

1
INHIBIDORES DE RAS

Referencia cruzada a una solicitud relacionada

La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la solicitud estadounidense n.º 63/184,599, presentada el 5 de mayo de 2021, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia.

Antecedentes

La gran mayoría de los fármacos de molécula pequeña actúa uniéndose a un bolsillo funcionalmente importante en una proteína objetivo, modulando así la actividad de dicha proteína. Por ejemplo, los fármacos 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/objetivo sean 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). El otro 90 % actualmente se considera refractario o intratable hacia el descubrimiento antes mencionado de fármacos de moléculas pequeñas.- Dichos objetivos se denominan comúnmente «no tratables con fármaco». Estos objetivos no tratables con fármaco 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 dichos objetivos 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 corriente arriba es común en tumores humanos, y las mutaciones de activación en Ras se encuentran frecuentemente en cánceres humanos. 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

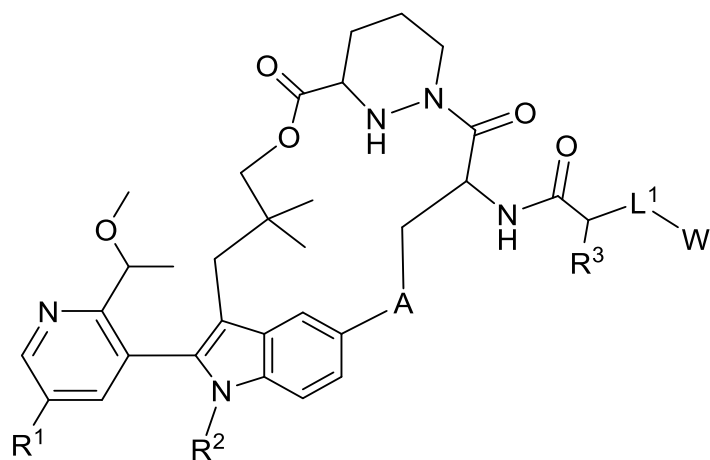
GTP, lo que permite que Ras se active incluso en presencia de concentraciones bajas de este nucleótido. Las mutaciones en los codones 13 (p. ej., G13D) y 61 (p. ej., Q61K) de Ras también son responsables de la actividad oncogénica de algunos cánceres.

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 por descubrir medicinas adicionales para cánceres impulsados por varias mutaciones de Ras.

Compendio

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 objetivo de interés (p. ej., Ras) y una chaperona citosólica expresada ampliamente (proteína presentador) en la célula (p. ej., ciclofilina A). Más específicamente, en algunas modalidades, los inhibidores de Ras descritos en la presente inducen un nuevo bolsillo 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 pretender limitarse a la teoría, los inventores creen que una forma en la que los compuestos de la invención y los complejos, o conjugados, que estos forman logran el efecto inhibidor sobre Ras es mediante oclusión estérica del sitio de interacción entre Ras y moléculas efectoras corriente abajo, como RAF y PI3K, que son necesarios para propagar la señal oncogénica.

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



Fórmula I

donde A es heterocicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileo

de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

L^1 está ausente o es un enlazador;

W es un grupo de reticulación que comprende una vinil cetona, una vinil sulfona, inona, o una alquinil sulfona;

R^1 es hidrógeno, heterocicloalquilo de 3 a 10 miembros opcionalmente sustituido, o heteroalquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido;

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

R^3 es alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1 - C_3 opcionalmente sustituido.

También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la Tabla 1, 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 administrarle 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. Adicionalmente, 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 descripción soporta 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.

Como se usa en la presente, el término «aproximadamente» se usa para indicar que un valor incluye el desvío estándar del error para el dispositivo o método que se emplea para determinar el valor. En determinadas modalidades, el término «aproximadamente» hace referencia a un intervalo de valores comprendido entre 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) con respecto a un valor indicado, a menos que se indique de otro modo o resulte evidente de otro modo a partir del contexto (p. ej., cuando dicho número supere 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 expresiones similares como se usan en la presente, ya sea que se indique explícitamente o no, se refieren a inhibidores de Ras descritos en la presente, incluidos compuestos de Fórmula I y subfórmulas de esta, por ejemplo un compuesto de la Tabla 1, así como sales (p. ej., sales farmacéuticamente aceptables), solvatos, hidratos, estereoisómeros (incluidos atropisómeros) y tautómeros de estos.

La expresión «de tipo salvaje» hace referencia a una entidad que tiene una estructura o una actividad, como se encuentra en un estado o contexto «normal» (en contraste con mutante, enfermo, alterado, etc.).- Los expertos en la técnica apreciarán que los genes y polipéptidos de tipo salvaje suelen existir en múltiples formas diferentes (p. ej., alelos).

Los expertos en la técnica apreciarán que determinados compuestos descritos en la presente pueden existir en uno o más isómeros diferentes (p. ej., estereoisómeros, isómeros geométricos, atropisómeros, tautómeros) o formas isotópicas (p. ej., en las que uno o más átomos se han sustituido con un isótopo diferente del átomo, como hidrógeno sustituido por deuterio). A menos que se indique lo contrario o quede claro por el contexto, se puede entender que una estructura representada ilustra cualquier forma isomérica o isotópica, individualmente o en combinación.

Los compuestos descritos en la presente pueden ser asimétricos (p. ej., con uno o más estereocentros). Se incluyen todos los estereoisómeros, como enantiómeros y diastereómeros, a menos que se indique lo contrario. Los compuestos de la presente descripción que contienen átomos de carbono sustituidos de forma asimétrica pueden aislarse 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, 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

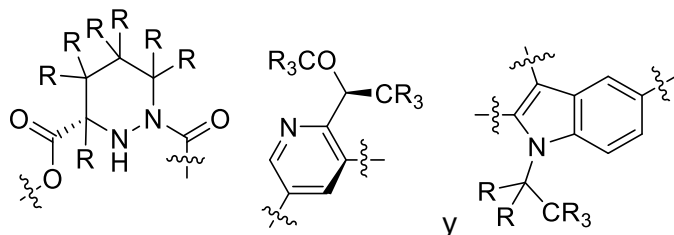
compuestos descritos en la presente, y todos estos isómeros estables se contemplan en la presente descripción. Los isómeros geométricos cis y trans de los compuestos de la presente descripción se describen y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas.

En algunas modalidades, uno o más compuestos descritos en la presente pueden existir en distintas formas tautoméricas. Como resultará evidente a partir del contexto, a menos que se excluya explícitamente, las referencias a dichos compuestos comprenden todas dichas 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. Los 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, como 1H- y 3H-imidazol, 1H-, 2H- y 4H-1,2,4-triazol, 1H- y 2H- isoindol y 1H- y 2H-pirazol. En algunas modalidades, las formas tautoméricas pueden encontrarse en equilibrio o estar bloqueadas estéricamente en una forma mediante una sustitución adecuada. En determinadas modalidades, las formas tautoméricas resultan de la interconversión acetal.

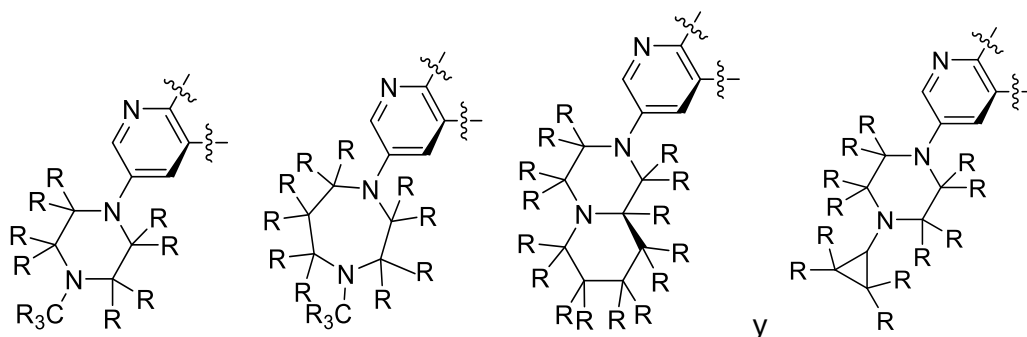
A menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en la presente también pretenden incluir compuestos que difieren solo en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la presente invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro, y yodo, como ^2H , ^3H , ^{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}Cl , ^{123}I y ^{125}I . Los compuestos marcados isotópicamente (por ejemplo, los marcados con ^3H y ^{14}C) pueden ser útiles en los ensayos de distribución de compuesto o sustrato en tejidos. Los isótopos tritiados (es decir, ^3H) y carbono-14 (es decir, ^{14}C) pueden ser útiles por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados como el deuterio (es decir, ^2H) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica (p. ej., vida media in vivo aumentada o requisitos de dosificación reducidos). En algunas modalidades, uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan por ^2H o ^3H , o uno o más átomos de carbono se reemplazan por 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 para estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor del sustrato. Los expertos en la técnica conocen preparaciones de compuestos marcados isotópicamente. 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.

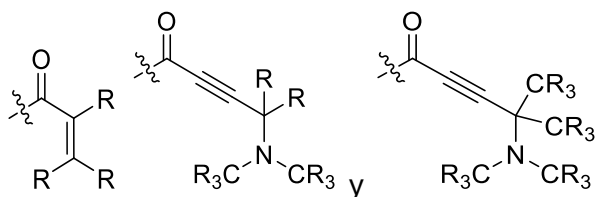
Ejemplos no limitantes de restos que pueden contener una o más sustituciones de deuterio en compuestos de la presente invención, donde cualquier posición "R" puede ser deuterio (D), incluyen



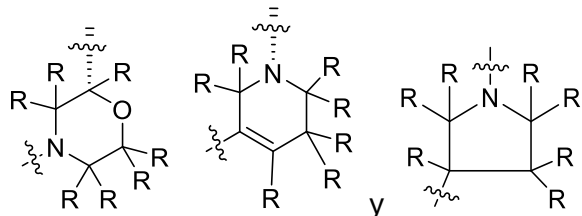
. Ejemplos adicionales incluyen restos tales



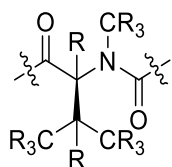
restos de tipo R^1 similares, en donde la definición de R^1 se encuentra en el presente documento (por ejemplo, en compuestos de Fórmula I, Ia, II-5, II-5a, II-6, II-6a, II-6b y II-6c). También se contempla la deuteración de restos dentro del sustituyente W en compuestos de la presente invención, donde W se define en el presente documento (véanse, por ejemplo, las Fórmulas genéricas I y II y sus subfórmulas, así como ejemplos específicos de W descritos en el presente documento, tales como



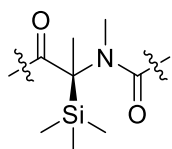
posiciones disponibles en cualquier resto A de compuestos de las Fórmulas descritas en el presente documento, tales como



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



En una modalidad adicional, también se contempla la sustitución por sililación, tal como 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 pueden utilizarse en cualquiera de dichas formas, incluso en cualquier forma sólida. En algunas modalidades, los compuestos descritos o representados en la presente pueden proporcionarse o utilizarse en forma de hidrato o solvato.

En diversos lugares de la presente memoria descriptiva, los sustituyentes de los compuestos de la presente descripción se describen en grupos o en intervalos. Se pretende específicamente que la presente descripción incluya todas y cada una de las subcombinaciones individuales de los miembros de dichos grupos e intervalos. Por ejemplo, se pretende específicamente que el término «alquilo C₁-C₆» divulgue de forma individual metilo, etilo, alquilo C₃, alquilo C₄, alquilo C₅ y alquilo C₆. Además, cuando un compuesto incluye múltiples posiciones en las cuales se describen sustituyentes en grupos o en intervalos, a menos que se indique lo contrario, se pretende que la presente descripción abarque compuestos individuales y grupos de compuestos (p. ej., géneros y subgéneros) que contienen todas y cada una de las subcombinaciones individuales de los miembros en cada posición.

Se pretende que la expresión «X opcionalmente sustituido» (p. ej., «alquilo opcionalmente sustituido») sea equivalente a «X, donde X está opcionalmente sustituido» (p. ej., «alquilo, donde dicho alquilo está opcionalmente sustituido»). No se pretende hacer referencia a que el elemento «X» (p. ej., 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, p. ej., cualquiera de los sustituyentes o grupos descritos en la presente. A menos que se indique de otro modo, un grupo «opcionalmente sustituido» puede tener un sustituyente adecuado en cada posición sustituible del grupo, y cuando se puede sustituir más de una posición en cualquier estructura dada con más de un

sustituyente que se selecciona de un grupo específico, el sustituyente puede ser el mismo o distinto en cada posición. Por ejemplo, en la expresión «alquilo C₁-C₆-heteroarilo C₂-C₉ opcionalmente sustituido», la porción alquilo, la porción heteroarilo o ambas pueden estar opcionalmente sustituidas. Las combinaciones de sustituyentes previstas por la presente descripción son preferentemente aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables o químicamente viables. El término «estable», como se usa en la presente, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones para permitir su producción, detección y, en algunas modalidades, su recuperación, purificación y uso para uno o más de los fines descritos en la presente.

Los sustituyentes monovalentes adecuados en un átomo de carbono sustituible de un grupo «opcionalmente sustituido» pueden ser, independientemente, deuterio; halógeno; $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$; $-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, que puede estar sustituido con R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ que puede estar sustituido con R° ; $-CH=CHPh$, que puede estar sustituido con R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$ -piridilo que puede estar sustituido con R° ; heterocicloalquilo de 4-8 miembros saturado o no saturado (p. ej., piridilo); cicloalquilo de 3-8 miembros saturado o no saturado (p. ej., ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo); $-NO_2$; $-CN$; $-N_3$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$; $-C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}-C(O)-N(R^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}-C(O)-N(R^\circ)-S(O)_2-R^\circ$; $-C(NCN)NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$; $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR^\circ$; $-SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$; $-C(S)NR^\circ_2$; $-C(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$; $-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(O)C(O)R^\circ$; $-C(O)CH_2C(O)R^\circ$; $-C(NOR^\circ)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^\circ$; $-S(O)_2NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)S(O)_2NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)S(O)_2R^\circ$; $-N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(NOR^\circ)NR^\circ_2$; $-C(NH)NR^\circ_2$; $-P(O)_2R^\circ$; $-P(O)R^\circ_2$; $-P(O)(OR^\circ)_2$; $-OP(O)R^\circ_2$; $-OP(O)(OR^\circ)_2$; $-OP(O)(OR^\circ)R^\circ$; $-SiR^\circ_3$; $-(alquileo\ C_{1-4}\ de\ cadena\ lineal\ o\ ramificada)O-N(R^\circ)_2$; o $-(alquileo\ C_{1-4}\ de\ cadena\ lineal\ o\ ramificada)C(O)O-N(R^\circ)_2$, donde cada R° puede estar sustituido como se define a continuación y es independientemente hidrógeno, alifático $-C_{1-6}$, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, $-CH_2$ -(anillo heteroarilo de 5-6 miembros), o un anillo de 3-6-miembros saturado, parcialmente no saturado o arilo que tiene 0-4 heteroátomos, seleccionado independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre o, independientemente de la definición anterior, dos apariciones independientes de R° , tomado junto con su(s) átomo(s) intermedio(s), forman un anillo mono o bicíclico de 3-12-miembros saturado, parcialmente no saturado o arilo que tiene 0-4 heteroátomos que se seleccionan independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, que pueden estar sustituidos como se define a continuación.-

Los sustituyentes monovalentes adecuados en R° (o el anillo formado al tomar dos

apariciones independientes de R° junto con sus átomos intermedios), pueden ser, independientemente,

halógeno, $-(CH_2)_{0-2}R^\bullet$, $-(haloR^\bullet)$, $-(CH_2)_{0-2}OH$, $-(CH_2)_{0-2}OR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^\bullet)_2$, $-O(haloR^\bullet)$, $-CN$, $-N_3$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}SR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}SH$, $-(CH_2)_{0-2}NH_2$,
 5 $-(CH_2)_{0-2}NHR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}NR^\bullet_2$, $-NO_2$, $-SiR^\bullet_3$, $-OSiR^\bullet_3$, $-C(O)SR^\bullet$, $-(alquileo\ C_{1-4}\ de\ cadena\ lineal\ o\ ramificada)C(O)OR^\bullet$, o $-SSR^\bullet$ donde cada $R^\bullet$ está insustituido o, cuando está precedido por «halo», está sustituido solo con uno o más halógenos, y se selecciona independientemente de alifático C_{1-4} , $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, o un anillo arilo de 5-6-miembros saturado, parcialmente insaturado o arilo que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

10 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 los siguientes: $=O$, $=S$, $=NNR^*_2$, $=NNHC(O)R^*$, $=NNHC(O)OR^*$, $=NNHS(O)_2R^*$, $=NR^*$, $=NOR^*$, $-O(C(R^*_2))_{2-3}O-$, o $-S(C(R^*_2))_{2-3}S-$, donde cada aparición independiente de R^* se selecciona de hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define a continuación, o un anillo de 5-6-miembros no sustituido, saturado, parcialmente insaturado o arilo, que tiene 0-4 heteroátomos que se seleccionan independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.
 15 Sustituyentes divalentes adecuados que están unidos a carbonos sustituibles cercanos de un grupo «opcionalmente sustituido» incluyen: $-O(CR^*_2)_{2-3}O-$, donde cada aparición independiente de R^* se selecciona de hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define a continuación, o
 20 un anillo de 5-6-miembros no sustituido, saturado, parcialmente insaturado o arilo que tiene 0-4 heteroátomos que se seleccionan independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

Los sustituyentes adecuados en el grupo alifático de R^* incluyen halógeno, $-R^\bullet$, $-(haloR^\bullet)$, $-OH$, $-OR^\bullet$, $-O(haloR^\bullet)$, $-CN$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR^\bullet$, $-NH_2$, $-NHR^\bullet$, $-NR^\bullet_2$, o $-NO_2$, donde cada $R^\bullet$ está no sustituido o, en los casos en los que está precedido por «halo» está
 25 sustituido únicamente con uno o más halógenos, y es independientemente alifático C_{1-4} , $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6-miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre

Los sustituyentes adecuados en un nitrógeno sustituible de un grupo «opcionalmente sustituido»

30 incluyen $-R^\dagger$, $-NR^\dagger_2$, $-C(O)R^\dagger$, $-C(O)OR^\dagger$, $-C(O)C(O)R^\dagger$, $-C(O)CH_2C(O)R^\dagger$, $-S(O)_2R^\dagger$, $-S(O)_2NR^\dagger_2$, $-C(S)NR^\dagger_2$, $-C(NH)NR^\dagger_2$, o $-N(R^\dagger)S(O)_2R^\dagger$; donde cada $R^\dagger$ es independientemente hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define a continuación, $-OPh$ no sustituido o un anillo de 3-6-miembros no sustituido saturado, parcialmente insaturado, o arilo que tiene 0-4 heteroátomos independientemente seleccionados de nitrógeno, oxígeno o azufre, o, a pesar de la definición
 35 anterior, dos apariciones independientes de $R^\dagger$, tomadas junto con su(s) átomo(s) intermedio(s)

forman un anillo mono o bicíclico de 3-12-miembros insustituido, saturado, parcialmente no saturado o arilo que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

Los sustituyentes adecuados en un grupo alifático de R^+ son independientemente halógeno, $-R^\bullet$, $-(\text{halo}R^\bullet)$, $-\text{OH}$, $-\text{OR}^\bullet$, $-\text{O}(\text{halo}R^\bullet)$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}^\bullet$, $-\text{NR}^\bullet_2$, o $-\text{NO}_2$, donde cada $R^\bullet$ está no sustituido o, en los casos en los que está precedido por «halo» está sustituido únicamente con uno o más halógenos, y es independientemente alifático C_{1-4} , $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6-miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. Los sustituyentes divalentes adecuados en un átomo de carbono saturado de R^+ incluyen $=\text{O}$ y $=\text{S}$.

El término «acetilo», como se usa en la presente, se refiere al grupo $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$.

El término «alcoxi», como se usa en la presente, se refiere a un grupo $-\text{O}$ -alquilo C_{1-20} , 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 de cadena lineal o ramificada 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*- e *iso*-propilo, *n*-, *sec*-, *iso*- y *terc*-butilo y neopentilo.

El término «alquilenio», 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 «alquilenio $\text{C}_x\text{-C}_y$ » representa grupos alquilenio 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 (p. ej., alquilenio $\text{C}_1\text{-C}_6$, $\text{C}_1\text{-C}_{10}$, $\text{C}_2\text{-C}_{20}$, $\text{C}_2\text{-C}_6$, $\text{C}_2\text{-C}_{10}$, o $\text{C}_2\text{-C}_{20}$). En algunas modalidades, el alquilenio 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 monovalentes 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 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», como se usa en la presente, representa grupos monovalentes de

cadena lineal o ramificada de 2 a 20 átomos de carbono (p. ej., de 2 a 4, de 2 a 6 o de 2 a 10 carbonos) que contienen un enlace triple carbono-carbono y se ejemplifica mediante etinilo y 1-propinilo.

El término «alquinil sulfona», como se usa en la presente, representa un grupo que comprende la estructura $\text{--}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{S}}}\text{--}\equiv\text{R}$, donde R es cualquier sustituyente químicamente factible descrito en la presente.

El término «amino», como se usa en la presente, representa $\text{--N(R}^{\dagger})_2$, p. ej., --NH_2 y $\text{--N(CH}_3)_2$.

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., $\text{--CO}_2\text{H}$ o $\text{--SO}_3\text{H}$), donde el aminoácido se une al grupo molecular original mediante la cadena lateral, grupo amino o grupo ácido (p. ej., la cadena lateral). Como se usa 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 $\text{H}_2\text{N--C(H)(R)--COOH}$. 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», como se usa en la presente, representa un sistema de anillo monocíclico, bicíclico o multicíclico monovalente formado por átomos de carbono, 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 «C₀», como se usa en la presente, representa un enlace. Por ejemplo, parte del término $\text{--N(C(O)--(alquilenos C}_0\text{--C}_5\text{--H))--}$ incluye $\text{--N(C(O)--(alquilenos C}_0\text{--H))--}$, que también está representado por --N(C(O)--H)-- .

El término «carbocíclico» y «carbocicilo», como se usan en la presente, se refieren a una

estructura de anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico C_3 - C_{12} opcionalmente sustituido, que puede ser puenteado, fusionado o espirocíclico, donde todos los anillos se forman por átomos de carbono y al menos un anillo es no aromático. Las estructuras carbocíclicas incluyen grupos cicloalquilo, cicloalquenilo y cicloalquinilo. Ejemplos de grupos carbocíclico 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", 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 las contrapartes no protonadas.

Como se usa en la presente, el término «ciano» representa un grupo $-CN$.

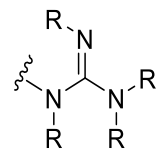
El término «cicloalquilo», como se usa en la presente, representa un grupo hidrocarburo cíclico saturado monovalente, que puede estar puenteado, fusionado o espirocíclico que tiene tres a ocho carbonos de anillo, a menos que se indique de otro modo, y se ejemplifica mediante ciclopropilo, ciclobutilo, 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 puenteado, fusionado o espirocíclico que tiene tres a ocho carbonos de anillo, a menos que se indique de otro modo, 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 especulares entre sí y no pueden superponerse entre sí.

El término «enantiómero», como se usa en la presente, se refiere a cada forma ópticamente activa individual de un compuesto de la invención, con una pureza óptica o exceso enantiomérico (según se determina mediante los métodos estándar en la técnica) de al menos 80 % (es decir, al menos 90 % de un enantiómero y como máximo 10 % del otro enantiómero), preferentemente al menos 90 % y más preferentemente al menos 98 %.

El término «guanidinilo» hace referencia a un grupo que tiene la estructura:



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 donde al menos uno de los hidrógenos puede remplazarse con un halógeno.

5 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.

10 El término «heteroalquilo», como se usa en la presente, se refiere a un grupo «alquilo», como se define en la presente, 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.

15 El término «heteroarilo», 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 π en el sistema del anillo monocíclico o policíclico y contiene al menos un heteroátomo de anillo que se selecciona de N, O, o S en ese anillo aromático. Ejemplos de grupos heteroarilo 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 «heteroarilo» incluye grupos bicíclicos, 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. Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, de modo no taxativo, piridilo, pirazolilo, benzooxazolilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, imidazolilo, 20 tiazolilo, quinolinilo, tetrahydroquinolinilo 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 algunas modalidades, el heteroarilo se sustituye con 1, 2, 3 o 4 grupos sustituyentes.

25 El término «heterocicloalquilo», como se usa en la presente, representa un sistema de anillo monocíclico, bicíclico o policíclico monovalente, que puede ser puenteado, fusionado o espirocíclico, donde al menos un anillo es no aromático y 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 puenteada donde uno o más carbonos o heteroátomos forman puentes entre dos miembros no adyacentes de un anillo monocíclico, p. ej., un grupo quinuclidinilo.- El término «heterocicloalquilo» incluye grupos bicíclicos, tricíclicos y tetracíclicos en los que cualquiera de los 35 anillos heterocíclicos anteriores está fusionado con uno o más anillos aromáticos, carbocíclicos,

heteroaromáticos o heterocíclicos, p. ej., un anillo arilo, un anillo ciclohexano, un anillo ciclohexeno, un anillo ciclopentano, un anillo ciclopenteno, un anillo piridina o un anillo pirrolidina. Ejemplos de grupos heterocicloalquilo son pirrolidinilo, piperidinilo, 1,2,3,4-tetrahidroquinolinilo, decahidroquinolinilo, dihidropirrollopiridina y decahidronafhiridinilo. Un anillo heterocicloalquilo 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 «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, como isómeros de enlace doble (es decir, isómeros E/Z geométricos) o diastereómeros (p. ej., enantiómeros (es decir, isómeros (+) o (-)) o 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 los compuestos de la invención se pueden resolver comúnmente en sus enantiómeros o estereoisómeros componentes mediante métodos conocidos, como cromatografía de gases de fase quiral, cromatografía líquida de alto rendimiento de fase quiral, cristalización del compuesto como un complejo de sales quirales o cristalización del compuesto en un solvente 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 el presente documento, 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 de reticulación). En algunas modalidades, el enlazador da como resultado un compuesto capaz de lograr una IC₅₀ de 2 μ M o menos en el protocolo de ensayo de alteración Ras-RAF proporcionado en los ejemplos siguientes y proporcionado aquí:

El objetivo de este ensayo bioquímico es medir la capacidad de los compuestos de prueba de facilitar la formación de complejo ternario entre una isoforma 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 Ras a través de un efector RAF.

