de 5 días de cultivo con concentraciones cada vez mayores de compuestos. La potencia del compuesto se informó como la concentración de inhibición al 50 % (IC50 absoluta).

El ensayo se realizó durante 7 días. El día 1, las células en cultivo 2D se recolectaron durante el crecimiento logarítmico y se suspendieron en medio de cultivo a 1x105 células/ml. Se utilizaron densidades celulares mayores o menores para algunas líneas celulares en función de la optimización anterior. Se mezclan 3,5 ml de suspensión celular con medio de crecimiento al 6,5 % con metilcelulosa al 1 %, dando como resultado una suspensión celular en metilcelulosa al 0,65 %. Se distribuyó 90 µL de esta suspensión en los pocillos de 2 placas de 96 pocillos. Una placa se usó para la lectura del día 0 y 1 placa se usó para el experimento de punto final. Las placas se incubaron durante la noche a 37 °C con CO2 al 5 %. El día 2, una placa (para lectura t0) se retiró y se agregaron 10 µL de medio de crecimiento más 100 µL de reactivo CellTiter-GIo® a cada pocillo.

Después de mezclar y de una incubación de 10 minutos, se registró la luminiscencia en un lector de etiquetas múltiples EnVision (Perkin Elmer). Los compuestos en DMSO se diluyeron en medio de crecimiento de modo que la concentración final máxima del compuesto fuera 10 µM, y se realizaron diluciones seriales 4 veces para generar una serie de concentración de 9 puntos. Se añadió 10 µL de solución de compuesto a una concentración final de 10 veces a los pocillos en la segunda placa. Luego, las placas es incubaron durante 120 horas a 37 °C y CO2 al 5 %. El día 7, las placas se retiraron, se agregaron 100 µl de reactivo CellTiter-GIo® a cada pocillo y, luego de mezclar y de una incubación de 10 minutos, la luminiscencia se registró en un lector de etiquetas múltiples EnVision (Perkin Elmer). Los datos se exportaron a GeneData Screener y se modelaron con un modelo de respuesta de concentración sigmoidal para determinar la IC_{50} para la respuesta del compuesto.

No todas las líneas celulares con una mutación de RAS dada pueden ser igualmente sensibles a un inhibidor de RAS que se dirige a esa mutación, debido a una expresión diferencial de transportadores de eflujo, dependencias variables de la activación de la vía de RAS para el crecimiento u otras razones. Esto ha sido ejemplificado por la línea celular KYSE-410 que, pese a tener una mutación de KRAS G12C, es insensible al inhibidor de KRAS G12C (OFF) MRTX-849 (Hallin et al., Cancer Discovery 10:54-71 (2020)), y a la línea celular SW1573, que es insensible al inhibidor de KRAS G12C (OFF) AMG510 (Canon et al., Nature 575:217-223 (2019)).

Si bien la invención se ha descrito en relación con modalidades específicas de esta, se entenderá que es capaz de modificaciones adicionales y esta solicitud está destinada a cubrir cualquier variación, uso o adaptación de la invención siguiendo, en general, los principios de la invención e incluir tales desviaciones de la presente divulgación entran dentro de la práctica conocida o habitual dentro de la técnica a la que pertenece la invención y pueden aplicarse a las características esenciales establecidas en este documento.

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente se incorporan a la presente mediante referencia en su totalidad en la misma medida que si cada publicación, patente o solicitud de patente individual estuviera específica e individualmente indicada para incorporarse mediante referencia en su totalidad.