En un amortiguador de ensayo que contiene 25 mM de HEPES pH 7,3, Tween20 al 0,002 %, BSA al 0,1 %, 100 mM de NaCl y 5 mM de MgCl₂, Ciclofilina A sin etiqueta, 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 alofococianina se agrega luego a los pocillos de muestra de ensayo 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 formas isoméricas, así como conformacionales, distintas posibles que puede poseer un compuesto (p. ej.,

un compuesto de cualquier fórmula descrita en la presente), en particular, todas las formas estereoquímicamente y conformacionalmente isoméricas posibles, todos los diastereómeros, enantiómeros o confórmeros de la estructura molecular básica, inclusive atropisómeros. Algunos compuestos de la presente invención pueden existir en distintas formas tautoméricas, las cuales están incluidas en el alcance de la presente invención.

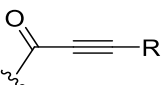
El término «sulfonilo», como se usa en la presente, representa un grupo $-S(O)_2-$.

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 , donde R es cualquier sustituyente químicamente factible descrito en la presente.

Los expertos en la técnica, al leer la presente descripción, comprenderán que ciertos compuestos descritos en la presente pueden proporcionarse o utilizarse en cualquiera de una variedad de formas como, por ejemplo, formas de sal, formas protegidas, formas de profármaco, formas de éster, formas isoméricas (p. ej., isómeros ópticos o estructurales), formas isotópicas, etc.- En algunas modalidades, la referencia a un compuesto particular puede relacionarse a 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, una preparación de un solo estereoisómero de un compuesto puede considerarse una forma del compuesto distinta a una mezcla racémica del compuesto; una sal particular de un compuesto puede considerarse una forma diferente de otra forma de sal del compuesto; una preparación que contiene un isómero de conformación ((Z) o (E)) de un enlace doble puede considerarse una forma diferente del compuesto que contiene el otro isómero de conformación ((E) o (Z)) del enlace doble; una preparación en la que uno o más átomos son un isótopo diferente al que está presente en una preparación de referencia puede considerarse una forma diferente.

Breve descripción de las figuras

Las FIG. 1A y 1B: Análisis de pares coincidentes de potencias de determinados compuestos de la presente invención (Fórmula BB) (puntos a la derecha) y compuestos correspondientes de Fórmula AA (puntos a la izquierda) donde un H se reemplaza con (S)Me en el contexto de dos ensayos basados en células diferentes. Los ejes y representan pERK EC50 (FIG. 1A) o CTG IC50

(FIG. 1B) según se mide en una línea celular H358.

FIG. 2A-2C: Trazas de HPLC que muestran que un compuesto de Fórmula AA da diastereómeros inseparables que tienen tiempos de retención de 11,233 minutos y 11,346 minutos (FIG. 2A). Por el contrario, la adición de un grupo metilo para formar un compuesto de Fórmula BB permite una fácil separación de los diastereómeros, teniendo un diastereómero un tiempo de retención de 11,364 minutos (FIG. 2B) y el otro diastereómero teniendo un tiempo de retención de 10,045 minutos (FIG. 2C). La estructura de los compuestos se muestra encima de cada traza de HPLC.

Descripción detallada

Compuestos

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 objetivo de interés (p. ej., Ras) y una chaperona citosólica expresada ampliamente (proteína presentador) en la célula (p. ej., ciclofilina A). Más específicamente, en algunas modalidades, los inhibidores de Ras descritos en la presente inducen un nuevo bolsillo 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 pretender limitarse a la teoría, los inventores creen que una forma en la que los compuestos de la invención y los complejos, o conjugados, que estos forman logran el efecto inhibidor sobre Ras es mediante oclusión estérica del sitio de interacción entre Ras y moléculas efectoras corriente abajo, como RAF, que son necesarios para propagar la señal oncogénica.

Sin pretender limitarse a la 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., una cadena lateral sulfhidrilo de la cisteína en la posición 12 o 13 de una proteína Ras mutante). También pueden formarse aductos covalentes con otras cadenas laterales de Ras. De manera adicional o alternativa, las interacciones no covalentes podrían tener que ver: por ejemplo, interacciones van der Waals, hidrofóbicas, hidrofílicas y de enlace de hidrógeno, y combinaciones de estos, 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).

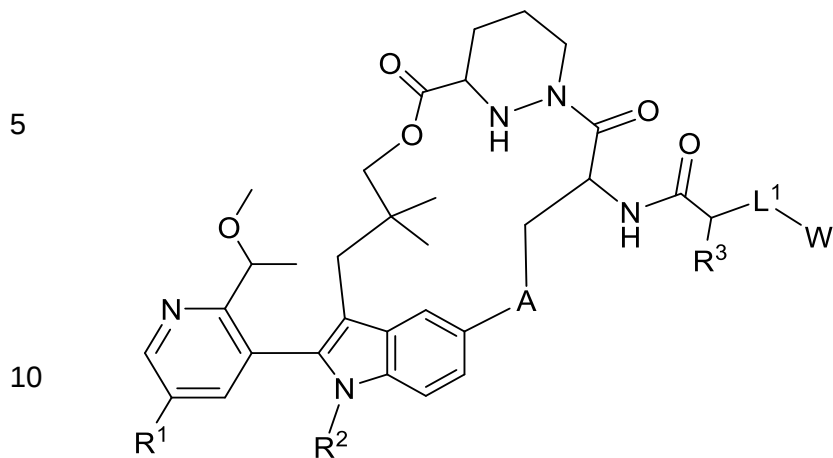
Los métodos para determinar la formación de aductos covalentes son conocidos en la técnica. Un método para determinar la formación de aductos covalentes es realizar un ensayo de «reticulación», como en estas condiciones (*Nota – el siguiente protocolo describe un procedimiento para monitorear la reticulación de un K-Ras G12C (GMP-PNP) a un compuesto de la invención. Este protocolo puede también ejecutarse sustituyendo otras proteínas Ras o nucleótidos*).

El propósito de este ensayo bioquímico es medir la capacidad de los compuestos de prueba para etiquetar las isoformas K-Ras cargadas con *nucleótidos*. En amortiguador de ensayo que contiene 12,5 mM HEPES pH 7,4, 75 mM NaCl, 1 mM MgCl₂, 1 mM BME, 5 μM Ciclofilina A y 2 μM compuesto de prueba, una solución 5 μM de K-Ras (1-169) G12C cargado con GMP-PNP se diluyó 10 veces para proporcionar una concentración final de 0,5 μM; con volumen de muestra final de 100 μL.

La muestra se incubó a 25 °C durante un período de tiempo de hasta 24 horas antes de inactivarse por la adición de 10 μL de 5% ácido fórmico. Las muestras inactivadas se centrifugan a 15000 rpm durante 15 minutos en una centrífuga de laboratorio antes de inyectar una alícuota de 10 μL en una columna C4 de fase inversa y eluyendo en el espectrómetro de masas con un gradiente de acetonitrilo en la fase móvil. El análisis de datos sin procesar puede llevarse 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.

En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención inhiben más potentemente K-Ras G12C frente a K-Ras G13C. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención inhiben más potentemente K-Ras G13C frente a K-Ras G12C. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención inhiben más potentemente K-Ras G13C frente a compuestos conocidos en la técnica. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención reticulan K-Ras G12C en mayor grado que K-Ras G13C. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención reticulan K-Ras G13C en mayor grado que K-Ras G12C. Por ejemplo, en algunas modalidades, los compuestos de la presente invención no demuestran reticulación de G12C mientras que exhiben un 100 % de reticulación de G13C. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención no demuestran reticulación de G13C mientras que exhiben un 100 % de reticulación de G12C. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención reticulan K-Ras G13C en mayor grado que en compuestos conocidos en la técnica. La preferencia por dirigirse a mutantes Ras G13C frente a otros mutantes Ras (es decir, G12C) por parte de ciertos compuestos de la presente invención se debe típicamente, al menos en parte, a la naturaleza del enlazador (por ejemplo, L¹), particularmente a la longitud del enlazador.

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



Fórmula I,

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;

L¹ está ausente o es un enlazador;

W es un grupo de reticulación que comprende una vinil cetona, una vinil sulfona, inona, o una alquinil sulfona;

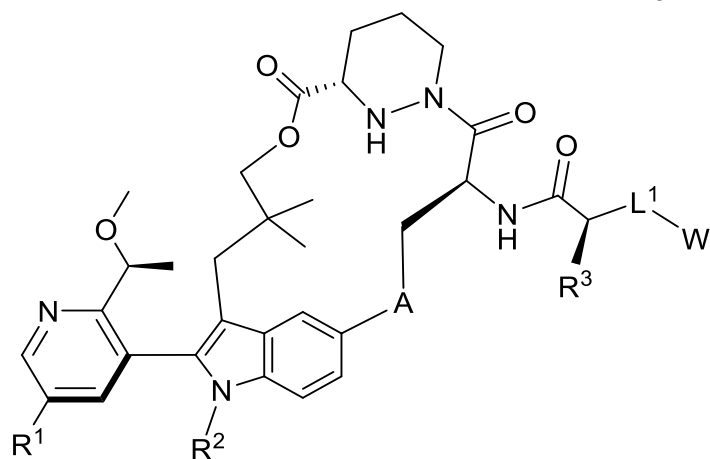
R¹ es hidrógeno, heterocicloalquilo de 3 a 10 miembros opcionalmente sustituido, o heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido;

R² es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido; y

R³ es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido o heteroalquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, W es un grupo de reticulación que comprende una vinilcetona, vinilsulfona o una inona.

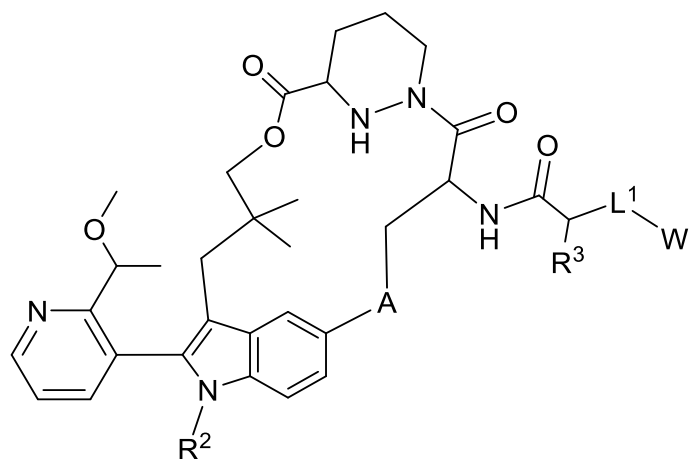
En algunas modalidades, en la presente se proporciona un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, con la estructura de Fórmula Ia:



Fórmula Ia.

En algunas modalidades de compuestos de la presente invención, A es tiazol opcionalmente sustituido, oxazol opcionalmente sustituido, morfolino opcionalmente sustituido, pirrolidinilo opcionalmente sustituido, piridilo opcionalmente sustituido, azetidinilo opcionalmente sustituido, pirazinilo opcionalmente sustituido, pirimidina opcionalmente sustituida, piperidinilo opcionalmente sustituido, oxadiazol, tiadiazol opcionalmente sustituido, triazol opcionalmente sustituido, tiomorfolino opcionalmente sustituido o fenilo opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, la descripción presenta un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable de este, de Fórmula estructural II-1:

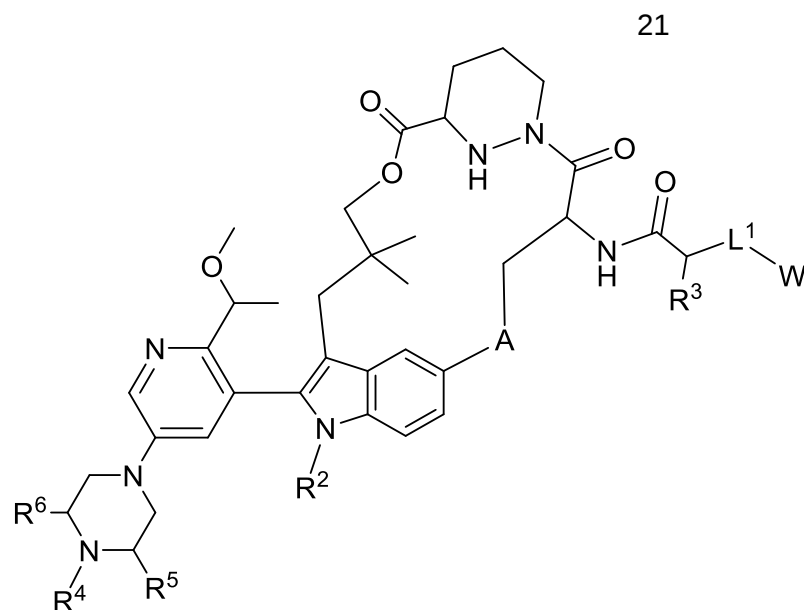


Fórmula II-1.

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

5

10



Fórmula II-2,

15

en donde R^4 , R^5 , y R^6 se seleccionan cada uno independientemente de 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

20

R^4 y R^5 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

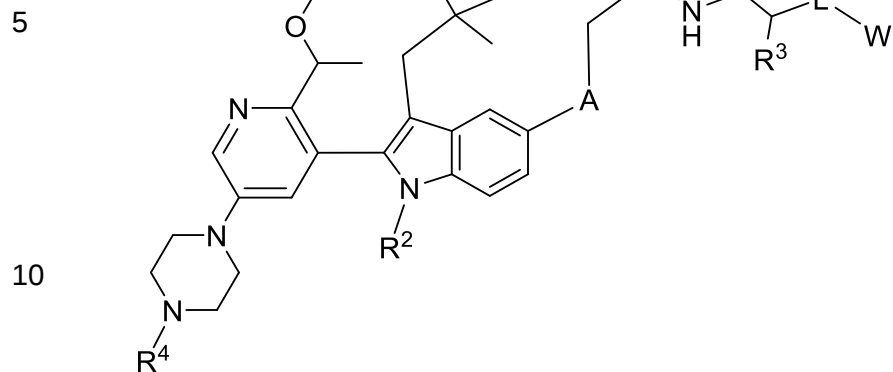
R^4 y R^6 se combinan con los átomos a los que están unidos para formar un cicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido o un heterocicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido.

25

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

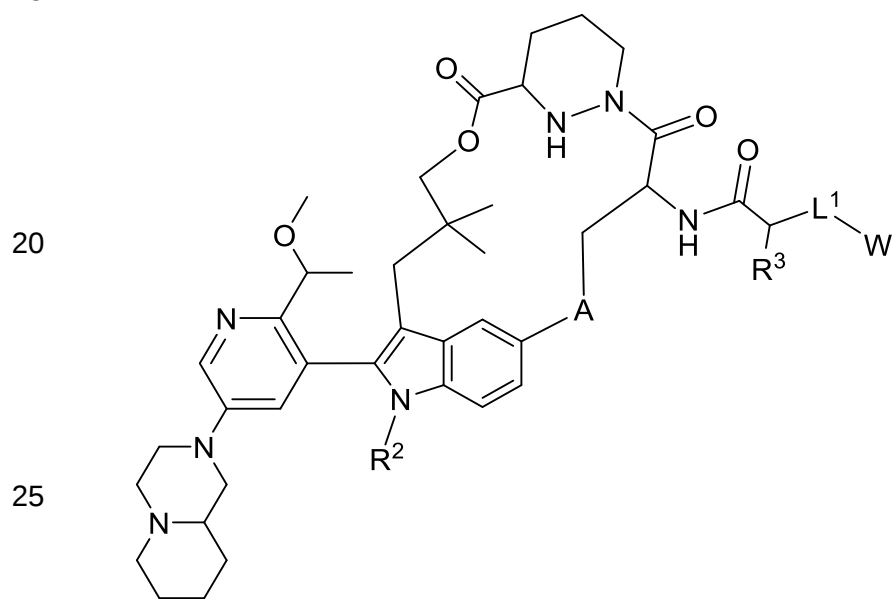
30

35



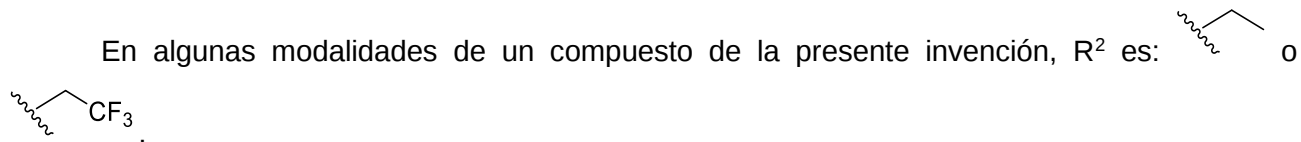
Fórmula II-3.

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



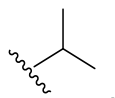
Fórmula II-4.

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



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:



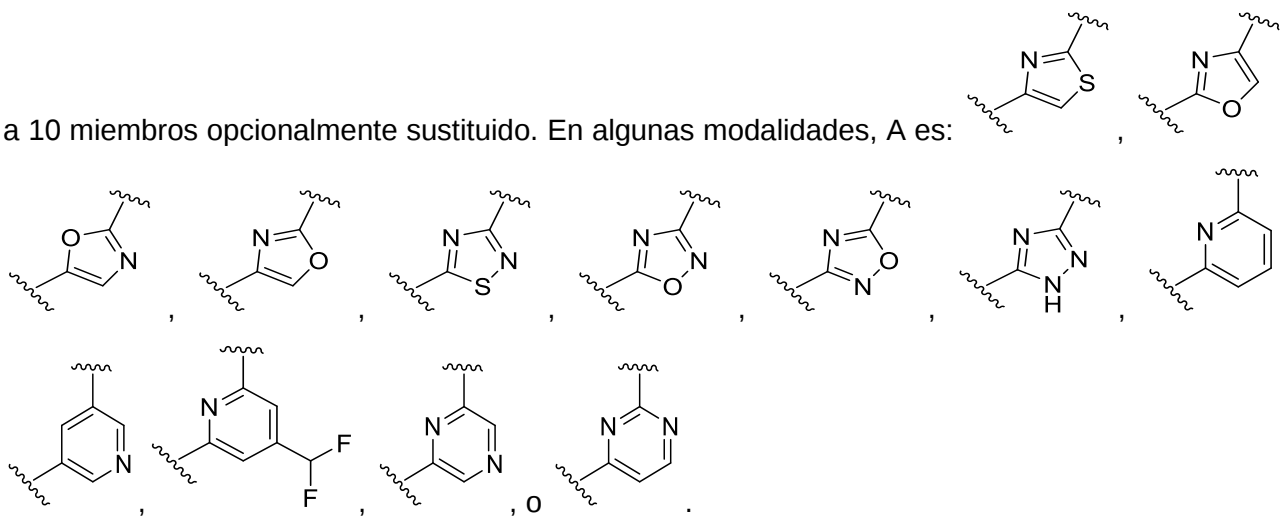
En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, R^3 es heteroalquilo C_1 -

C_3 opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, R^3 es:

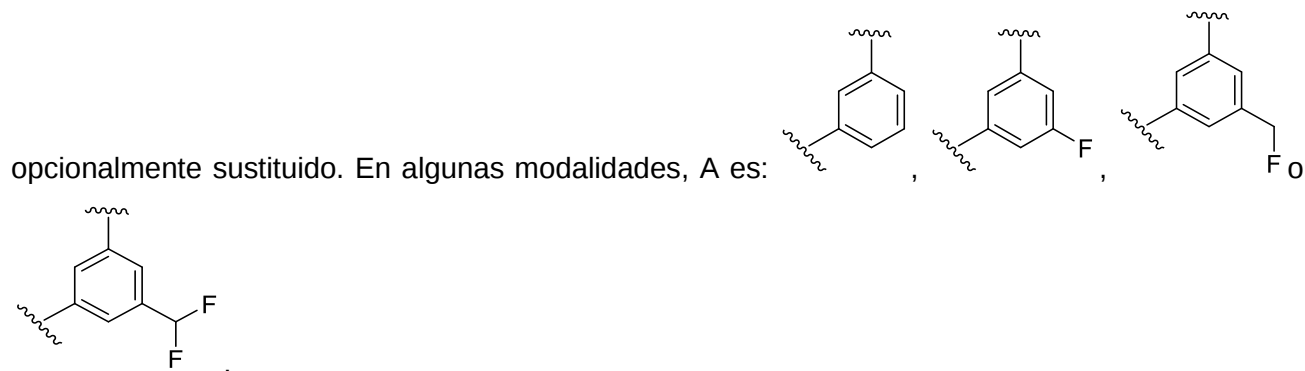


En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, A es heteroarileno de 5

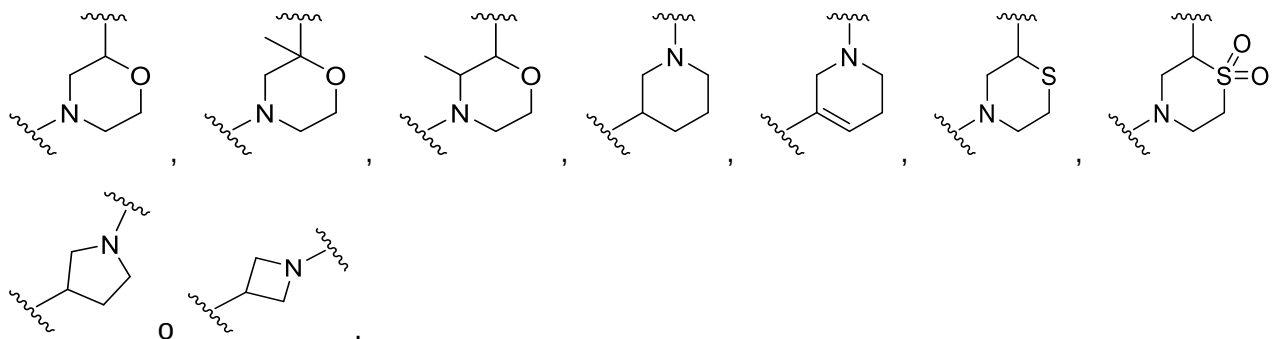
a 10 miembros opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, A es:



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

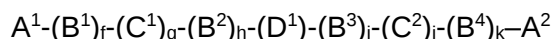


En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, A es heterocicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, A se selecciona entre los siguientes, o uno de sus estereoisómeros:



En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, el enlazador tiene la

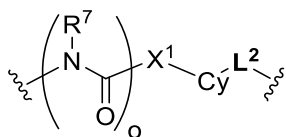
estructura de Fórmula III:



Fórmula III

en donde A^1 es un enlace entre el enlazador y $CH(R^3)$; A^2 es un enlace entre W y el enlazador; cada uno de B^1 , B^2 , B^3 , y B^4 , independientemente, se selecciona de alquileno C_1-C_2 opcionalmente sustituido, heteroalquileno C_1-C_3 opcionalmente sustituido, O, S, y NR^N ; R^N es, independientemente, hidrógeno, alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido, alquenilo C_2-C_4 opcionalmente sustituido, alquinilo C_2-C_4 opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 3 a 14 miembros opcionalmente sustituido, arilo de 6 a 10 miembros opcionalmente sustituido, o heteroalquilo C_1-C_7 opcionalmente sustituido; C^1 y C^2 se selecciona cada uno, independientemente, de carbonilo, tiocarbonilo, sulfonilo o fosforilo; f, g, h, i, j, y k son cada uno, independientemente, 0 o 1; y D^1 es alquileno C_1-C_{10} opcionalmente sustituido, alquenileno C_2-C_{10} opcionalmente sustituido, alquinileno C_2-C_{10} opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno de 3 a 14 miembros opcionalmente sustituido, heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileno de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 a 10 miembros opcionalmente sustituido, polietilen glicoleno C_2-C_{10} opcionalmente sustituido, o heteroalquileno C_1-C_{10} opcionalmente sustituido, o un enlace químico que enlaza $A^1-(B^1)_f-(C^1)_g-(B^2)_h-$ a $-(B^3)_i-(C^2)_j-(B^4)_k-A^2$.

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, el enlazador es o comprende un resto cíclico. En algunas modalidades, el enlazador tiene la estructura de Fórmula IIIa:



Fórmula IIIa,

donde o es 0 o 1;

R^7 es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquileno de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido, o heterocicloalquileno de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido;

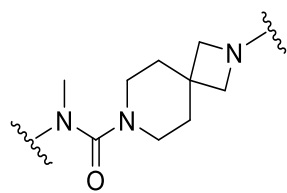
X^1 está ausente, alquileno C_1-C_4 opcionalmente sustituido, O, NCH_3 , o heteroalquileno C_1-C_4 opcionalmente sustituido;

Cy es cicloalquileno de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno de 3 a 12 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 a 10 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido; y

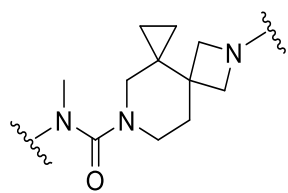
L^2 está ausente, es $-SO_2-$, $-NH-$, alquileno C_1-C_4 opcionalmente sustituido, heteroalquileno C_1-C_4 opcionalmente sustituido o heterocicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, el enlazador se selecciona entre, o un estereoisómero de este:

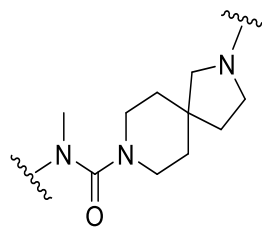
5



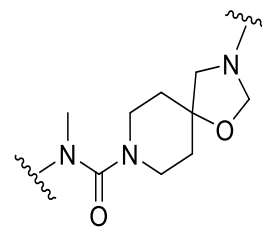
,



,

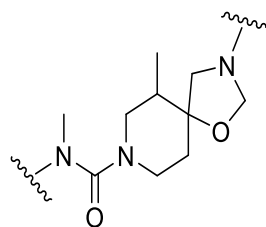


,

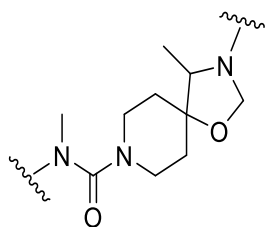


,

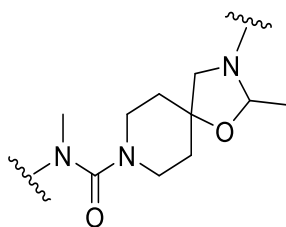
10



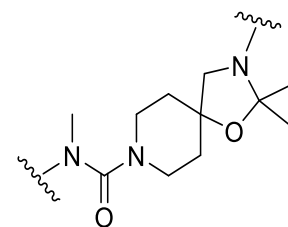
,



,

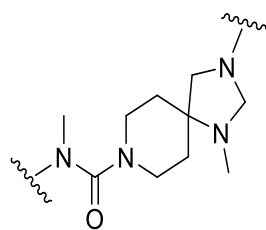


,

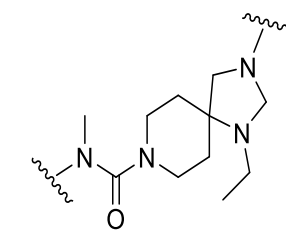


,

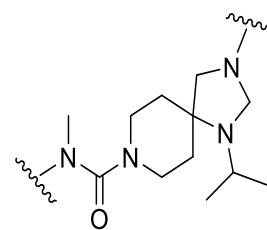
15



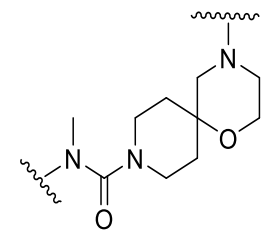
,



,

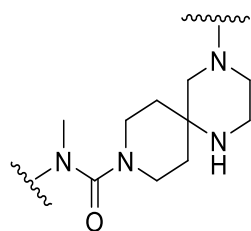


,

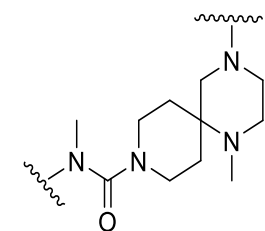


,

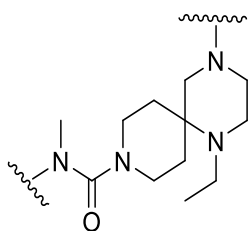
20



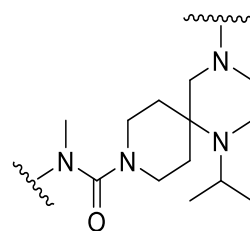
,



,

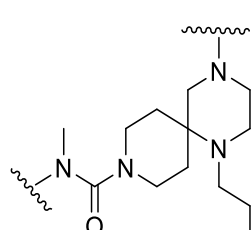


,

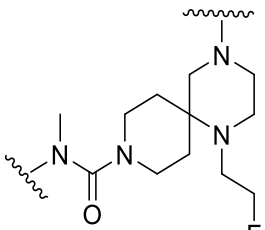


,

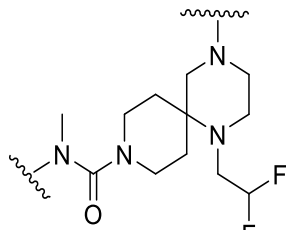
25



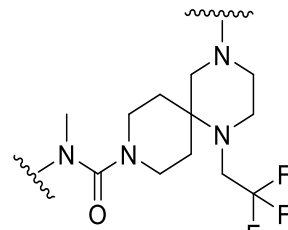
,



,

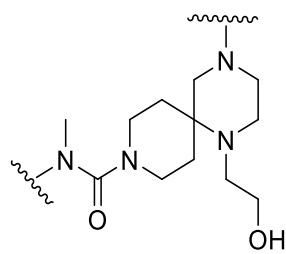


,

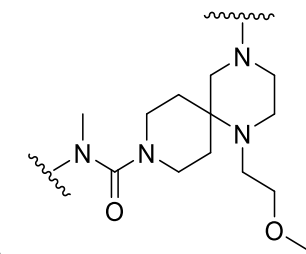


,

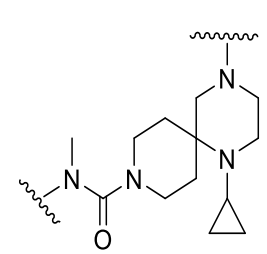
30



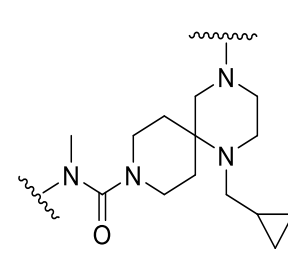
,



,



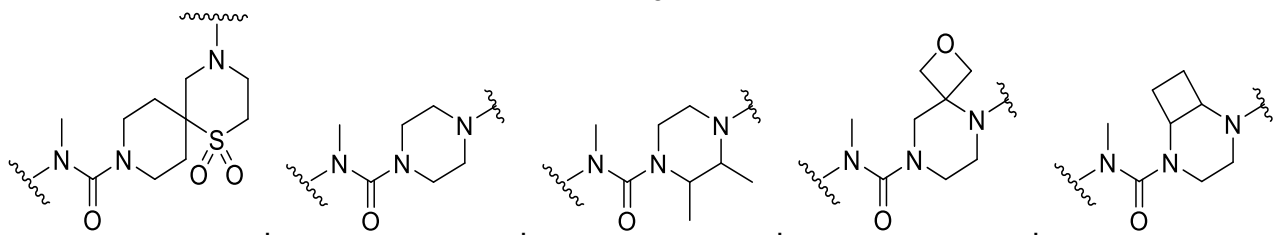
,



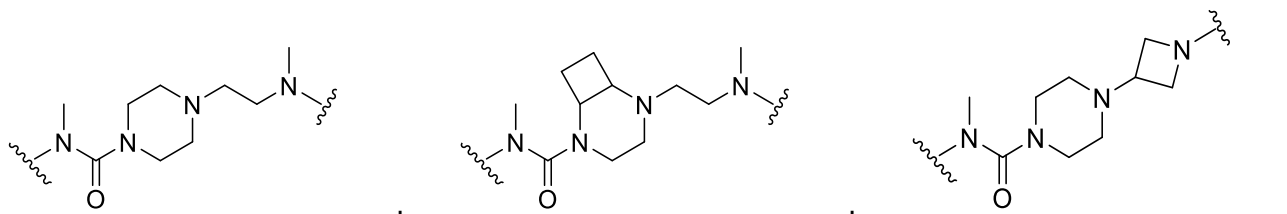
,

35

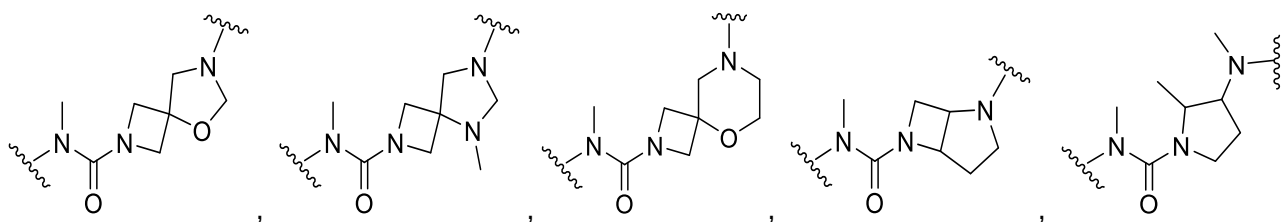
5



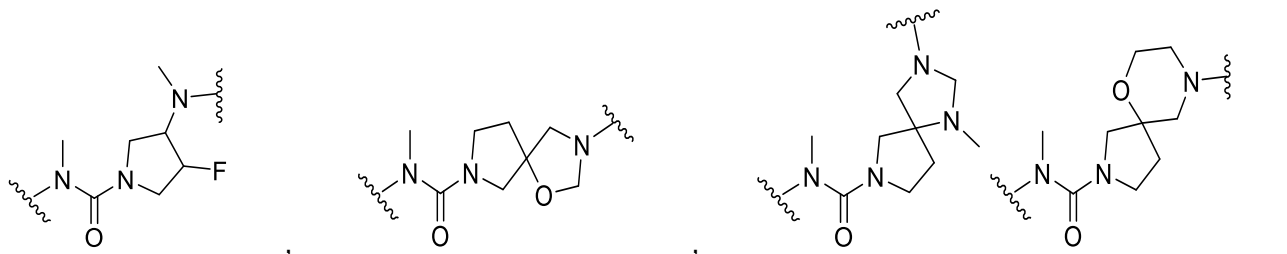
10



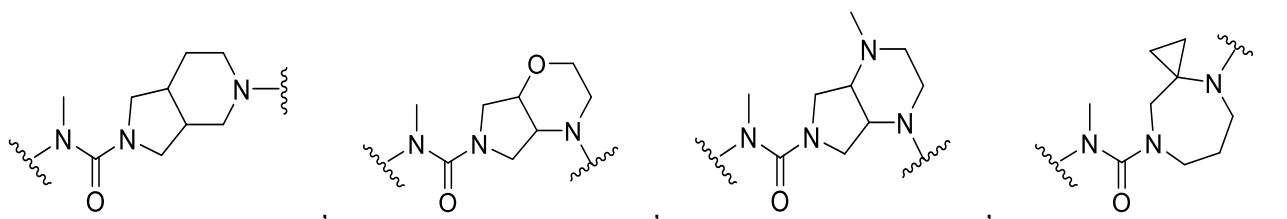
15



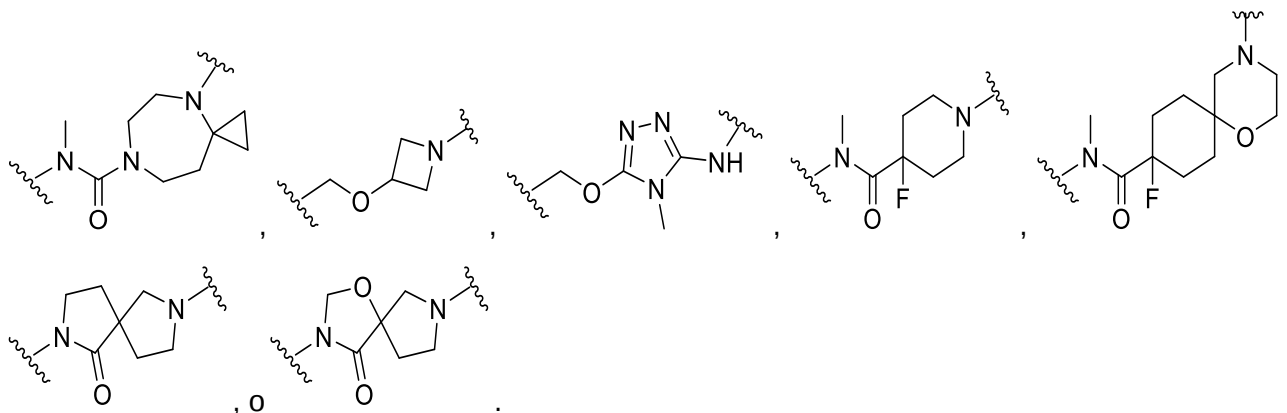
20



25

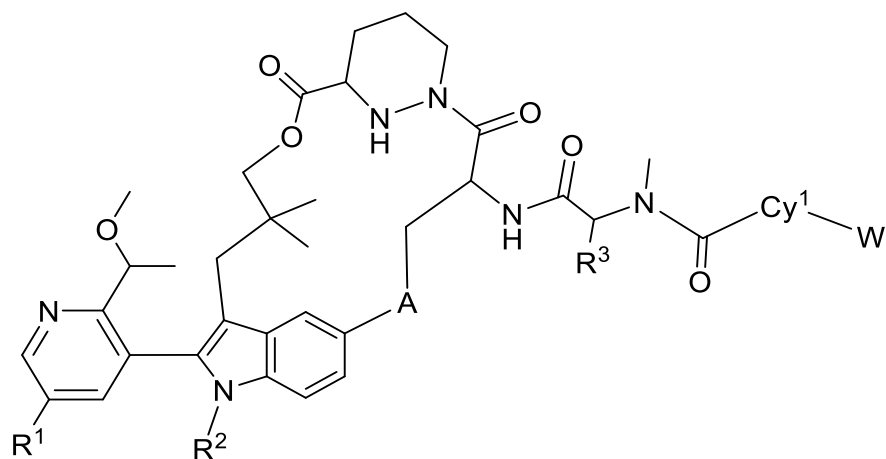


30



35

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de la
Fórmula II-5 o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



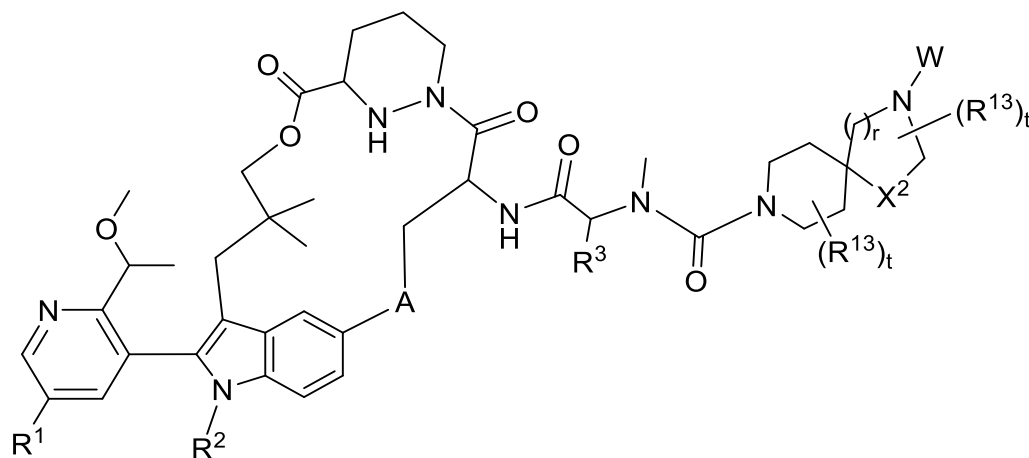
Fórmula II-5,

en donde Cy^1 es heterocicloalquileo espirocíclico de 8 a 11 miembros opcionalmente sustituido o heterocicloalquileo bicíclico de 7 a 9 miembros opcionalmente sustituido; y

en donde W comprende una vinil cetona o una vinil sulfona.

En algunas modalidades, Cy^1 es heterocicloalquileo de 10 a 11 miembros opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de Fórmula II-5a:



Fórmula II-5a,

en donde X^2 es O, $C(R^{11})_2$, NR^{12} , S, o SO_2 .

r es 1 o 2;

cada t es independientemente 0, 1 o 2;

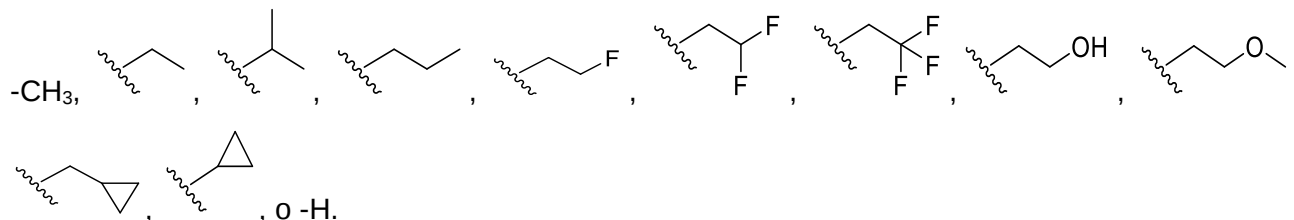
R^{11} y R^{12} son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo C_1 - C_4 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_2 - C_4 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 5 miembros opcionalmente sustituido; y

cada R^{13} es independientemente, $-CH_3$.

En algunas modalidades, r es 1. En algunas modalidades, r es 2. En algunas modalidades, X^2 es O. En algunas modalidades, X^2 es S. En algunas modalidades, X^2 es SO_2 .

En algunas modalidades, X^2 es NR^{12} . En algunas modalidades, R^{12} se selecciona entre, o un estereoisómero de este:

5

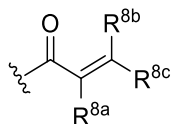


10

En algunas modalidades, X^2 es $C(R^{11})_2$. En algunas modalidades, cada R^{11} es hidrógeno.

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, W es un grupo de reticulación que comprende una vinilcetona. En algunas modalidades, W tiene la estructura de Fórmula IVa:

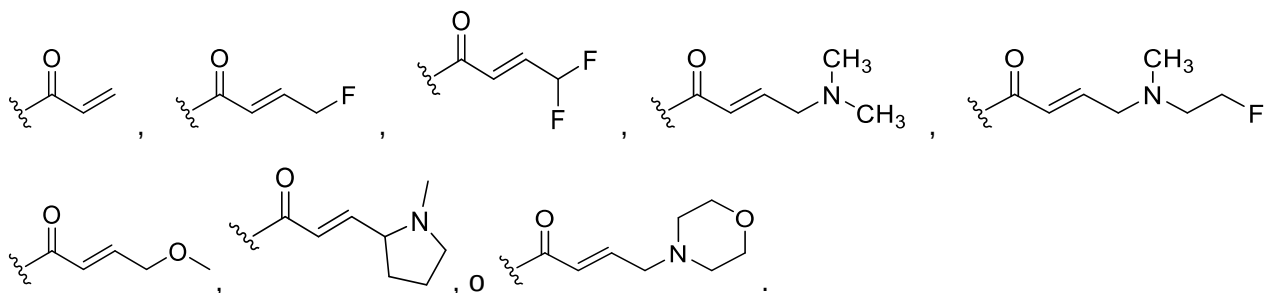
15



Fórmula IVa,

donde R^{8a} , R^{8b} , y R^{8c} son, independientemente, hidrógeno, -CN, halógeno o alquilo $-C_1-C_3$ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de -OH, alquilo $-O-C_1-C_3$, $-NH_2$, $-NH(\text{alquilo } C_1-C_3)$, $-N(\text{alquilo } C_1-C_3)_2$, o un heterocicloalquilo saturado de 4 a 7 miembros. En algunas modalidades, W se selecciona entre, o un estereoisómero de este:

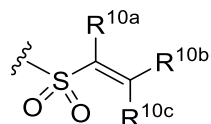
20



25

En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, W es un grupo de reticulación que comprende una vinilsulfona. En algunas modalidades, W tiene la estructura de Fórmula IVc:

30

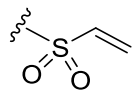


Fórmula IVc,

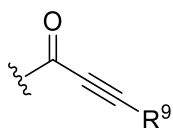
donde R^{10a} , R^{10b} , y R^{10c} son, independientemente, hidrógeno, -CN, o alquilo $-C_1-C_3$

35

opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de -OH, alquilo -O-C₁-C₃, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₃), -N(alquilo C₁-C₃)₂, o un heterocicloalquilo saturado de 4 a 7 miembros. En algunas modalidades, W es:

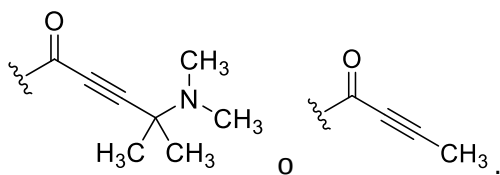


En algunas modalidades de un compuesto de la presente invención, W es un grupo de reticulación que comprende una inona. En algunas modalidades, W tiene la estructura de Fórmula IVb:

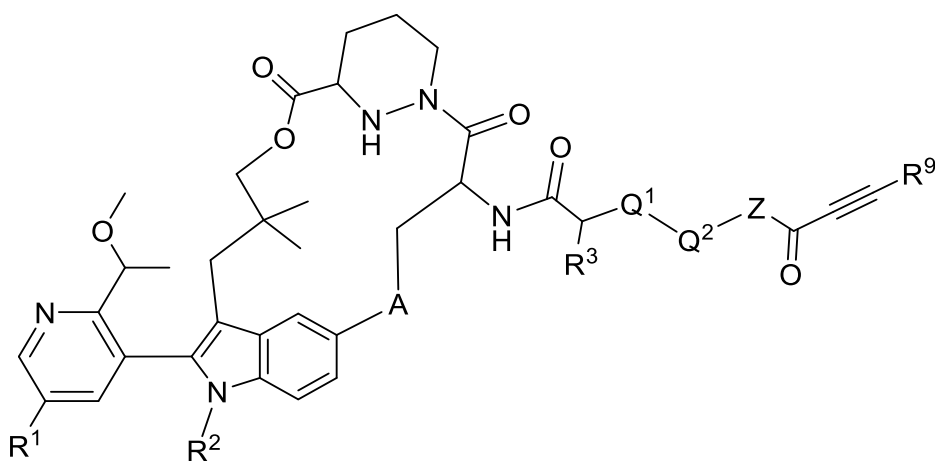


Fórmula IVb,

donde R⁹ es hidrógeno, alquilo -C₁-C₃ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de -OH, -O-alquilo C₁-C₃, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₃), -N(alquilo C₁-C₃)₂, o un cicloalquilo saturado de 4 a 7 miembros, o un heterocicloalquilo saturado de 4 a 7 miembros. En algunas modalidades, W se selecciona de:



En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de Fórmula II-6:



Fórmula II-6

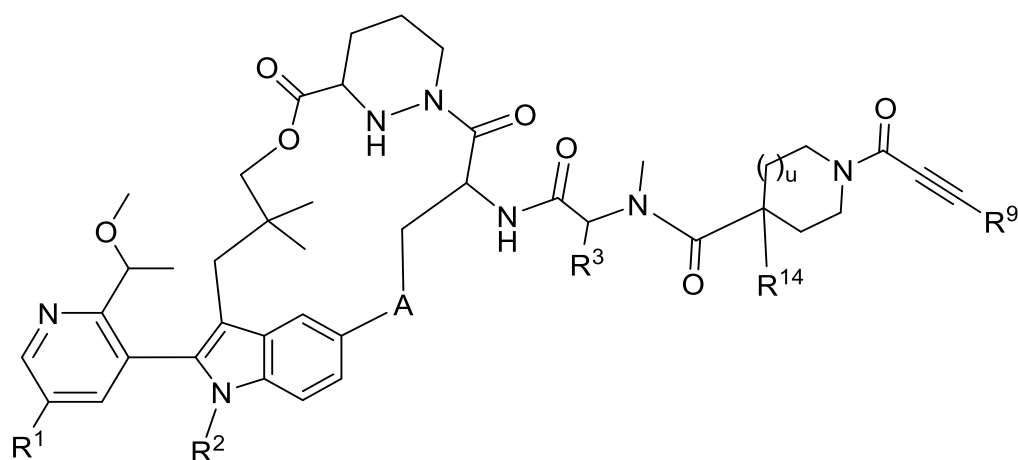
en donde Q¹ es CH₂, NR^N, u O;

Q² es CO, NR^N, u O; y

Z es heterocicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido; o

en donde Q¹-Q²-Z es un heterocicloalquileo espirocíclico de 9 a 10 miembros opcionalmente sustituido.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de Fórmula II-6a:



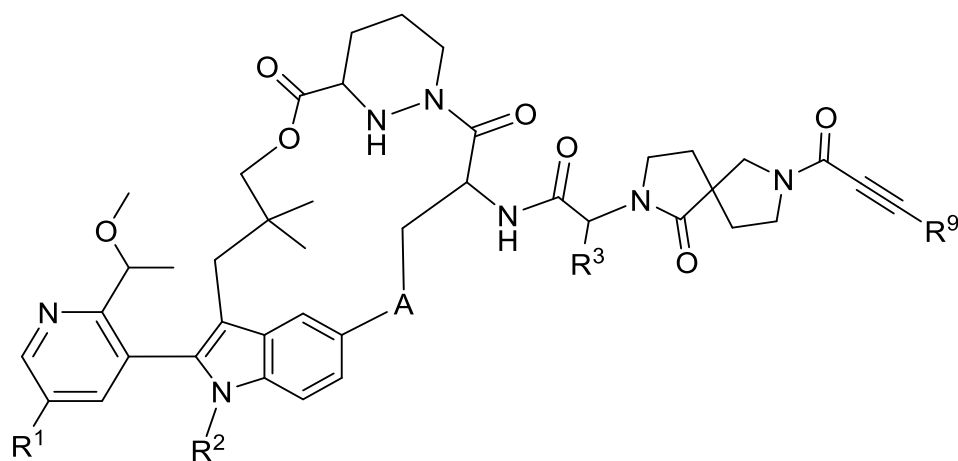
Fórmula II-6a,

en donde R¹⁴ fluoro, hidrógeno o alquilo C₁-C₃; y

u es 0 o 1.

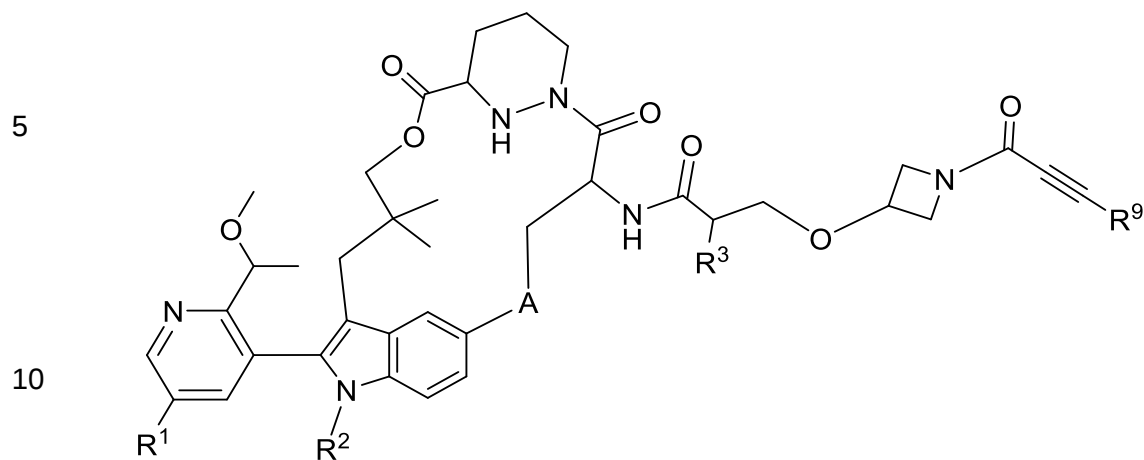
En algunas modalidades R¹⁴ es fluoro y u es 1. En algunas modalidades, R¹⁴ es hidrógeno y u es 0.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de Fórmula II-6b:



Fórmula II-6b.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención tiene la estructura de
Fórmula II-6c:



Fórmula II-6c.

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. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A1		A105	
A2		A106	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A3		A107	
A4		A108	
A5		A109	
A6		A110	
A7		A111	

5

10

15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A8		A112	
A9		A113	
A10		A114	
A11		A115	
A12		A116	

5

10

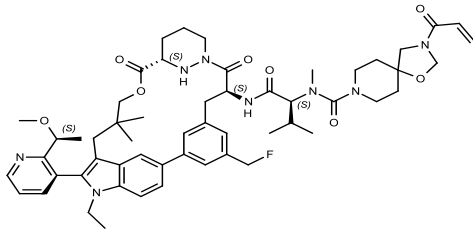
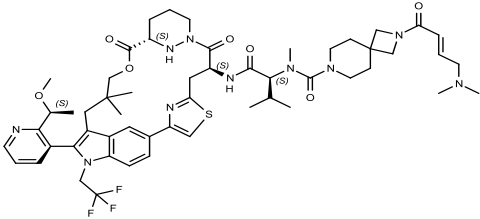
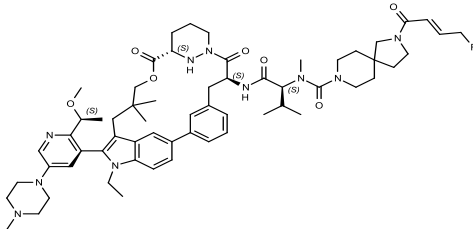
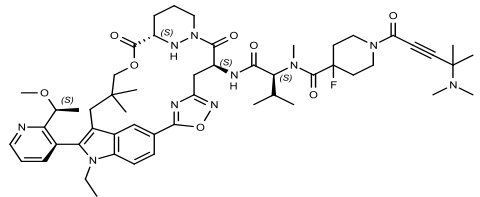
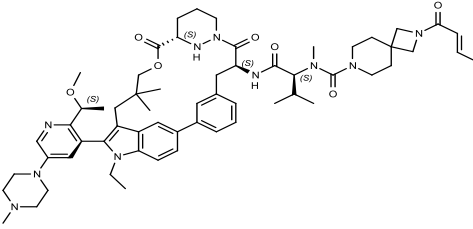
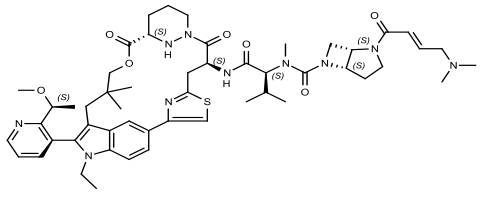
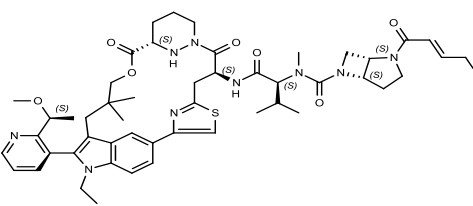
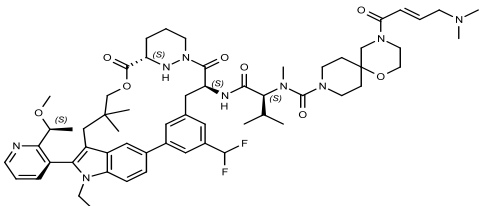
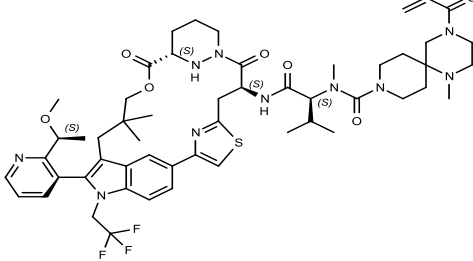
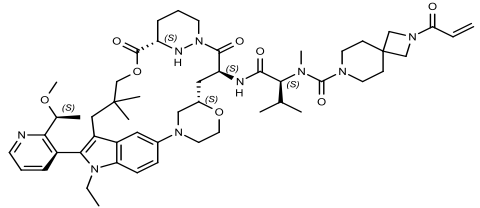
15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A13		A117	
A14		A118	
A15		A119	
A16		A120	
A17		A121	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A18		A122	
A19		A123	
A20		A124	
A21		A125	
A22		A126	

5

10

15

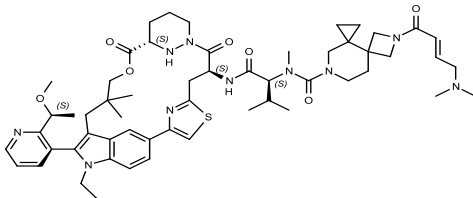
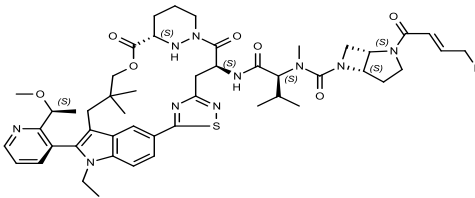
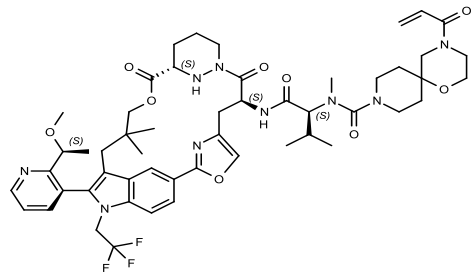
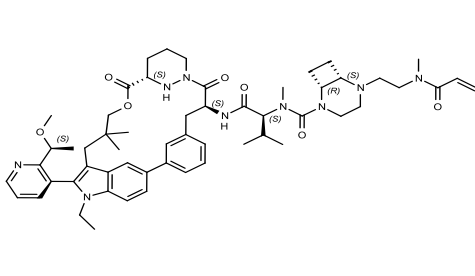
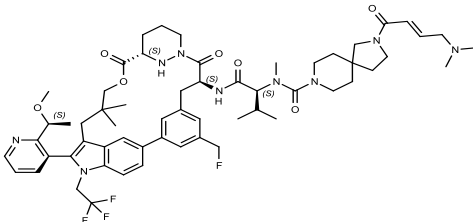
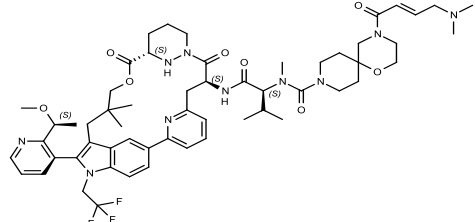
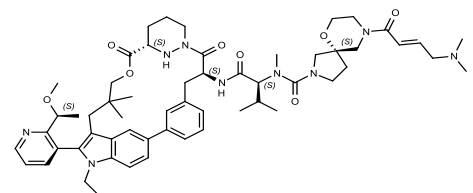
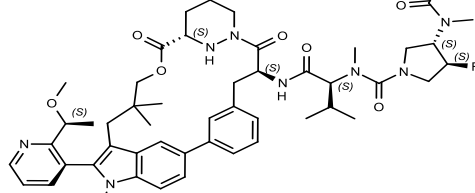
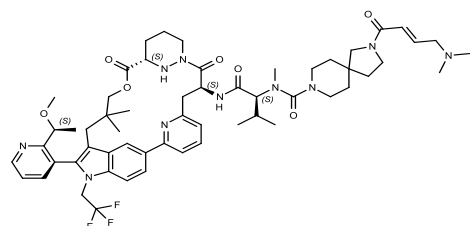
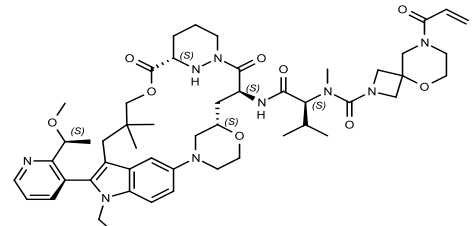
20

25

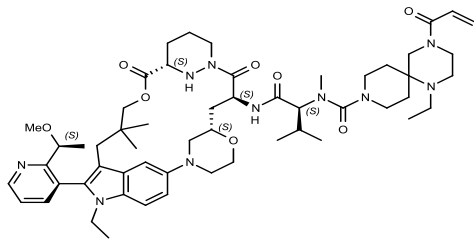
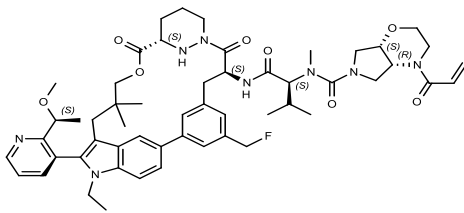
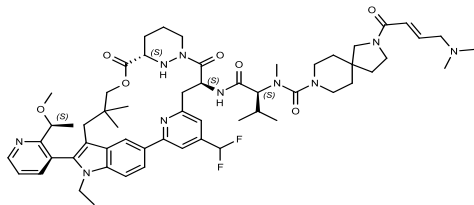
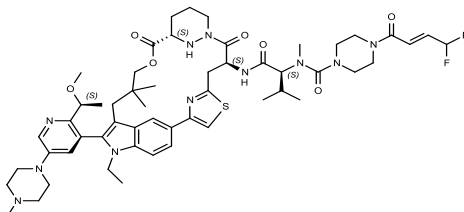
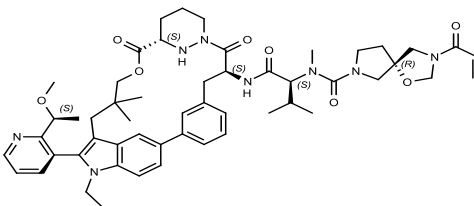
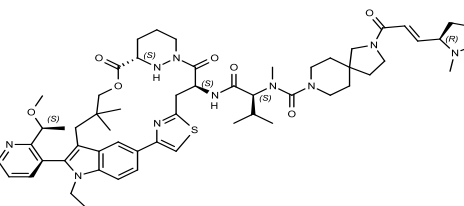
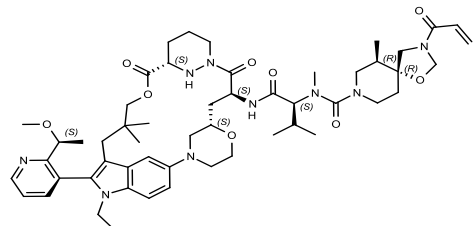
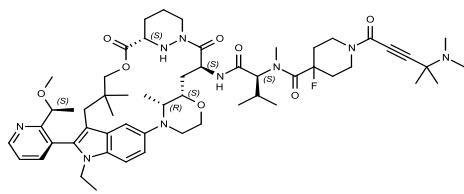
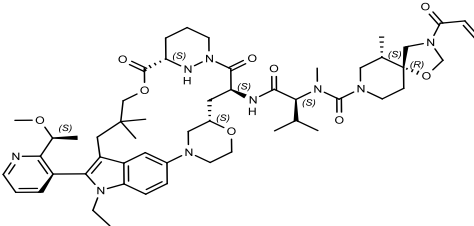
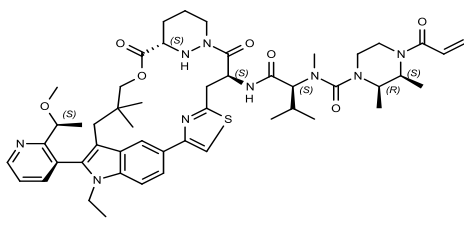
30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A23		A127	
A24		A128	
A25		A129	
A26		A130	
A27		A131	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A28		A132	
A29		A133	
A30		A134	
A31		A135	
A32		A136	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A33		A137	
A34		A138	
A35		A139	
A36		A140	
A37		A141	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A38		A142	
A39		A143	
A40		A144	
A41		A145	
A42		A146	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A43		A147	
A44		A148	
A45		A149	
A46		A150	
A47		A151	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A48		A152	
A49		A153	
A50		A154	
A51		A155	
A52		A156	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	A53	A157	
10	A54	A158	
15	A55	A159	
20	A56	A160	
25	A57	A161	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A58		A162	
A59		A163	
A60		A164	
A61		A165	
A62		A166	

5

10

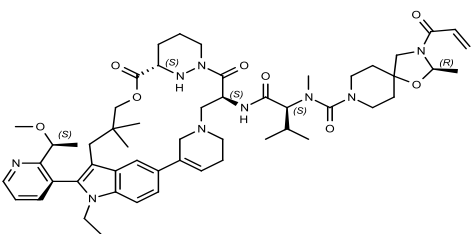
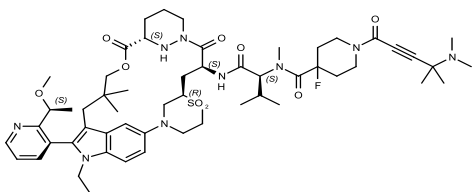
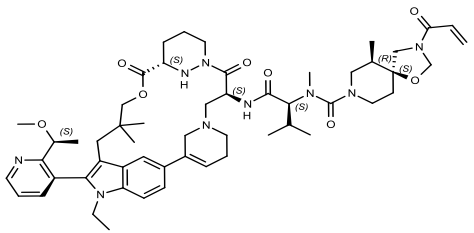
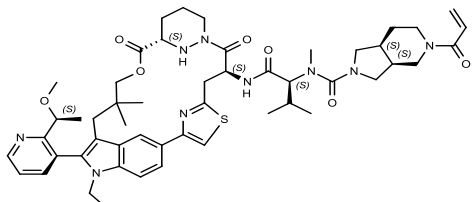
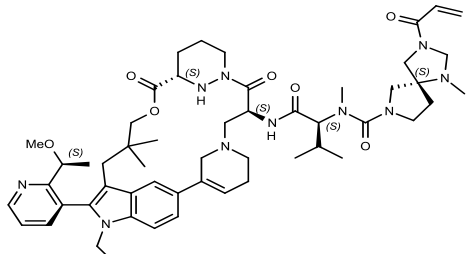
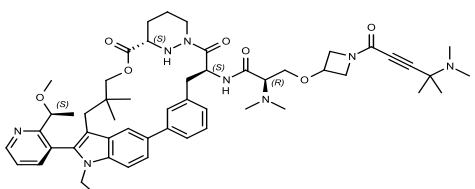
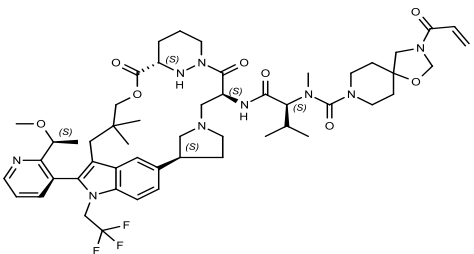
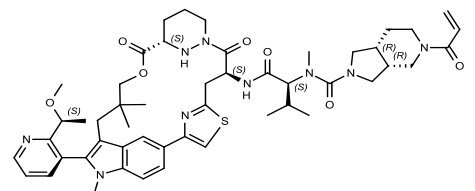
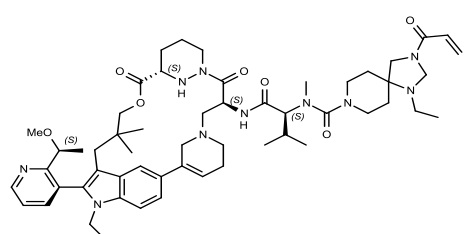
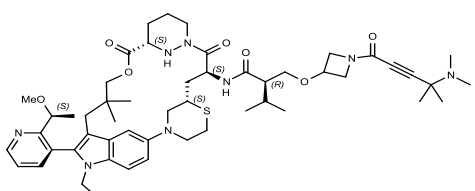
15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A63		A167	
A64		A168	
A65		A169	
A66		A170	
A67		A171	

5

10

15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A68		A172	
A69		A173	
A70		A174	
A71		A175	
A72		A176	

5

10

15

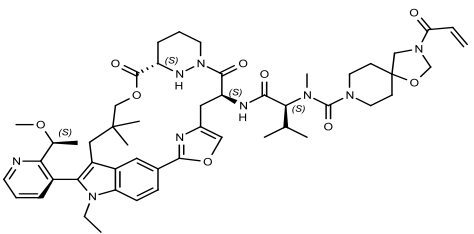
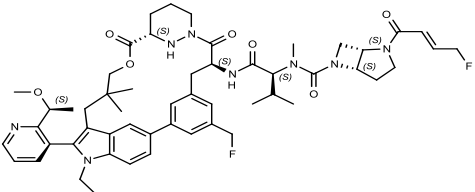
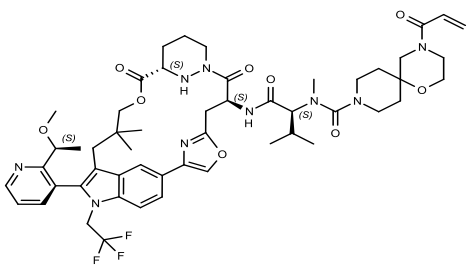
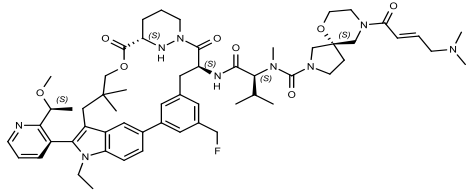
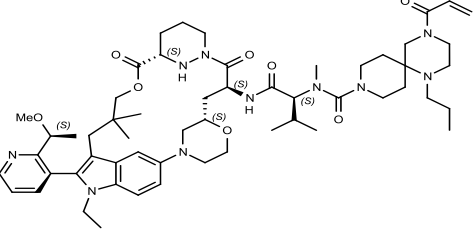
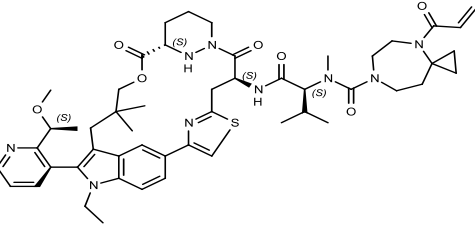
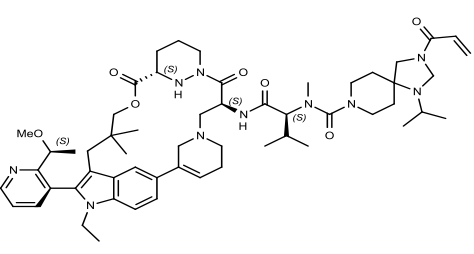
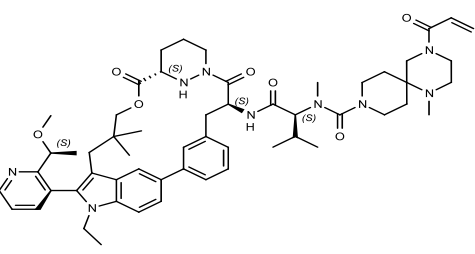
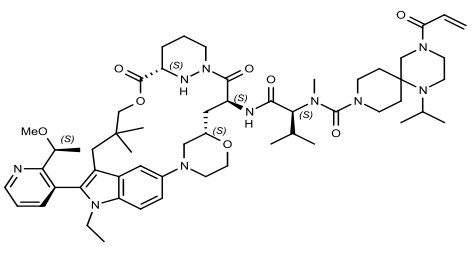
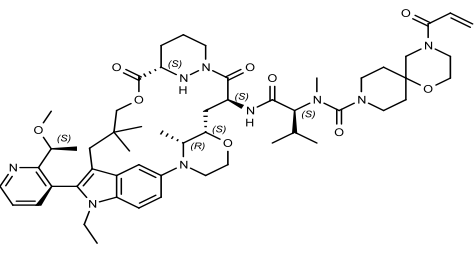
20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A73		A177	
A74		A178	
A75		A179	
A76		A180	
A77		A181	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A78		A182	
A79		A183	
A80		A184	
A81		A185	
A82		A186	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A83		A187	
A84		A188	
A85		A189	
A86		A190	
A87		A191	

5

10

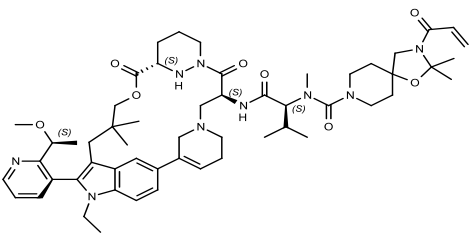
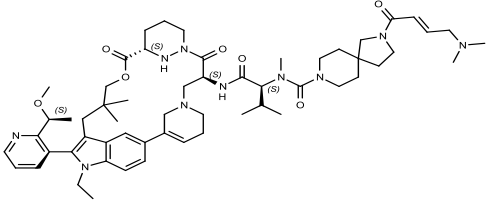
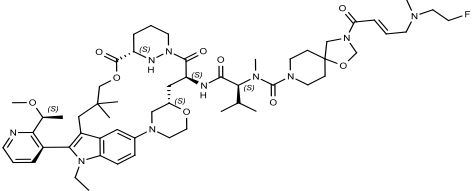
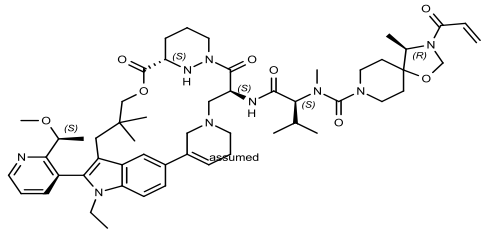
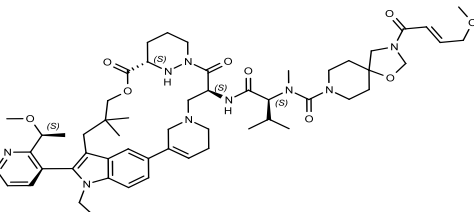
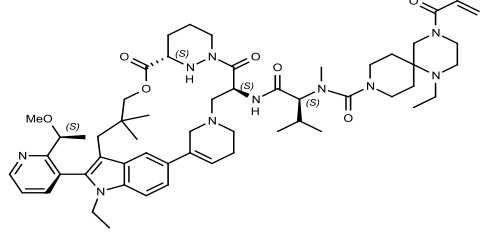
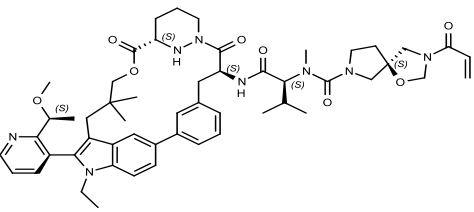
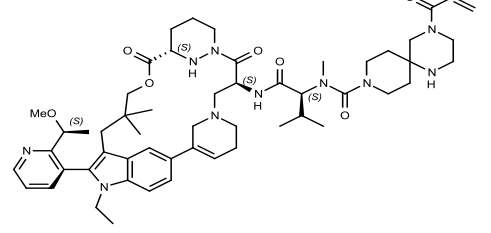
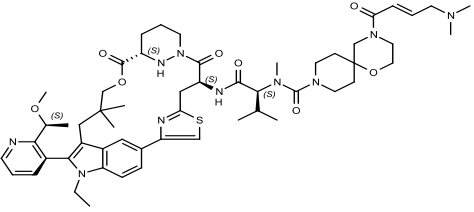
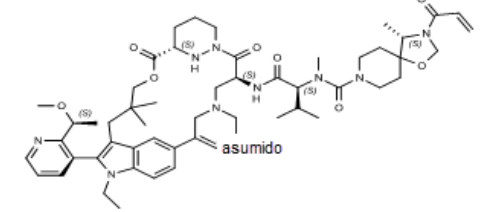
15

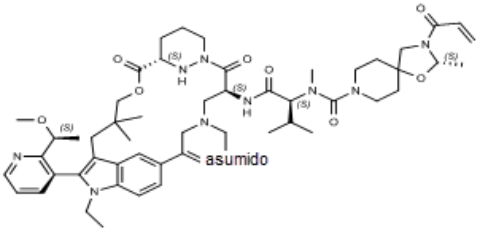
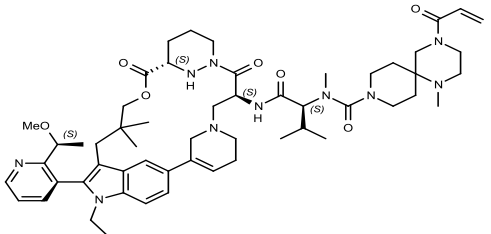
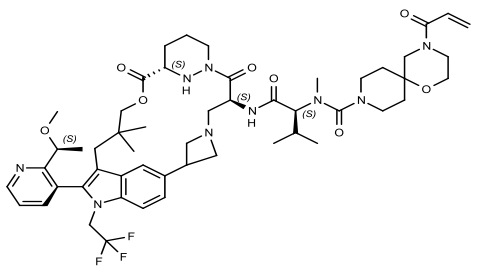
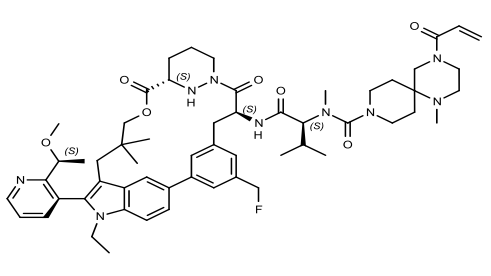
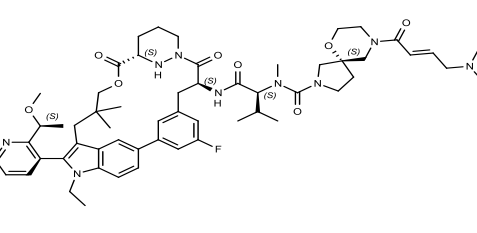
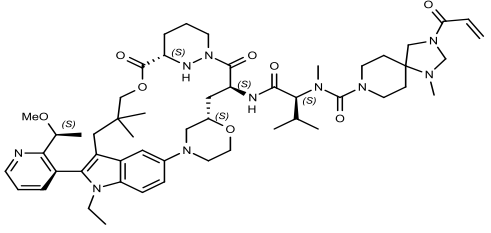
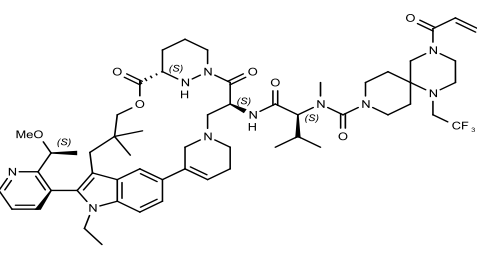
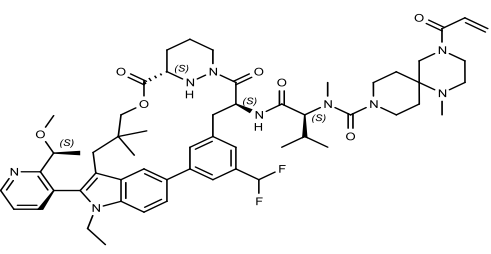
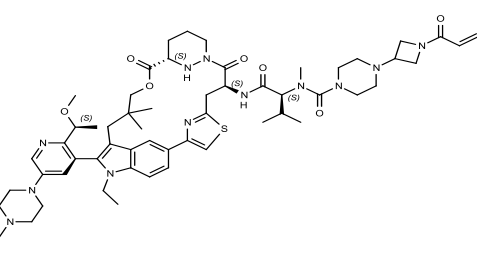
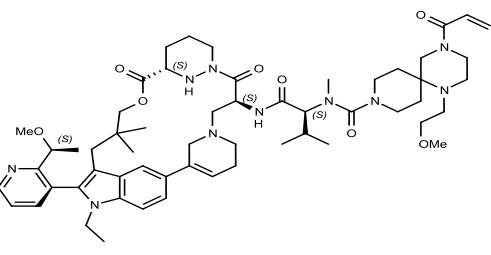
20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A88		A192	
A89		A193	
A90		A194	
A91		A195	
A92		A196	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A93		A197	
A94		A198	
A95		A199	
A96		A200	
A97		A201	

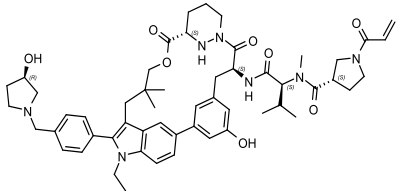
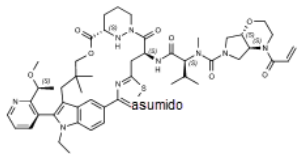
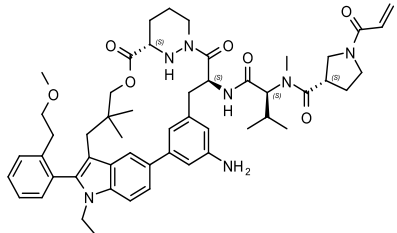
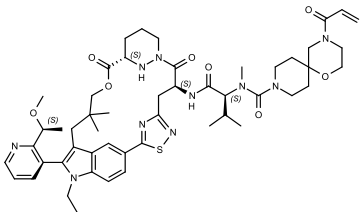
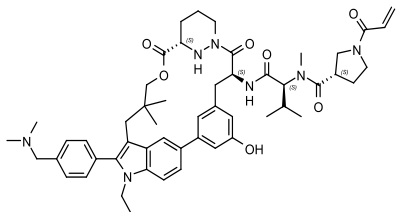
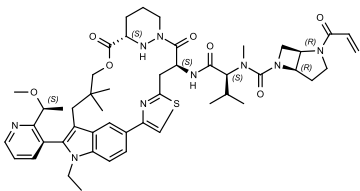
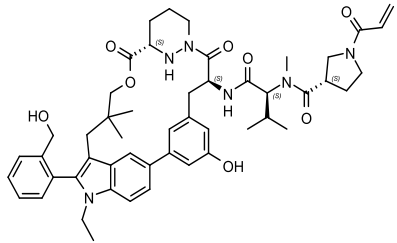
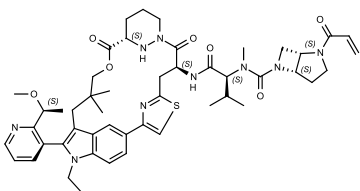
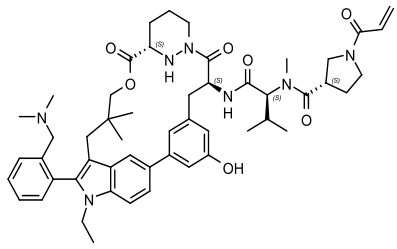
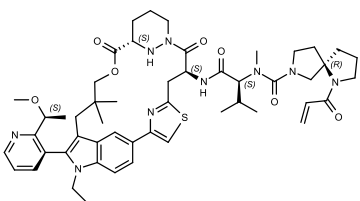
Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A98		A202	
A99		A203	
A100		A204	
A101		A205	
A102		A206	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
A10 3		A207	
A10 4		A208	
A10 5		A209	

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención es un compuesto que se selecciona de la Tabla 2, o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención es un compuesto que se selecciona de la Tabla 2, o una sal o atropisómero farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención no es un compuesto seleccionado de la Tabla 2. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención no es un compuesto que se selecciona de la Tabla 2, o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, un compuesto de la presente invención no es un compuesto que se selecciona de la Tabla 2, o una sal o atropisómero farmacéuticamente aceptable de este.

Tabla 2: Determinados compuestos

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B1		B544	
B2		B545	
B3		B546	
B4		B547	
B5		B548	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B6	B549	
10	B7	B550	
15	B8	B551	
20	B9	B552	
25	B10	B553	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B11	B554	
10	B12	B555	
15	B13	B556	
20	B14	B557	
25	B15	B558	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B16		B559	
10 B17		B560	
15 B18		B561	
20 B19		B562	
25 B20		B563	

5

10

15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B21		B564	
10 B22		B565	
15 B23		B566	
20 B24		B567	
25 B25		B568	

5

10

15

20

25

30

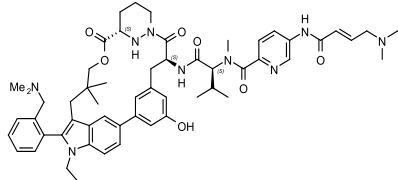
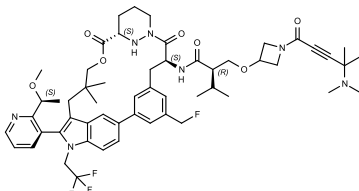
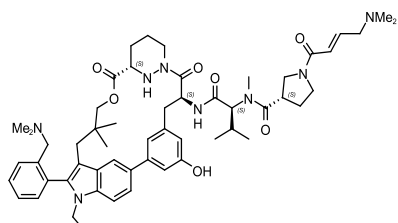
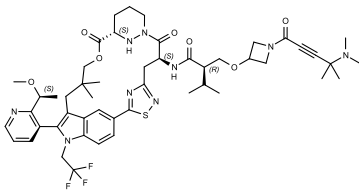
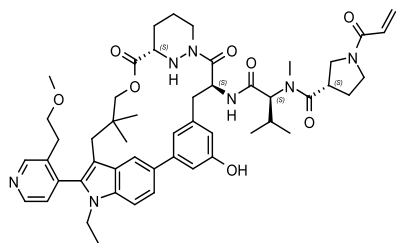
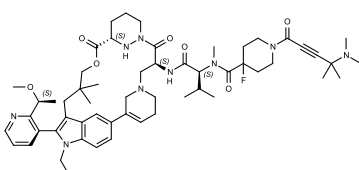
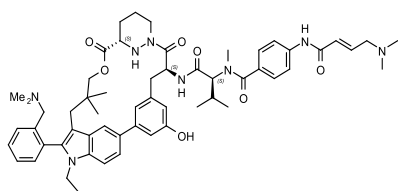
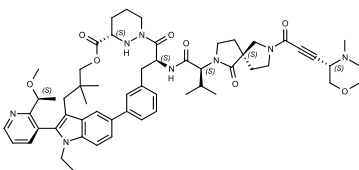
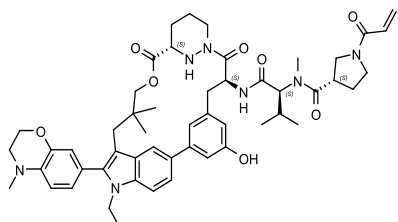
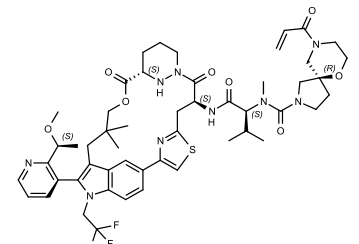
35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B26		B569	
B27		B570	
B28		B571	
B29		B572	
B30		B573	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B31	B574	
10	B32	B575	
15	B33	B576	
20	B34	B577	
25	B35	B578	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B36		B579	
B37		B580	
B38		B581	
B39		B582	
B40		B583	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B41	B584	
10	B42	B585	
15	B43	B586	
20	B44	B587	
25	B45	B588	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B46		B589	
B47		B590	
B48		B591	
B49		B592	
B50		B593	

5

10

15

20

25

30

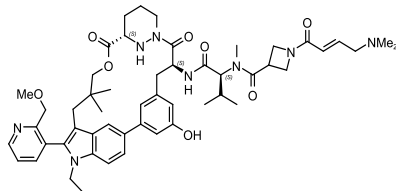
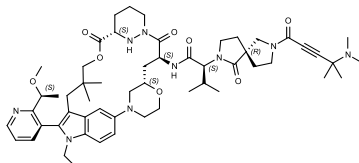
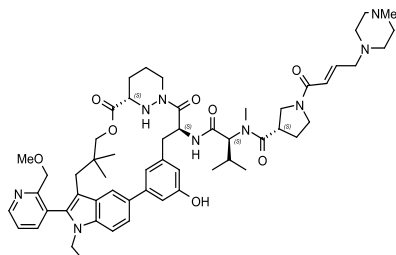
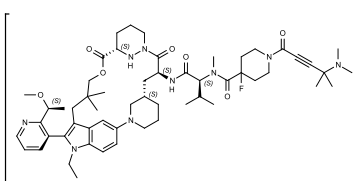
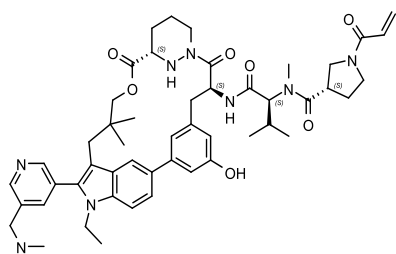
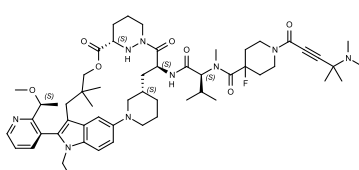
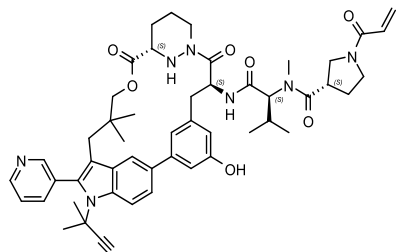
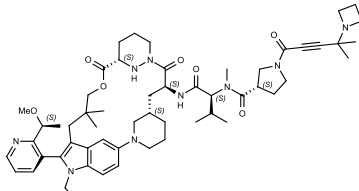
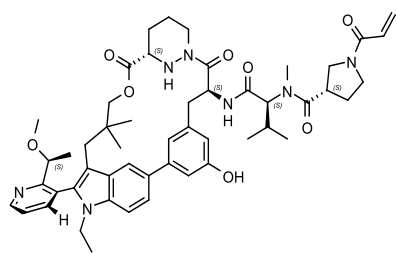
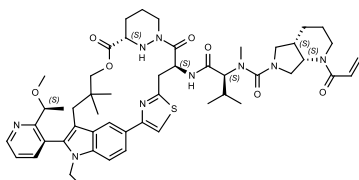
35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B51		B594	
B52		B595	
B53		B596	
B54		B597	
B55		B598	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B56		B599	
B57		B600	
B58		B601	
B59		B602	
B60		B603	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B61	B604	
10	B62	B605	
15	B63	B606	
20	B64	B607	
25	B65	B608	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B66	B609	
10	B67	B610	
15	B68	B611	
20	B69	B612	
25	B70	B613	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B71		B614	
B72		B615	
B73		B616	
B74		B617	
B75		B618	

5

10

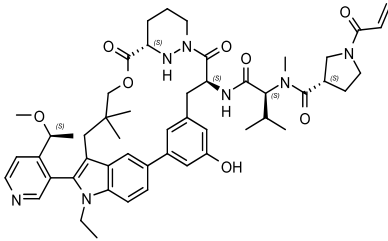
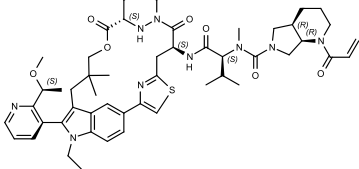
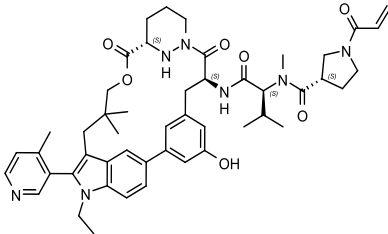
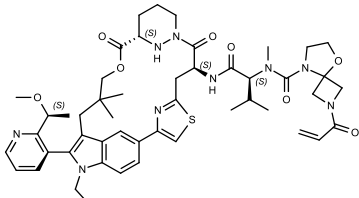
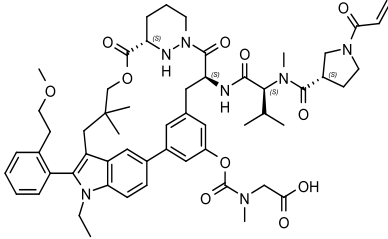
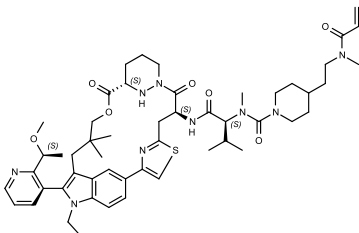
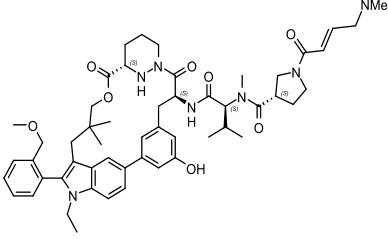
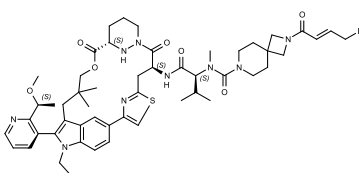
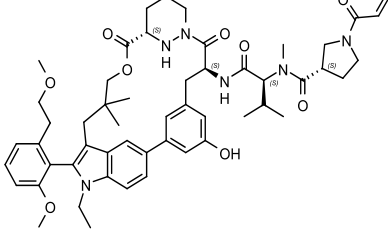
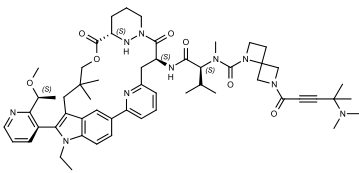
15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B76		B619	
B77		B620	
B78		B621	
B79		B622	
B80		B623	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B81		B624	
B82		B625	
B83		B626	
B84		B627	
B85		B628	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B86	B629	
10	B87	B630	
15	B88	B631	
20	B89	B632	
25	B90	B633	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B91		B634	
10 B92		B635	
15 B93		B636	
20 B94		B637	
25 B95		B638	

5

10

15

20

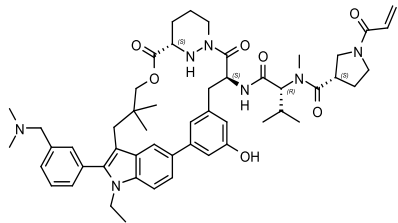
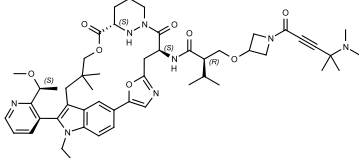
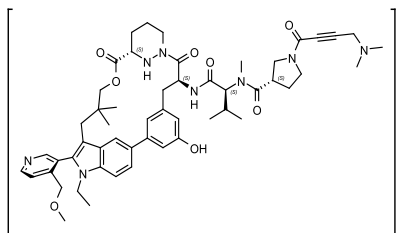
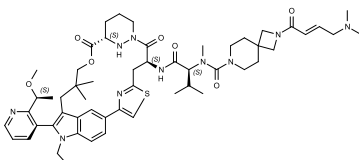
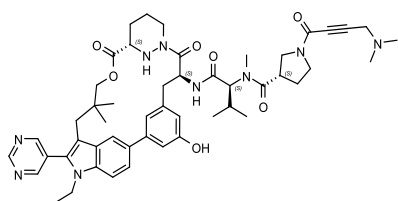
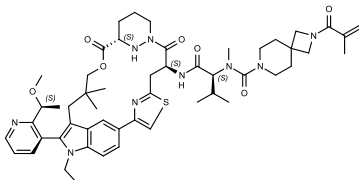
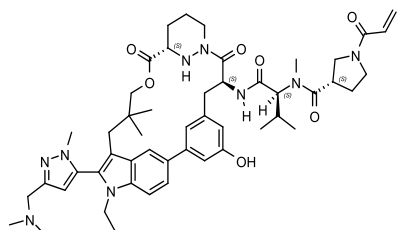
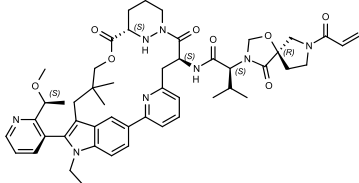
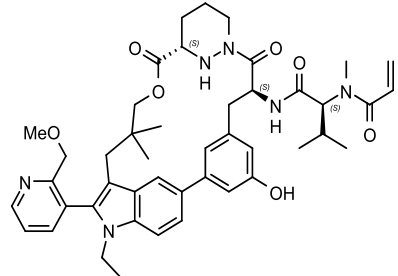
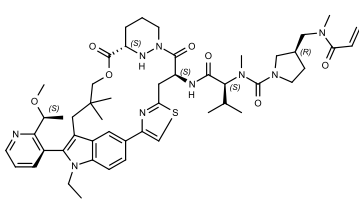
25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B96	B639	
10	B97	B640	
15	B98	B641	
20	B99	B642	
25	B100	B643	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B101		B644	
B102		B645	
B103		B646	
B104		B647	
B105		B648	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B106		B649	
B107		B650	
B108		B651	
B109		B652	
B110		B653	

5

10

15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B111		B654	
B112		B655	
B113		B656	
B114		B657	
B115		B658	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B116	B659	
10	B117	B660	
15	B118	B661	
20	B119	B662	
25	B120	B663	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B121	B664	
10	B122	B665	
15	B123	B666	
20	B124	B667	
25	B125	B668	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B126	B669	
10	B127	B670	
15	B128	B671	
20	B129	B672	
25	B130	B673	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B131	B674	
10	B132	B675	
15	B133	B676	
20	B134	B677	
25	B135	B678	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B136		B679	
B137		B680	
B138		B681	
B139		B682	
B140		B683	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B141		B684	
B142		B685	
B143		B686	
B144		B687	
B145		B688	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B146		B689	
B147		B690	
B148		B691	
B149		B692	
B150		B693	

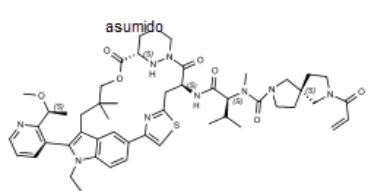
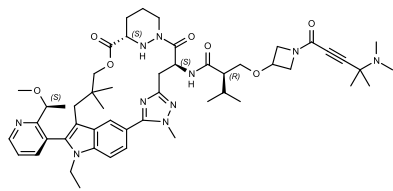
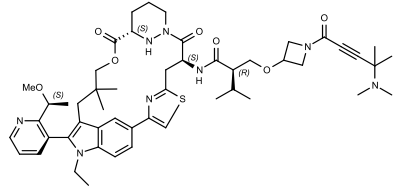
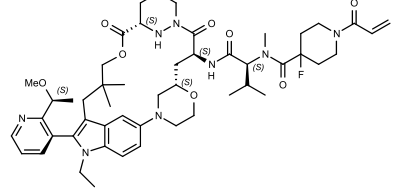
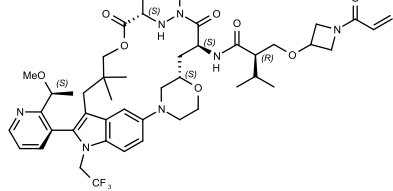
Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B151	B694	
10	B152	B695	
15	B153	B696	
20	B154	B697	
25	B155	B698	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B156	B699	
10	B157	B700	
15	B158	B701	
20	B159	B702	
25	B160	B703	
30			
35			

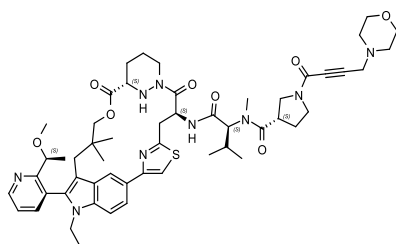
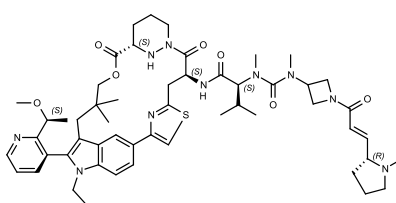
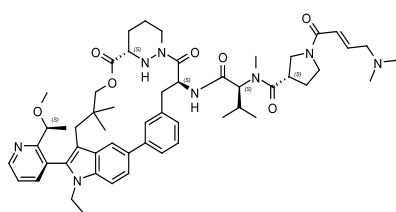
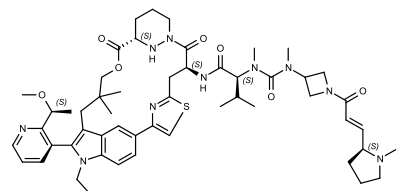
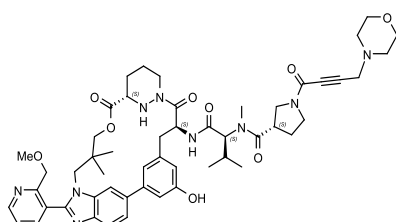
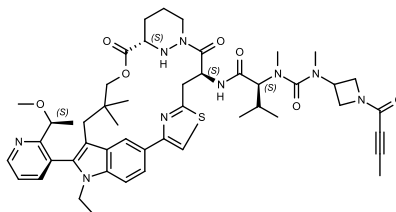
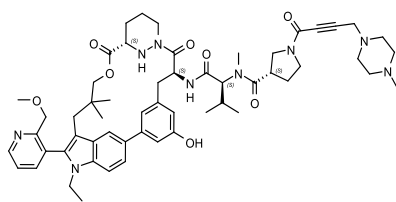
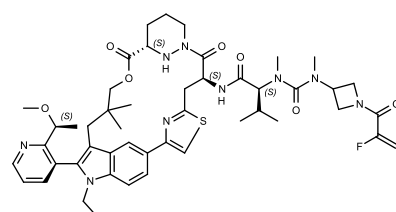
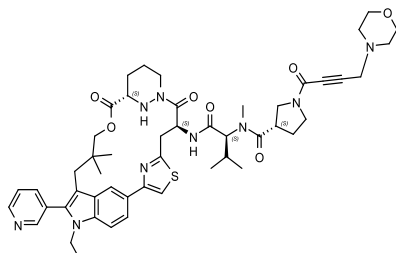
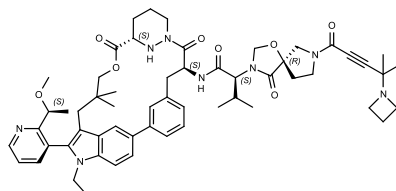
Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B161	B704	
10	B162	B705	
15	B163	B706	
20	B164	B707	
25	B165	B708	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B166	B709	
10	B167	B710	
15	B168	B711	
20	B169	B712	
25	B170	B713	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B171	B714	
10	B172	B715	
15	B173	B716	
20	B174	B717	
25	B175	B718	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B176	B719	
10	B177	B720	
15	B178	B721	
20	B179	B722	
25	B180	B723	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B181	B724	
10	B182	B725	
15	B183	B726	
20	B184	B727	
25	B185	B728	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B186		B729	
B187		B730	
B188		B731	
B189		B732	
B190		B733	

5

10

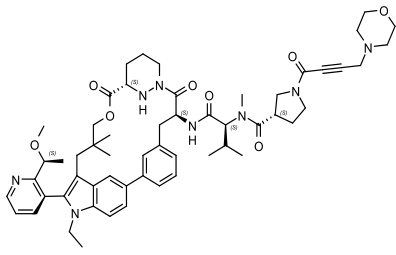
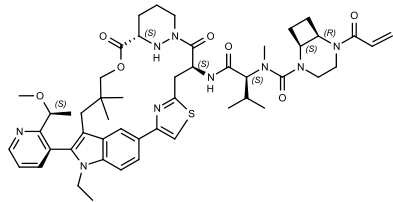
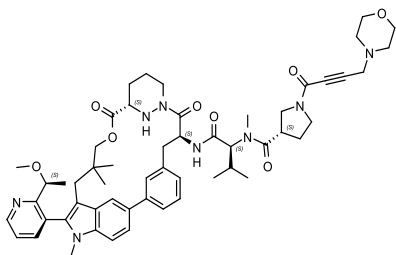
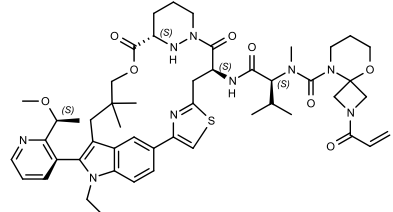
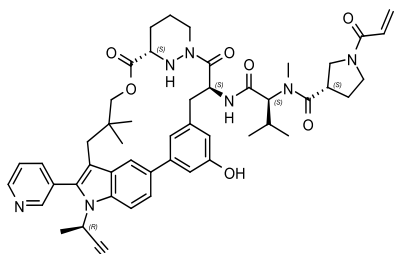
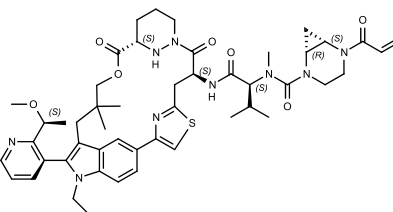
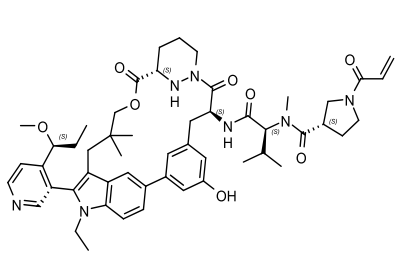
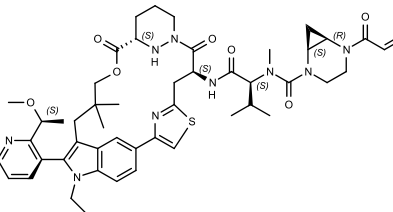
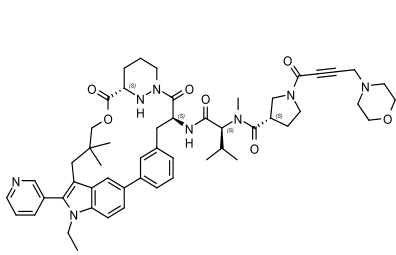
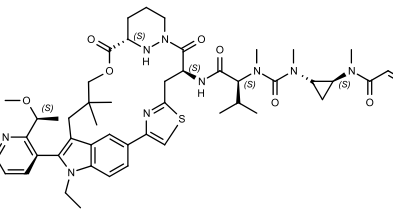
15

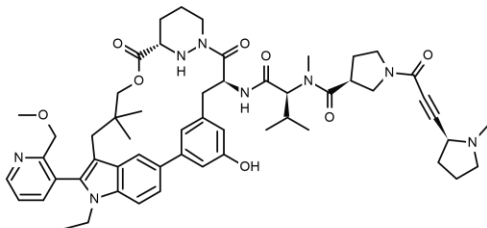
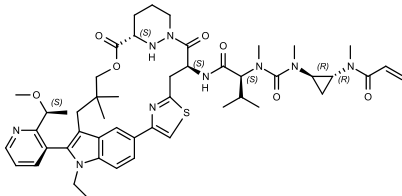
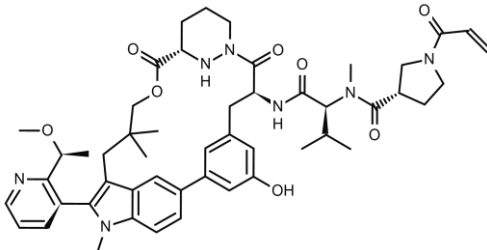
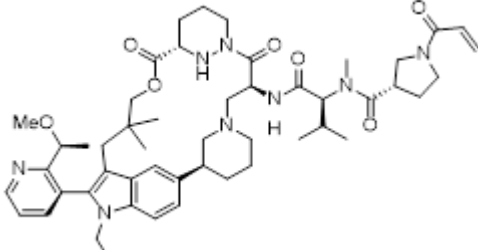
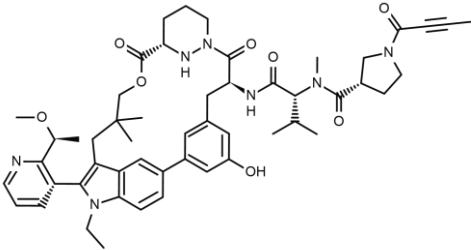
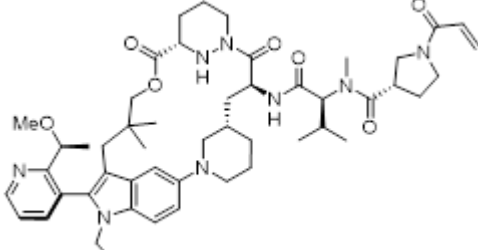
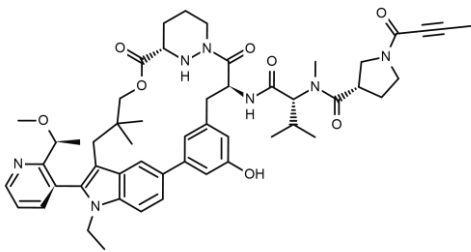
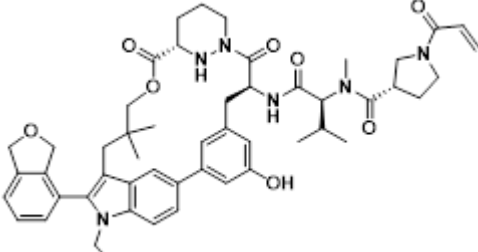
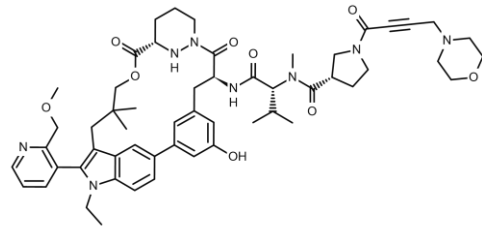
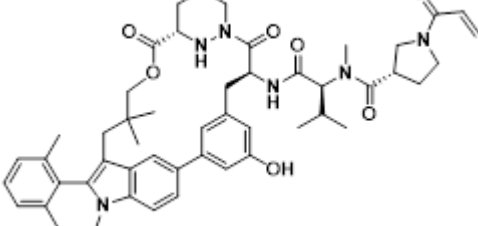
20

25

30

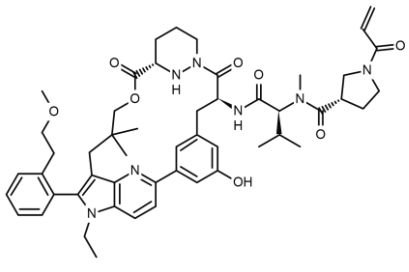
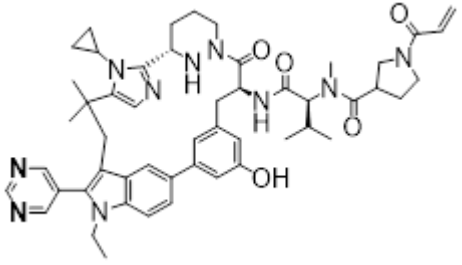
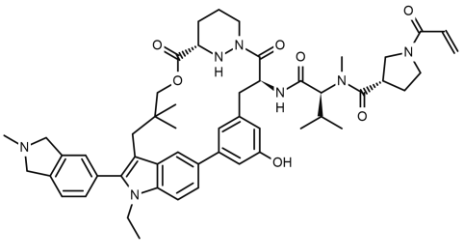
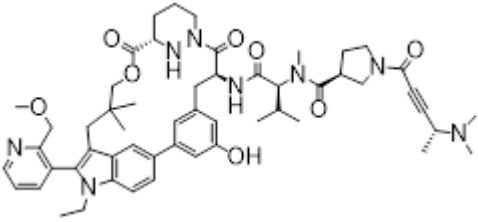
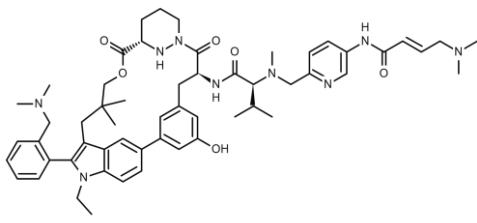
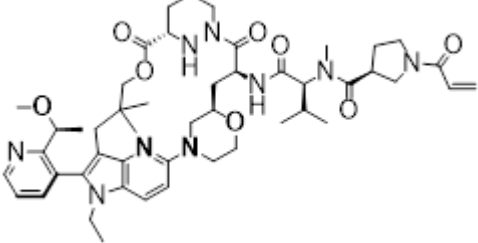
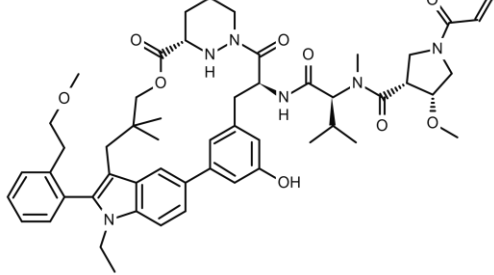
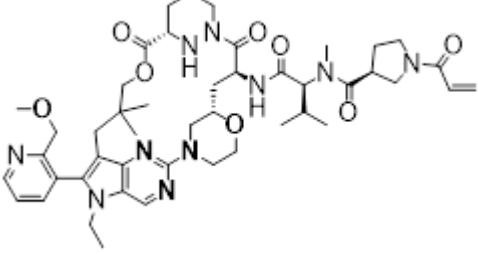
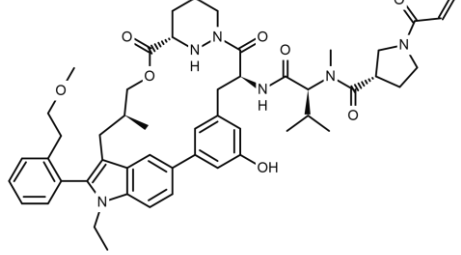
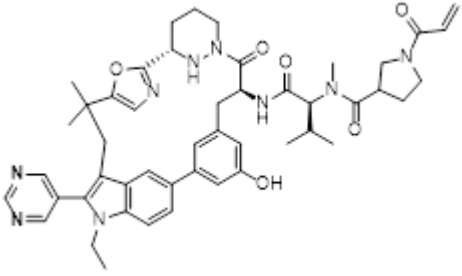
35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B191		B734	
B192		B735	
B193		B736	
B194		B737	
B195		B738	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B196		B739	
B197		B740	
B198		B741	
B199		C1	
B200		C2	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B201		C3	
B202		C4	
B203		C5	
B204		C6	
B205		C7	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B206		C11	
B207		C12	
B208		C13	
B209		C18	
B210		C21	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B211		C22	
B212		C25	
B213		C27	
B214		C28	
B215		C29	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B216		C30	
10 B217		C32	
15 B218		C34	
20 B219		C38	
25 B220		C47	

5

10

15

20

25

30

35

10

15

20

25

30

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B226	C74	
10	B227	C75	
15	B228	C76	
20	B229	C77	
25	B230	C81	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B231	C83	
10	B232	C85	
15	B233	C86	
20	B234	C87	
25	B235	C88	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B236		C89	
B237		C90	
B238		C91	
B239		C96	
B240		C97	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B241		C102	
10 B242		C103	
15 B243		C104	
20 B244		C106	
25 B245		C107	

5

10

15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B246		C109	
B247		C111	
B248		C112	
B249		C113	
B250		C115	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B251		C116	
B252		C117	
B253		C118	
B254		C119	
B255		C120	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B256		C121	
B257		C122	
B258		C123	
B259		C124	
B260		C126	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B261	C127	
10	B262	C128	
15	B263	C129	
20	B264	C130	
25	B265	C131	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B266	C132	
10	B267	C139	
15	B268	C140	
20	B269	C141	
25	B270	C142	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B271		C143	
10 B272		C144	
15 B273		C145	
20 B274		C146	
25 B275		C147	

5

10

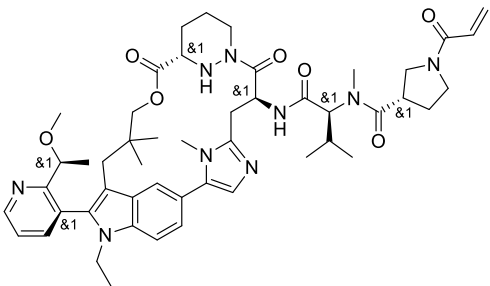
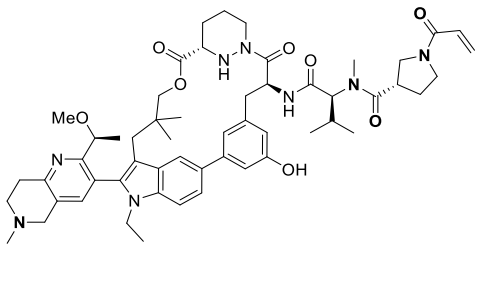
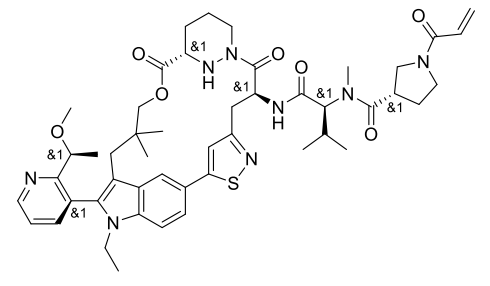
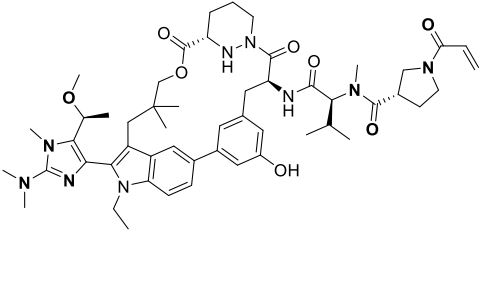
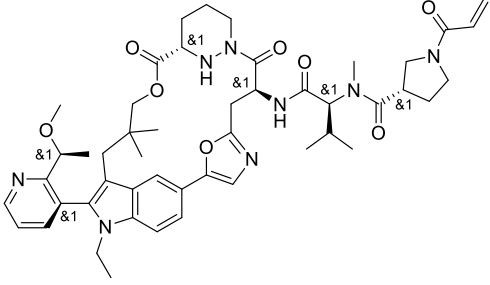
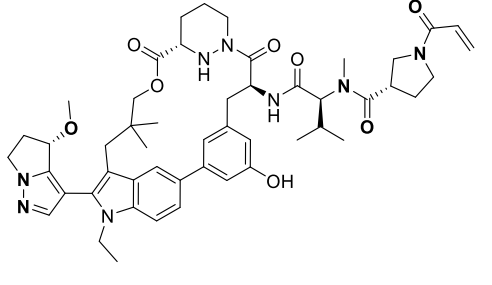
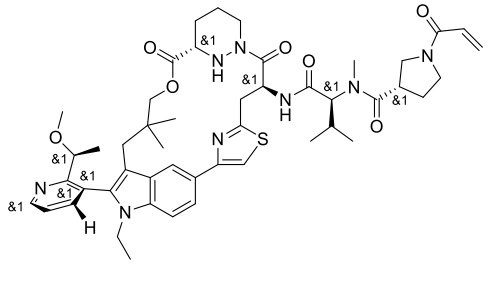
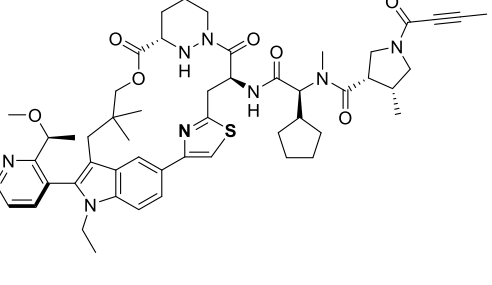
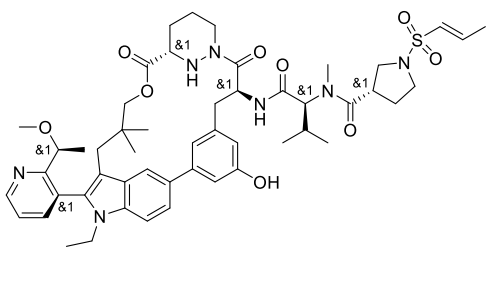
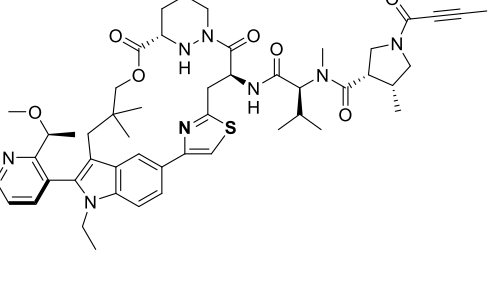
15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B276		C148	
B277		C149	
B278		C150	
B279		C161	
B280		C162	

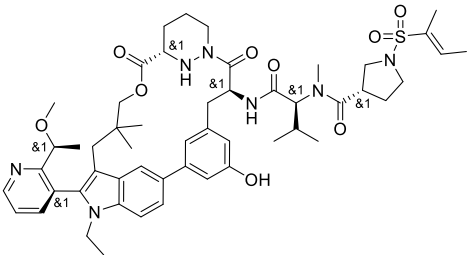
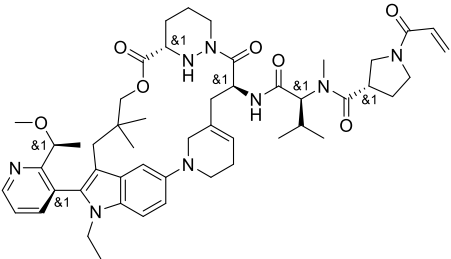
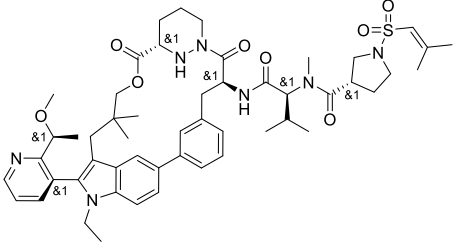
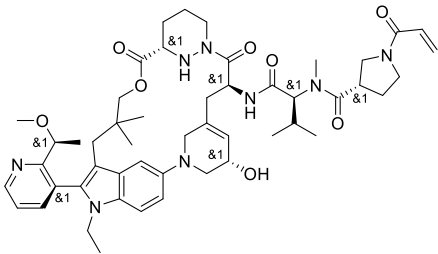
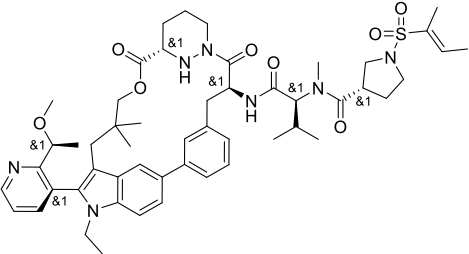
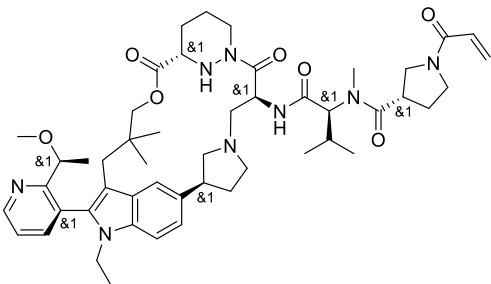
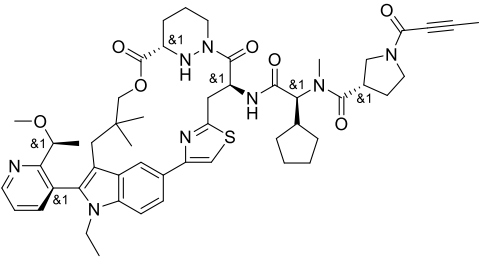
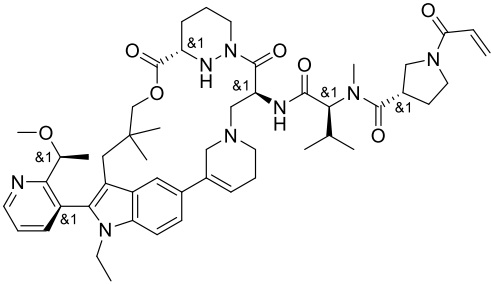
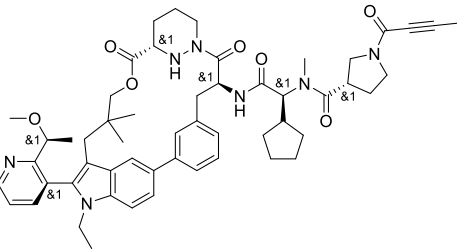
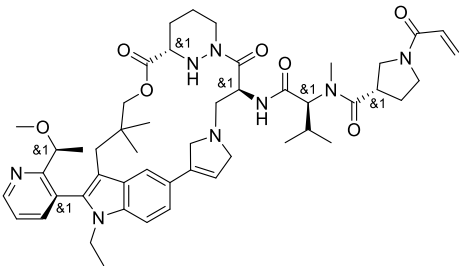
Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B281		C163	
B282		C164	
B283		C165	
B284		C167	
B285		C168	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B286		C169	
B287		C170	
B288		C171	
B289		C172	
B290		C173	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B291		C174	
B292		C175	
B293		C176	
B294		C177	
B295		C178	

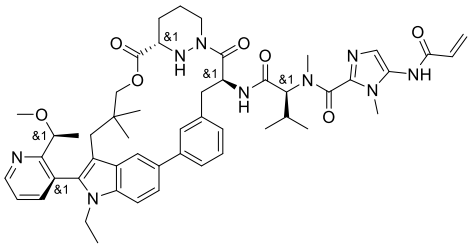
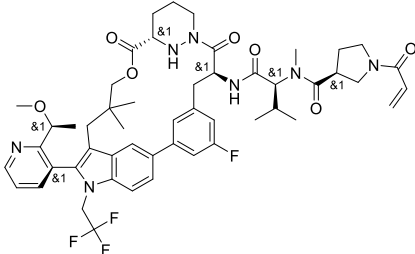
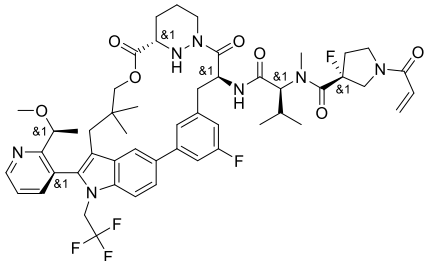
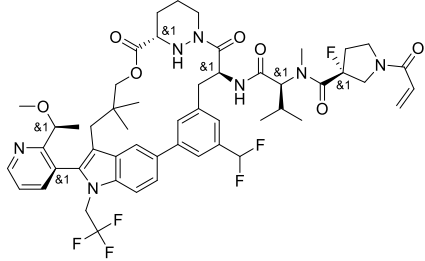
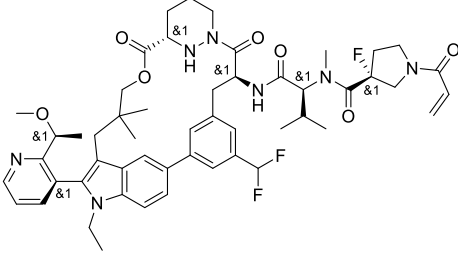
Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B296		C179	
B297		C180	
B298		C181	
B299		C182	
B300		C183	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B301		C184	
B302		C185	
B303		C186	
B304		C187	
B305		C188	

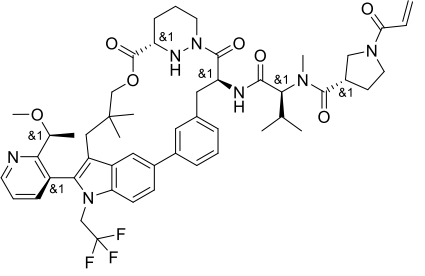
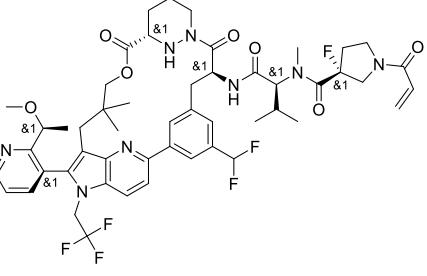
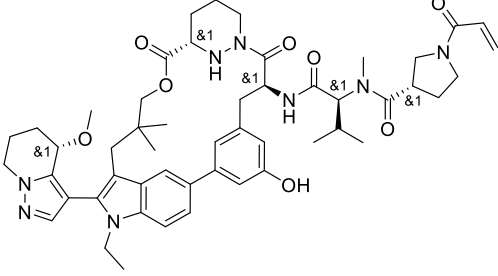
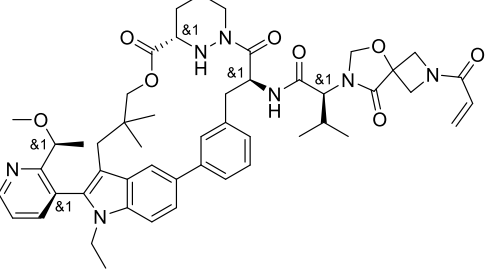
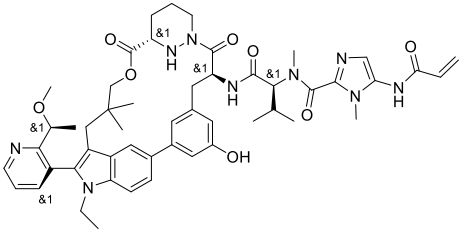
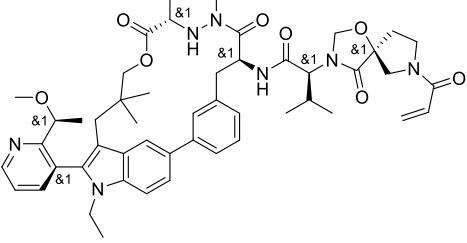
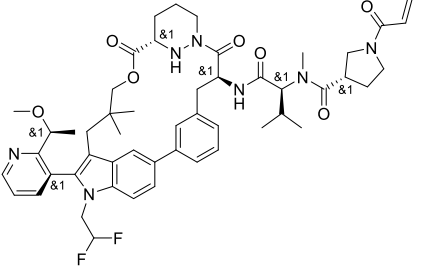
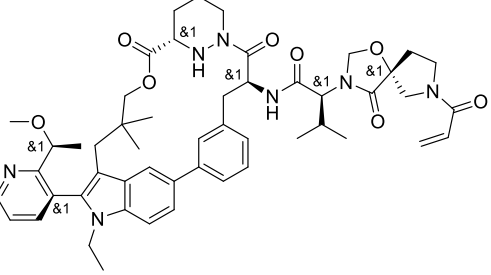
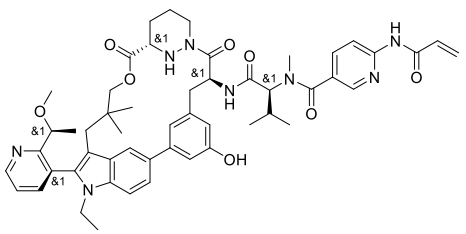
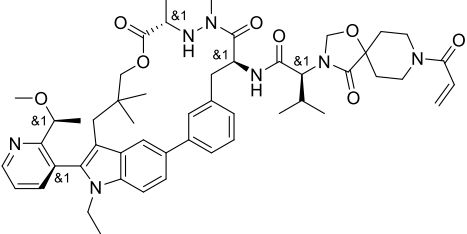
Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B306		C189	
B307		C190	
B308		C191	
B309		C192	
B310		C194	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B311		C195	
B312		C196	
B313		C197	
B314		C198	
B316		C199	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B317		C200	
B318		C201	
B319		C202	
B320		C203	
B321		C204	

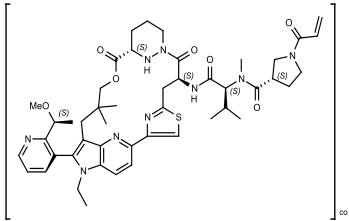
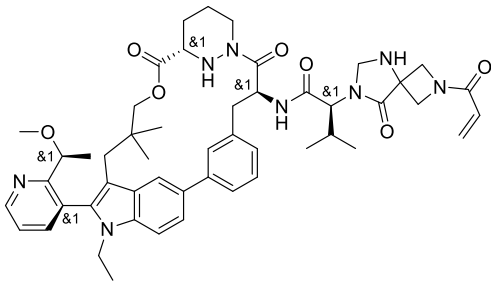
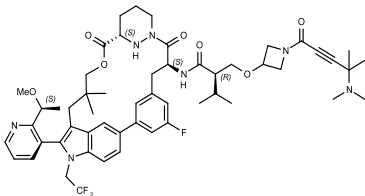
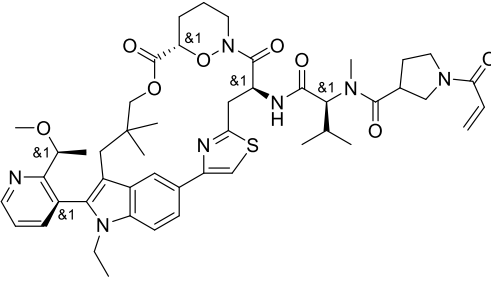
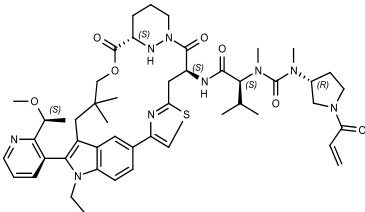
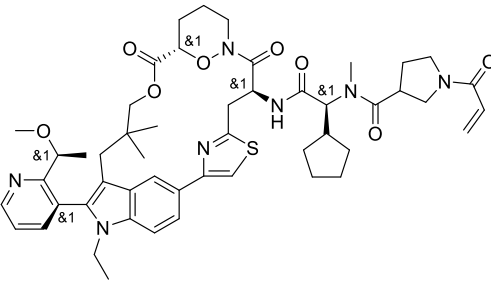
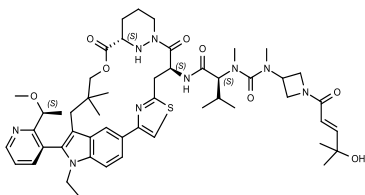
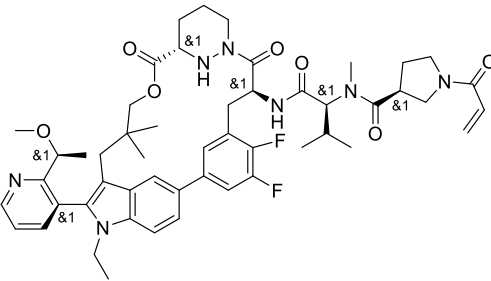
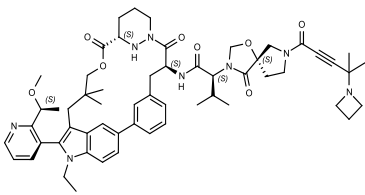
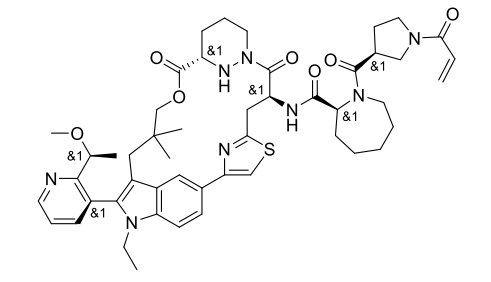
Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B322	C205	
10	B323	C206	
15	B324	C207	
20	B325	C208	
25	B326	C209	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B327	C210	
10	B328	C211	
15	B329	C212	
20	B330	C213	
25	B331	C214	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B332		C215	
B333		C216	
B334		C217	
B335		C218	
B336		C219	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B337		C220	
B338		C221	
B339		C222	
B340		C223	
B341		C224	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B342	C225	
10	B343	C226	
15	B344	C227	
20	B345	C228	
25	B346	C229	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B347		C230	
B348		C231	
B349		C232	
B350		C233	
B351		C234	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B352		C235	
10 B353		C236	
15 B354		C237	
20 B355		C238	
25 B356		C239	

5

10

15

20

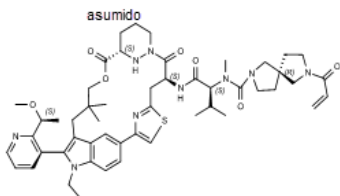
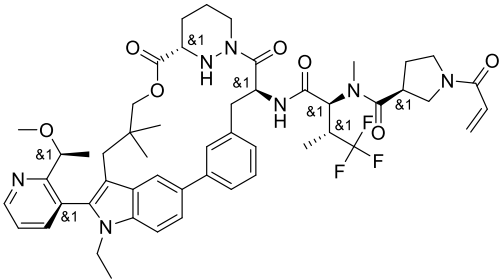
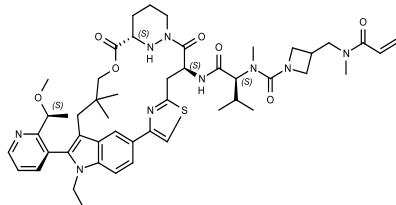
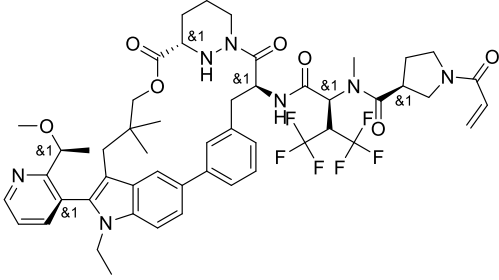
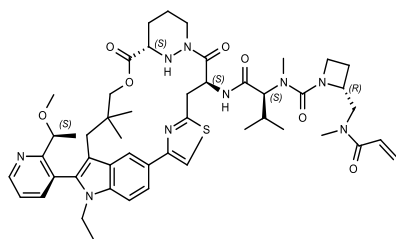
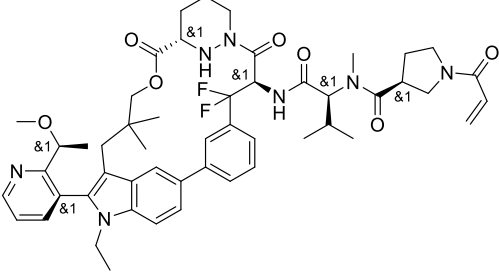
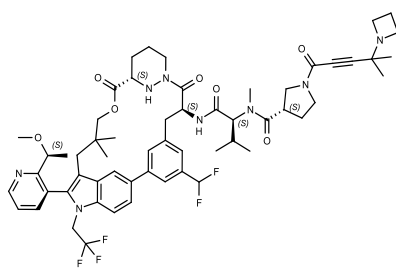
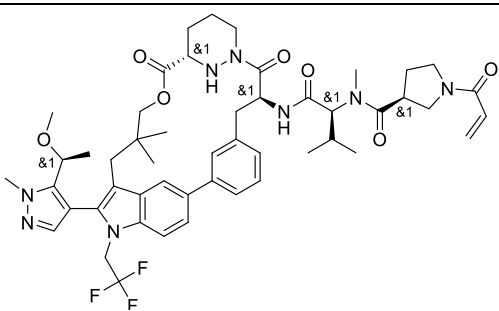
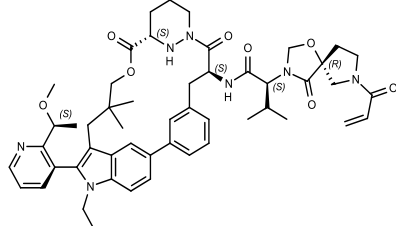
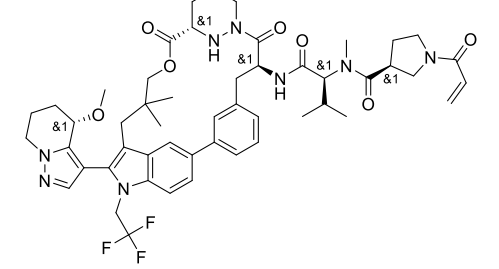
25

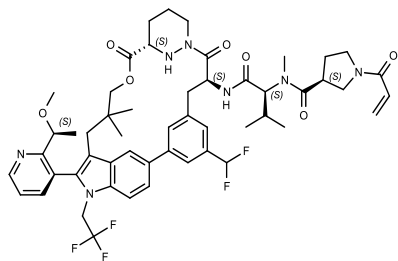
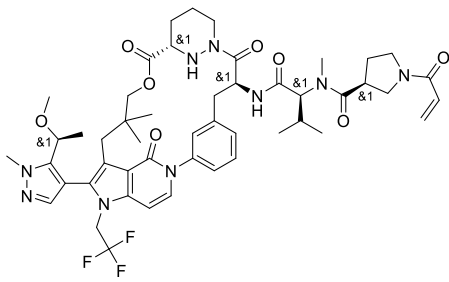
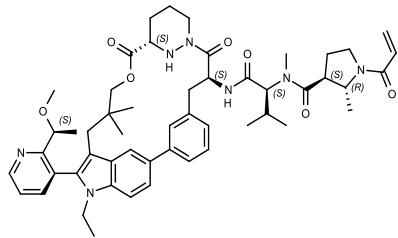
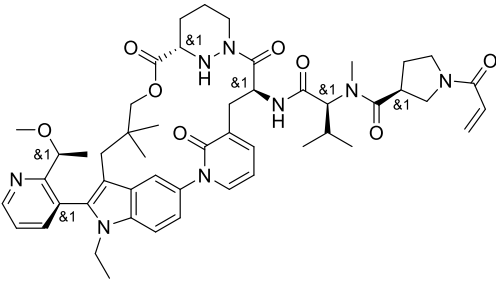
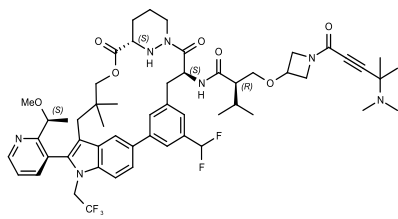
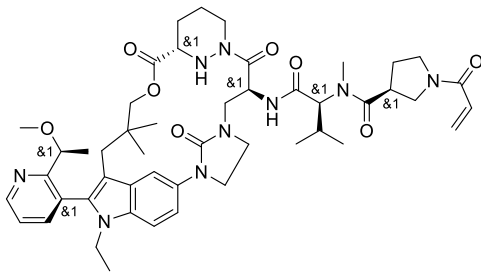
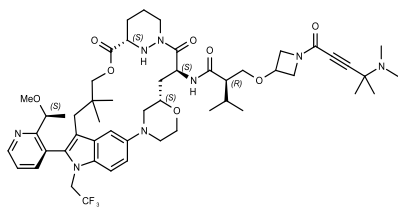
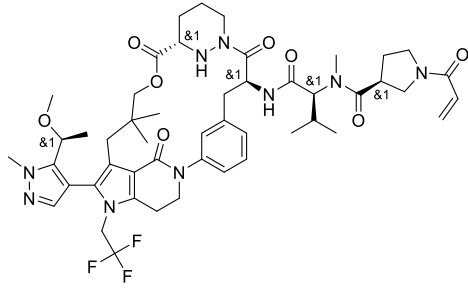
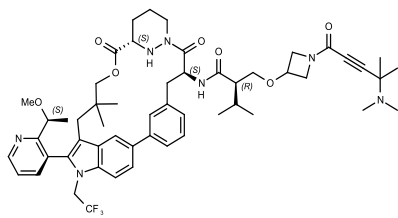
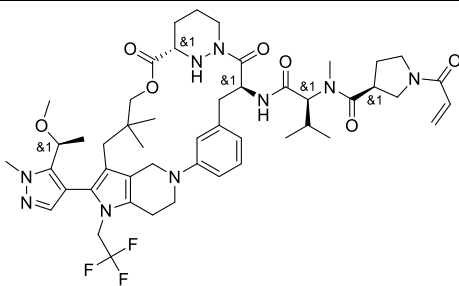
30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B357	C240	
10	B358	C241	
15	B359	C242	
20	B360	C243	
25	B361	C244	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B362	C245	
10	B363	C246	
15	B364	C247	
20	B365	C248	
25	B366	C249	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B367		C250	
B368		C251	
B369		C252	
B370		C253	
B371		C254	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B372		C255	
B373		C256	
B374		C257	
B375		C258	
B376		C259	

5

10

15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B377	C260	
10	B378	C261	
15	B379	C262	
20	B380	C263	
25	B381	C264	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B382	C265	
10	B383	C266	
15	B384	C267	
20	B385	C268	
25	B386	C269	
30			
35			

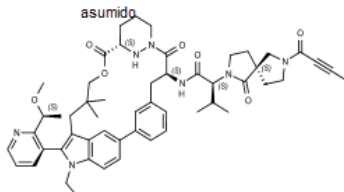
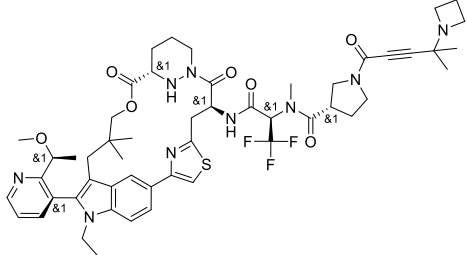
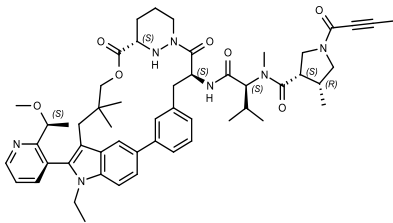
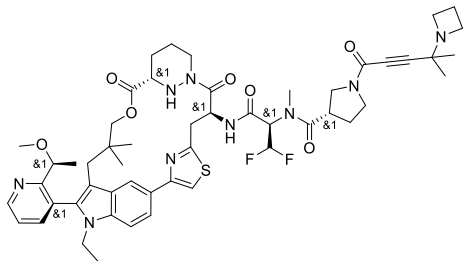
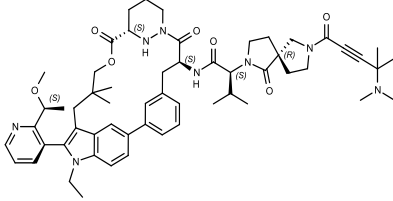
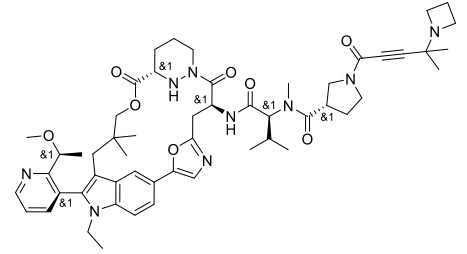
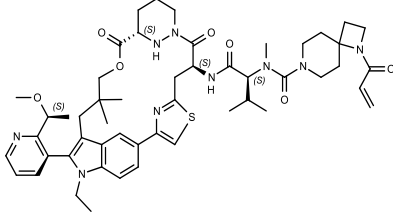
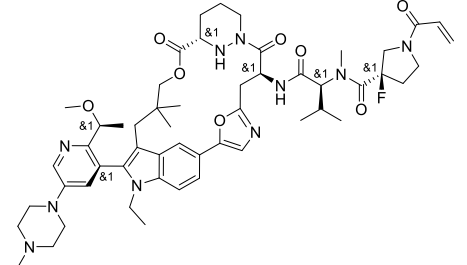
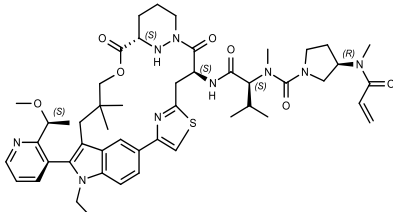
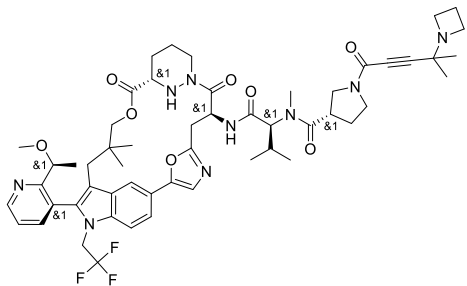
Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B387	C270	
10	B388	C271	
15	B389	C272	
20	B390	C273	
25	B391	C274	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B392	C275	
10	B393	C276	
15	B394	C277	
20	B395	C278	
25	B396	C279	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B397	C280	
10	B398	C282	
15	B399	C283	
20	B400	C284	
25	B401	C285	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B402	C286	
10	B403	C287	
15	B404	C288	
20	B405	C289	
25	B406	C290	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B407	C291	
10	B408	C292	
15	B409	C293	
20	B410	C294	
25	B411	C295	
30	B411	C295	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B412		C296	
B413		C297	
B414		C298	
B415		C299	
B416		C300	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B417	C301	
10	B418	C302	
15	B419	C303	
20	B420	C304	
25	B421	C305	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B422	C306	
10	B423	C307	
15	B424	C308	
20	B425	C309	
25	B426	C310	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B427	C311	
10	B428	C312	
15	B429	C313	
20	B430	C314	
25	B431	C315	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B432	C316	
10	B433	C317	
15	B334	C318	
20	B435	C319	
25	B436	C320	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B442		C326	
10 B443		C327	
15 B444		C328	
20 B445		C329	
25 B446		C330	

5

10

15

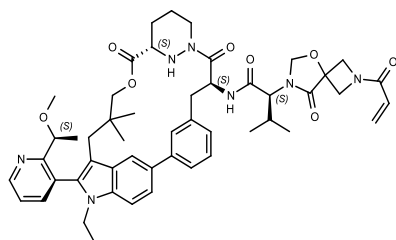
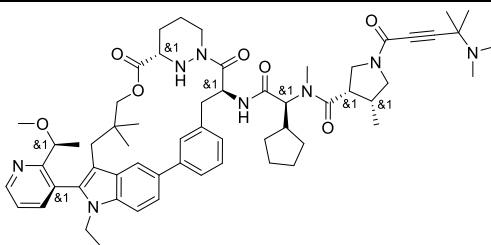
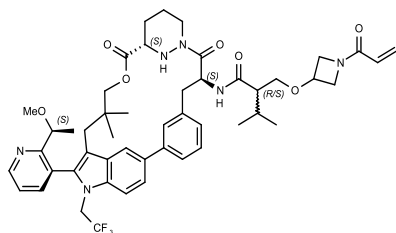
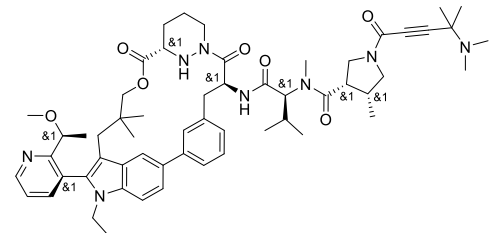
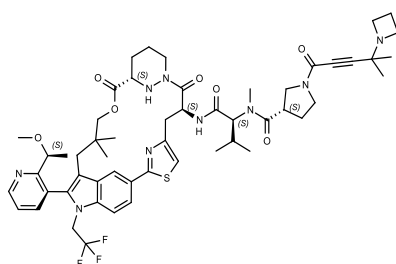
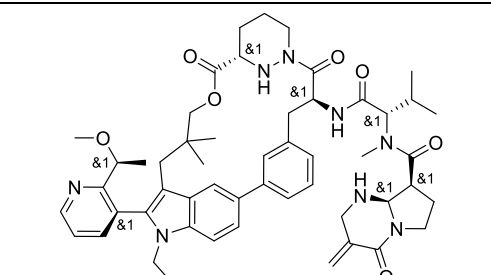
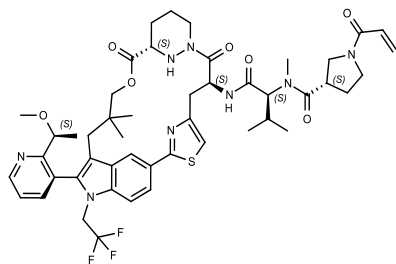
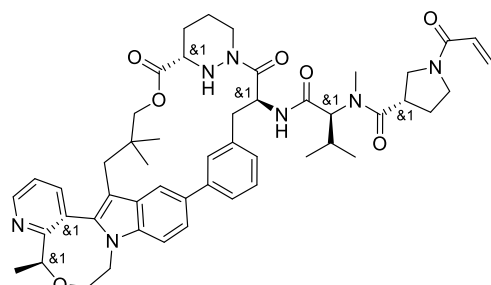
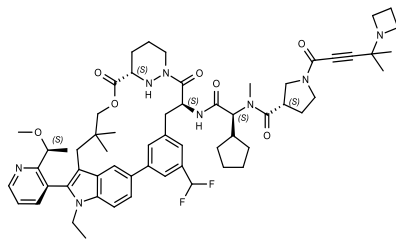
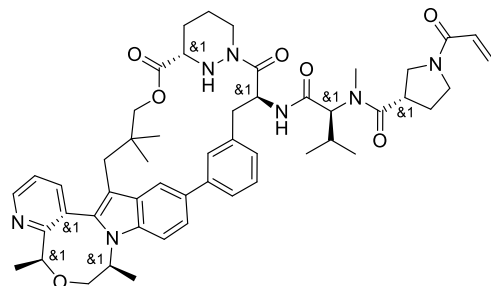
20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B447	C331	
10	B448	C332	
15	B449	C333	
20	B450	C334	
25	B451	C335	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B452		C336	
B453		C337	
B454		C338	
B455		C339	
B456		C340	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B457	C341	
10	B458	C342	
15	B459	C343	
20	B460	C344	
25	B461	C345	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B462	C346	
10	B463	C347	
15	B464	C348	
20	B465	C349	
25	B466	C350	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B467	C351	
10	B468	C352	
15	B469	C353	
20	B470	C354	
25	B471	C355	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B472	C356	
10	B473	C357	
15	B474	C358	
20	B475	C359	
25	B476	C360	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B477	C361	
10	B478	C362	
15	B479	C363	
20	B480	C364	
25	B481	C365	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B482	C366	
10	B483	C367	
15	B484	C368	
20	B485	C369	
25	B486	C370	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B487	C371	
10	B488	C372	
15	B489	C373	
20	B490	C374	
25	B491	C375	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B492	C376	
10	B493	C377	
15	B494	C378	
20	B495	C379	
25	B496	C380	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B497		C381	
10 B498		C382	
15 B499		C383	
20 B500		C384	
25 B501		C385	

5

10

15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B502	C386	
10	B503	C387	
15	B504	C388	
20	B505	C389	
25	B506	C390	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B507		C391	
10 B508		C392	
15 B509		C393	
20 B510		C394	
25 B511		C395	

5

10

15

20

25

30

35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B512	C396	
10	B513	C397	
15	B514	C398	
20	B515	C399	
25	B516	C400	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B517		C401	
10 B518		C402	
15 B519		C403	
20 B520		C404	
25 B521		C405	

5

10

15

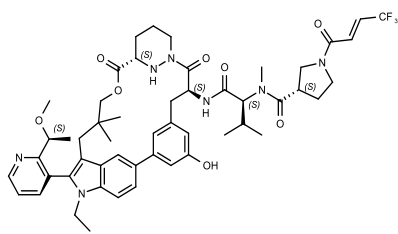
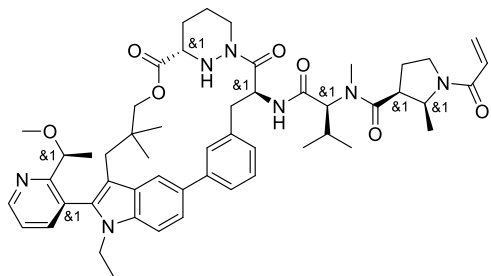
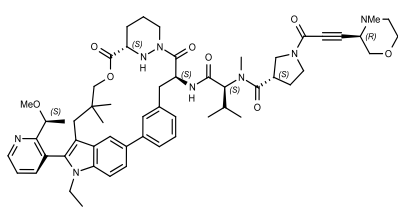
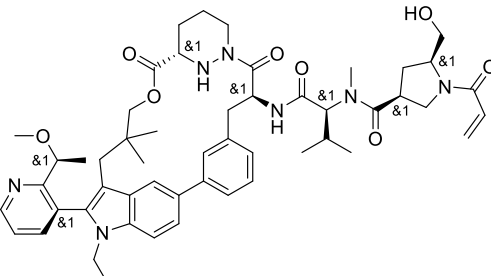
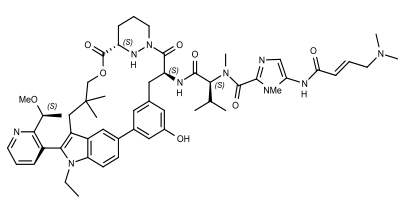
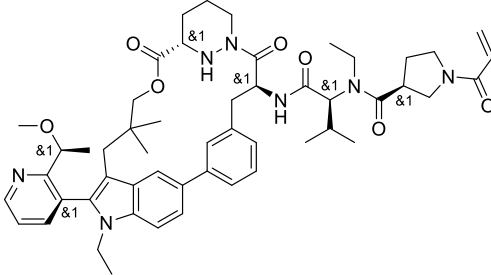
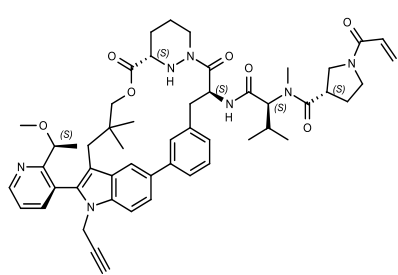
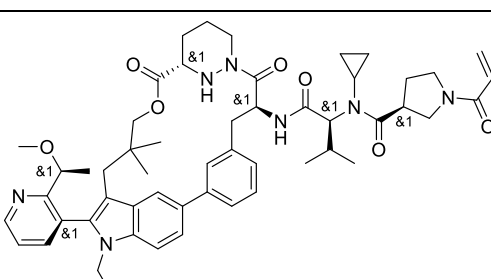
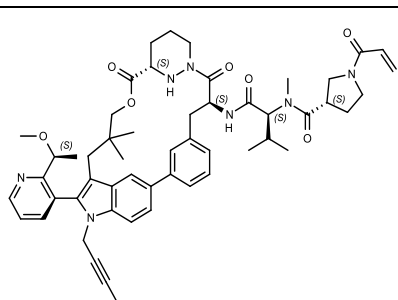
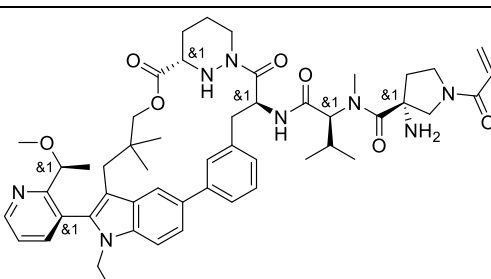
20

25

30

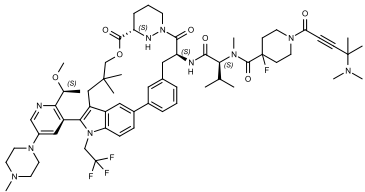
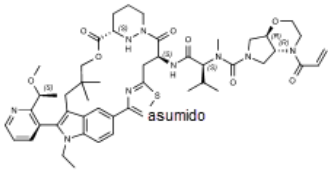
35

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B522	C406	
10	B523	C407	
15	B524	C408	
20	B525	C409	
25	B526	C410	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
B527		C411	
B528		C412	
B529		C413	
B530		C414	
B531		C415	

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B532	C416	
10	B533	C417	
15	B534	C418	
20	B535	C419	
25	B536	C420	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5	B537	C421	
10	B538	C422	
15	B539	C423	
20	B540	C424	
25	B541	C425	
30			
35			

Ej. n.º	Estructura	Ej. n.º	Estructura
5 B542			
10 B543			

Cabe destacar que algunos compuestos se muestran con enlaces como planos o acuíados. 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. Los corchetes deben ignorarse.

En algunas modalidades, el compuesto no es un compuesto contenido en el documento WO 2020/132597, cuya descripción se incorpora aquí como referencia en su totalidad. En algunas modalidades, el compuesto no es un compuesto contenido en el documento WO 2021/091982, cuya descripción se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

También se proporciona una composición farmacéutica que comprende 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 V:

M-L-P

Fórmula V,

donde L es un enlazador;

P es un resto orgánico monovalente; y

M tiene la estructura de Fórmula VIa:

a 8 miembros opcionalmente sustituido o un heterocicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido.

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

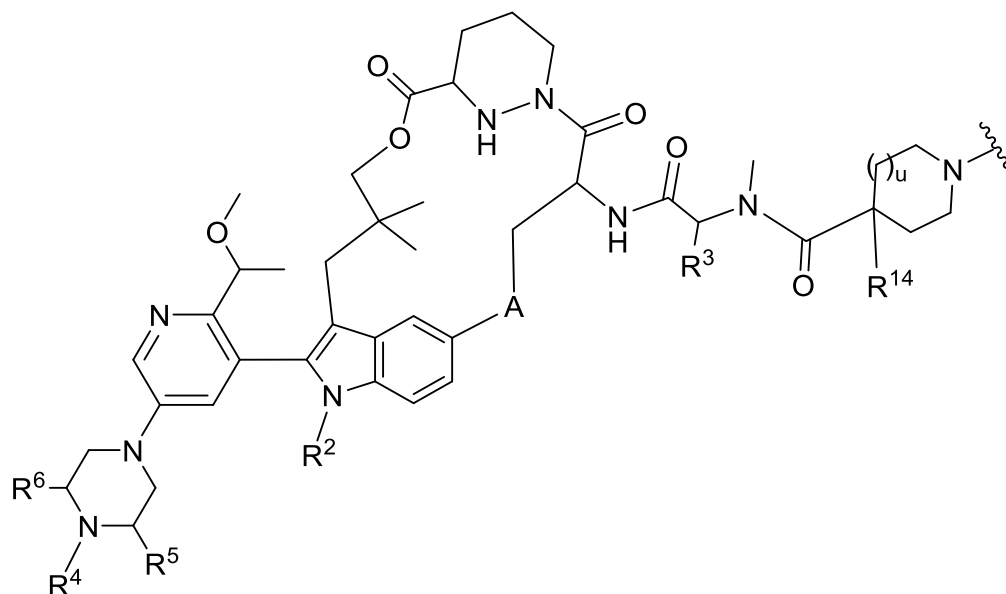
M-L-P

Fórmula V,

donde L es un enlazador;

P es un resto orgánico monovalente; y

M tiene la estructura de Fórmula VIb:



Fórmula VIb,

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;

R² es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido;

R³ es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido o heteroalquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido.

R¹⁴ es fluoro, hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

u es 0 o 1; y

R⁴, R⁵, y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido;

o

R⁴ y R⁵ 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^4 y R^6 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.

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

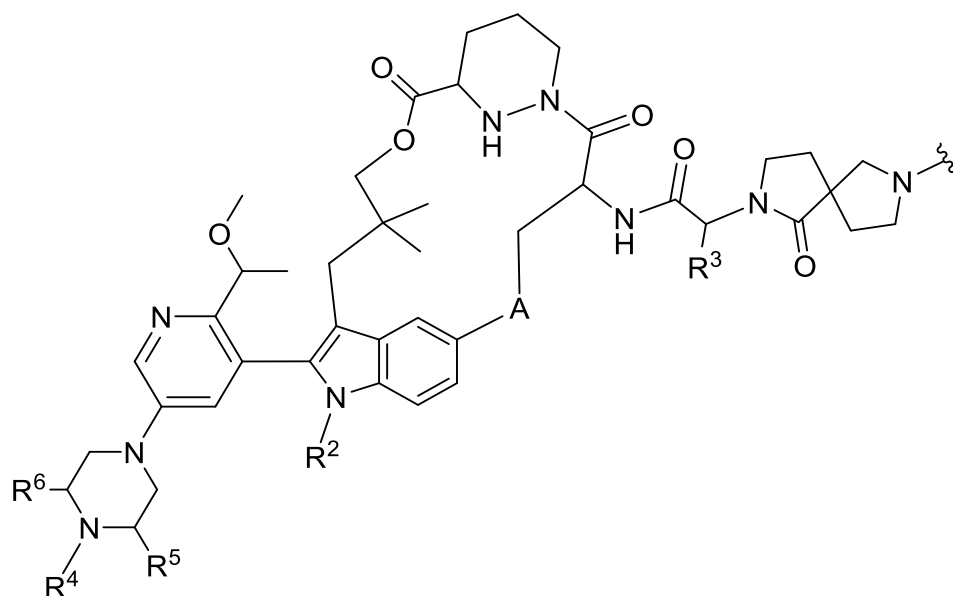
M-L-P

Fórmula V,

donde L es un enlazador;

P es un resto orgánico monovalente; y

M tiene la estructura de Fórmula VIc:



Fórmula VIc,

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;

R^2 es alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido;

R^3 es alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1 - C_3 opcionalmente sustituido;

y

R^4 , R^5 , y R^6 se seleccionan cada uno independientemente de 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^4 y R^5 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

5

R^4 y R^6 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.

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

10

M-L-P

Fórmula V,

donde L es un enlazador;

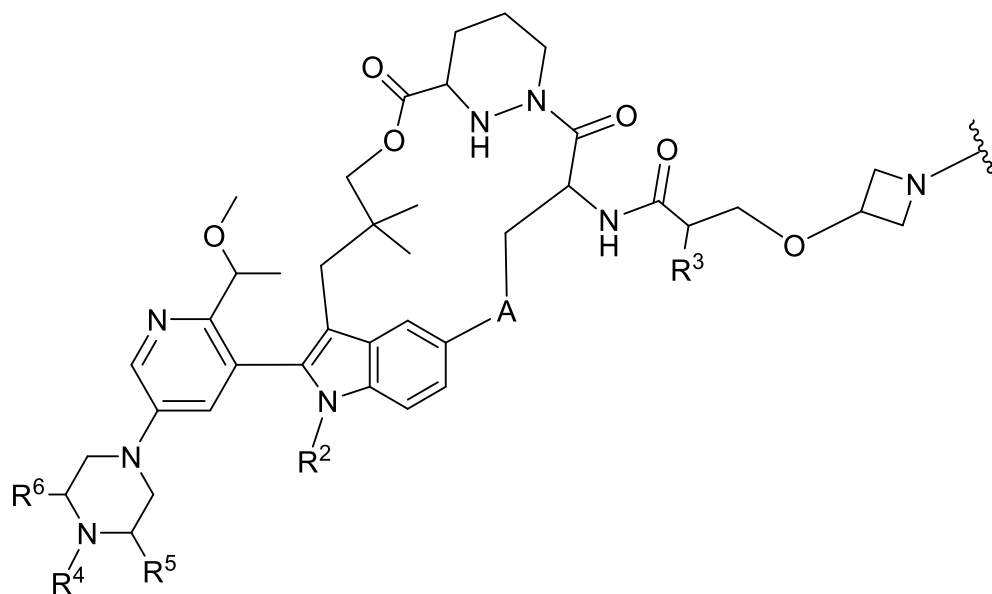
P es un resto orgánico monovalente; y

M tiene la estructura de Fórmula VIId:

15

20

25



Fórmula VIId,

30

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;

R^2 es alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido;

R^3 es alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1 - C_3 opcionalmente sustituido;

y

35

R^4 , R^5 , y R^6 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo C_1 - C_6

opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido; o

R⁴ y R⁵ 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

R⁴ y R⁶ 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 de conjugados 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 G12C, K-Ras G13C, H-Ras G12C, H-Ras G13C, N-Ras G12C, o N-Ras G13C. En algunas modalidades de conjugados de la presente invención, el enlazador está unido al resto orgánico monovalente a través de un enlace a un grupo sulfhidrido de un residuo de aminoácidos del resto orgánico monovalente.

Además se proporciona un método para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende administrarle al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de este. El cáncer puede ser, por ejemplo, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón de células no pequeñas, 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 de Ras, como K-Ras G12C, K-Ras G13C, H-Ras G12C, H-Ras G13C, N-Ras G12C, o N-Ras G13C. En la presente se describen otras mutaciones de Ras.

También se proporciona un método para tratar un trastorno relacionado con la proteína Ras en un sujeto que lo necesita, que comprende administrarle 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 G12C, K-Ras G13C, H-Ras G12C, H-Ras G13C, N-Ras G12C, o N-Ras G13C. En la presente se describen otras proteínas Ras. La célula puede ser una célula cancerosa, como una célula de cáncer pancreático, una célula de cáncer colorrectal, una célula de cáncer de pulmón de células no pequeñas, una célula de leucemia mieloide aguda, una célula de mieloma múltiple, una célula de adenocarcinoma de glándula tiroides, una célula de síndrome mielodisplásico o una célula de carcinoma pulmonar de células escamosas célula.- En la presente se describen otros tipos de

cánceres. La célula puede encontrarse in vivo o in vitro.

Además se proporciona un método para tratar un cáncer mutante K-Ras G13C con un compuesto de Fórmula II-5.

Además se proporciona un método para tratar un cáncer mutante K-Ras G12C con un compuesto de Fórmula II-6.

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 otro atropisómero puede presentar poca inhibición o nula.

En algunas modalidades, un método o uso descrito en el presente documento comprende además administrar una terapia anticancerígena adicional. En algunas modalidades, la terapia anticancerígena adicional es un inhibidor de HER2, 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 o una combinación de los mismos. En algunas modalidades, la terapia anticancerígena adicional es un inhibidor de SHP2. En el presente documento se describen otras terapias anticancerígenas adicionales.

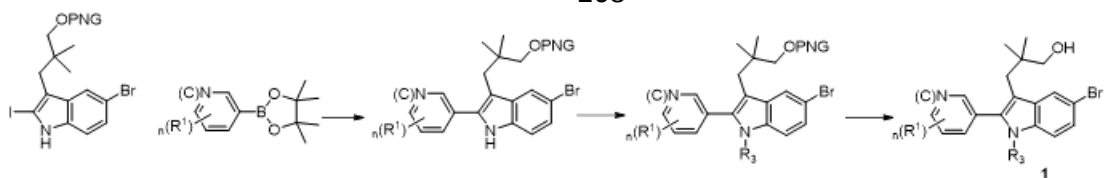
Métodos de síntesis

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.

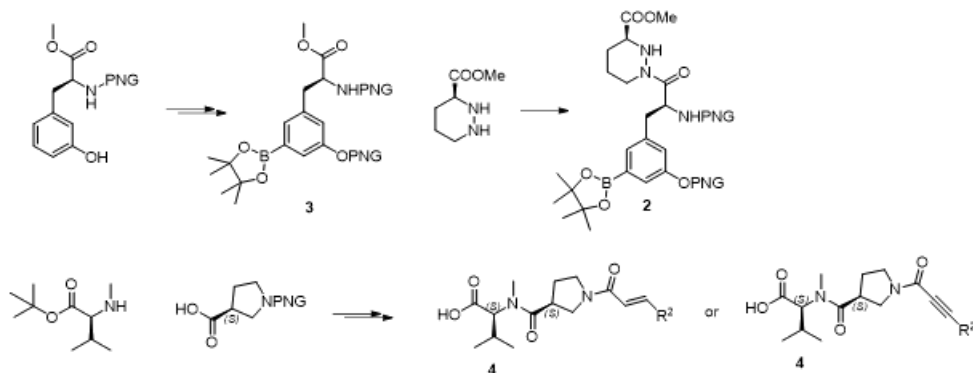
Los compuestos de la presente invención se pueden preparar de diversas formas conocidas por los expertos en la técnica de síntesis orgánica. A modo de ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse utilizando los métodos descritos en los Esquemas a continuación, junto con métodos sintéticos conocidos en la técnica de la química sintética orgánica, o variaciones de estos como lo aprecian los expertos en la técnica. Estos métodos incluyen, de modo no taxativo, los métodos que se describen en los Esquemas a continuación.

Esquema 1. Síntesis general de ésteres macrocíclicos

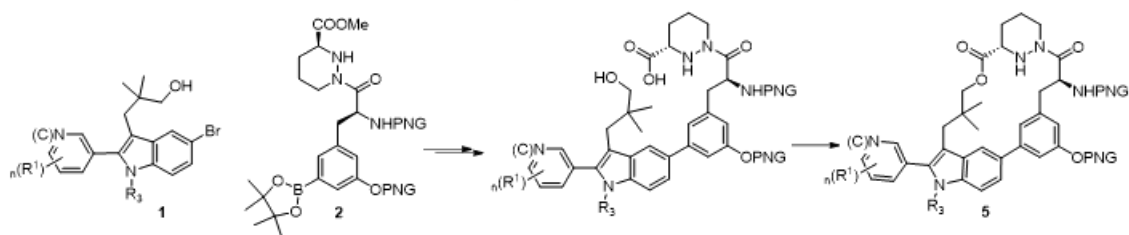
5



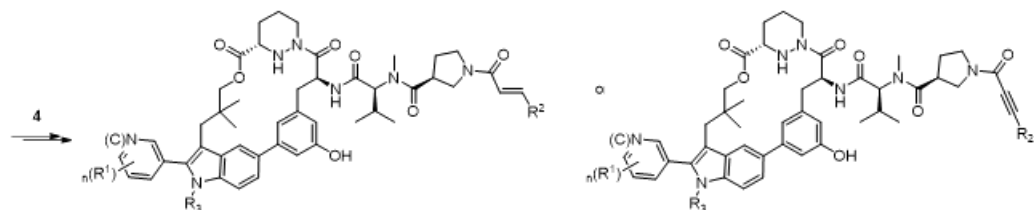
10



15



20



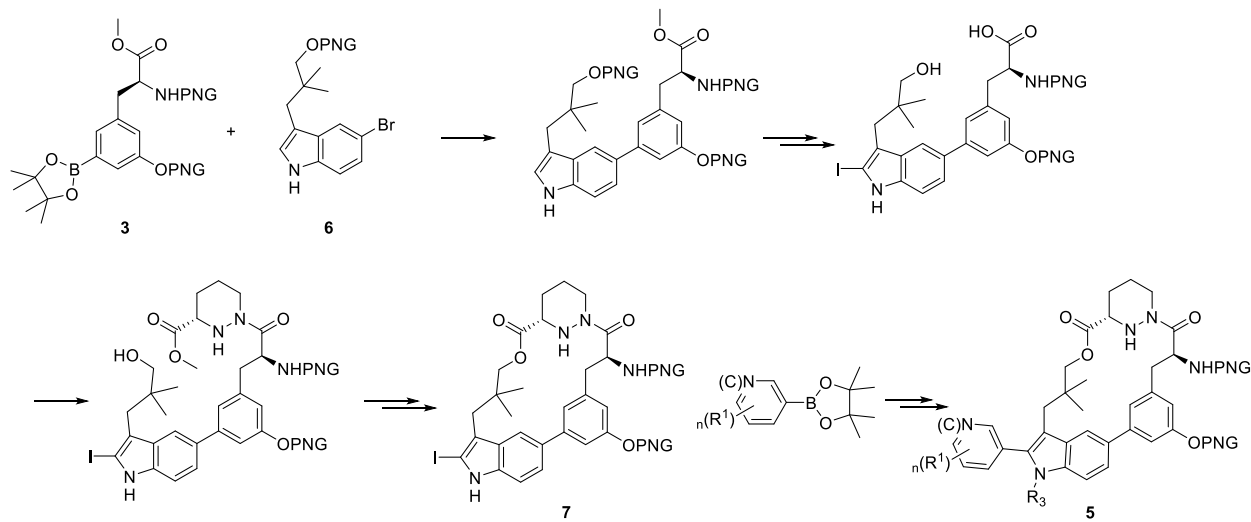
Una síntesis general de ésteres macrocíclicos se detalla en el Esquema 1. Un aril-3-(5-bromo-1-etil-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol adecuado (**1**) puede prepararse en tres pasos comenzando por 3-(5-bromo-2-yodo-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol protegido y ácido borónico sustituido de manera apropiada, que incluye reacciones de acoplamiento mediado por paladio, alquilación y desprotección. Éster metil-amino-hexahidropiridazina-3-carboxilato-borónico (**2**) puede prepararse en tres pasos, que incluye protección, borilación mediada por catalizador de iridio y acoplamiento con (S)-hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo metilo.

Una acetilpirrolidina-3-carbonil-N-metil-L-valina sustituida de manera adecuada (o un derivado de aminoácidos alternativo) (**4**) se puede elaborar al acoplar el metil-L-valinato y ácido (S)-pirrolidina-3-carboxílico protegido, seguido de desprotección, acoplado con un ácido carboxílico que contiene aceptor de Michael sustituido de manera adecuada, y un paso de hidrólisis.

Los ésteres macrocíclicos finales pueden elaborarse al acoplar el éster metil-amino-hexahidropiridazina-3-carboxilato-borónico (**2**) y aril-3-(5-bromo-1-etil-1H-indol-3-il)-2,2-

dimetilpropan-1-ol (**1**) en presencia de un catalizador de Pd seguido de pasos de hidrólisis y macrolactonización para que resulten en un intermedio macrocíclico protegido de manera adecuada (**5**). La desprotección y acoplamiento con un intermedio sustituido de manera adecuada (**4**) resulta en un producto macrocíclico. Se pueden requerir etapas de desprotección adicional o funcionalización para de rendimiento el compuesto final.

Esquema 2. Síntesis general alternativa de ésteres macrocíclicos



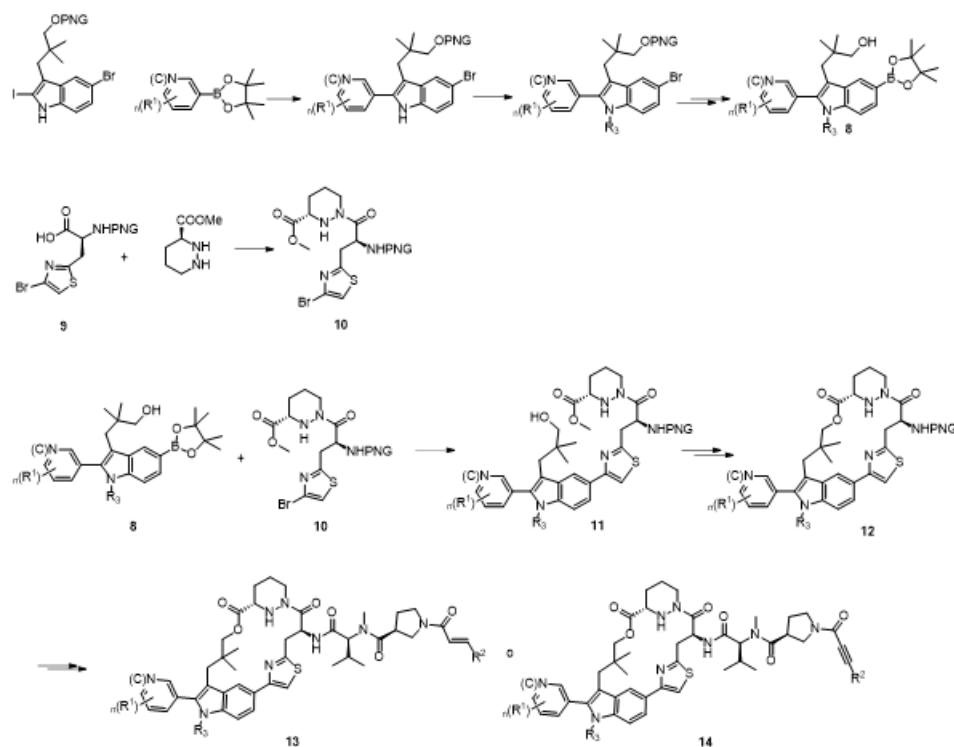
De manera alternativa, el éster macrocíclico se puede preparar como se describe en el Esquema 2. Un bromo-indolilo protegido de manera adecuada (**6**) acoplado en presencia de un catalizador de Pd con éster borónico (**3**), seguido de yodinación, desprotección e hidrólisis de éster. El acoplamiento posterior con (*S*)-hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo, seguido de hidrólisis y macrolactonización puede resultar en el intermedio de yodo (**7**). El acoplamiento en presencia de un catalizador de Pd con un éster borónico sustituido de manera adecuada y alquilación puede proporcionar un macrociclo completamente protegido (**5**). Se requiere pasos de desprotección o funcionalización adicionales para producir el compuesto final.

Además, los compuestos de la descripción pueden sintetizarse utilizando los métodos descritos en los Ejemplo a continuación, junto con métodos sintéticos conocidos en la técnica de la química sintética orgánica, o variaciones de estos como lo aprecian los expertos en la técnica. Estos métodos incluyen, de modo no taxativo, los métodos que se describen en los Ejemplos a continuación. Por ejemplo, un experto en la técnica podrá instalar en un éster macrocíclico un grupo -B-L-W deseado de un compuesto de Fórmula (I), donde B, L y W se definen en la presente, inclusive al usar los métodos ejemplificados en la sección de Ejemplos en la presente.

Los compuestos de la Tabla 1 en la presente se prepararon usando los métodos descritos en la presente o se prepararon usando métodos descritos en la presente en combinación con el

conocimiento de un experto en la técnica. Los compuestos de la Tabla 2 se pueden preparar usando los métodos descritos en la presente o se pueden preparar usando métodos descritos en la presente en combinación con el conocimiento de un experto en la técnica.

Esquema 3. Síntesis general de ésteres macrocíclicos



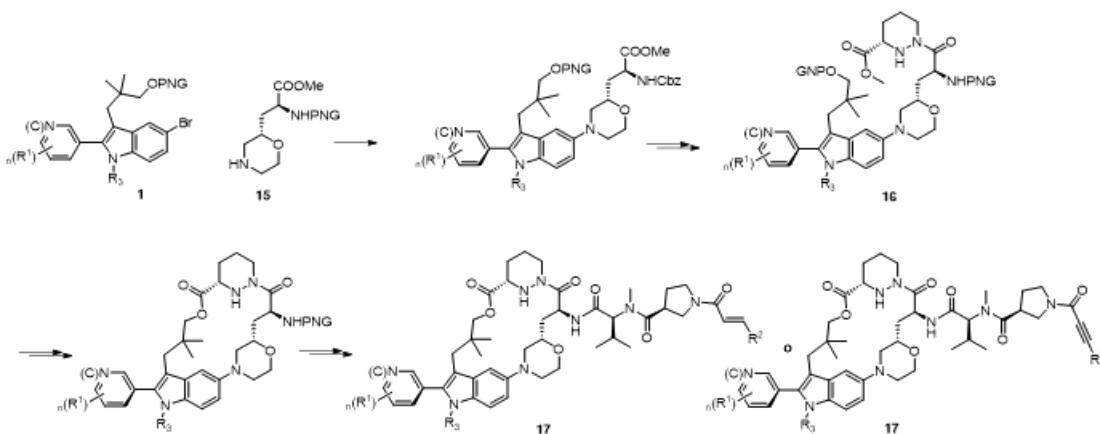
Una síntesis general alternativa de ésteres macrocíclicos se detalla en el Esquema 3. Un éster indolil borónico sustituido de manera apropiada (**8**) puede prepararse en cuatro pasos comenzando por 3-(5-bromo-2-yodo-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol protegido y ácido borónico sustituido de manera apropiada, que incluye reacciones de acoplamiento mediado por paladio, alquilación, desprotección y borilación mediada por paladio.

Metil-amino-3-(4-bromotiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (**10**) se puede preparar mediante acoplamiento de ácido (S)-2-amino-3-(4-bromotiazol-2-il)propanoico (**9**) con (S)-hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo.

Los ésteres macrocíclicos finales pueden elaborarse al acoplar metil-amino-3-(4-bromotiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato (**10**) y un éster indolil borónico sustituido de manera adecuada (**8**) en presencia de un catalizador de Pd seguido de pasos de hidrólisis y macrolactonización para que resulten en un intermedio macrocíclico protegido de manera adecuada (**11**). La desprotección y acoplamiento con un intermedio sustituido de manera adecuada **4** puede

resultar en un producto macrocíclico. Se pueden requerir pasos de desprotección o funcionalización adicionales para producir un compuesto final **13** o **14**.

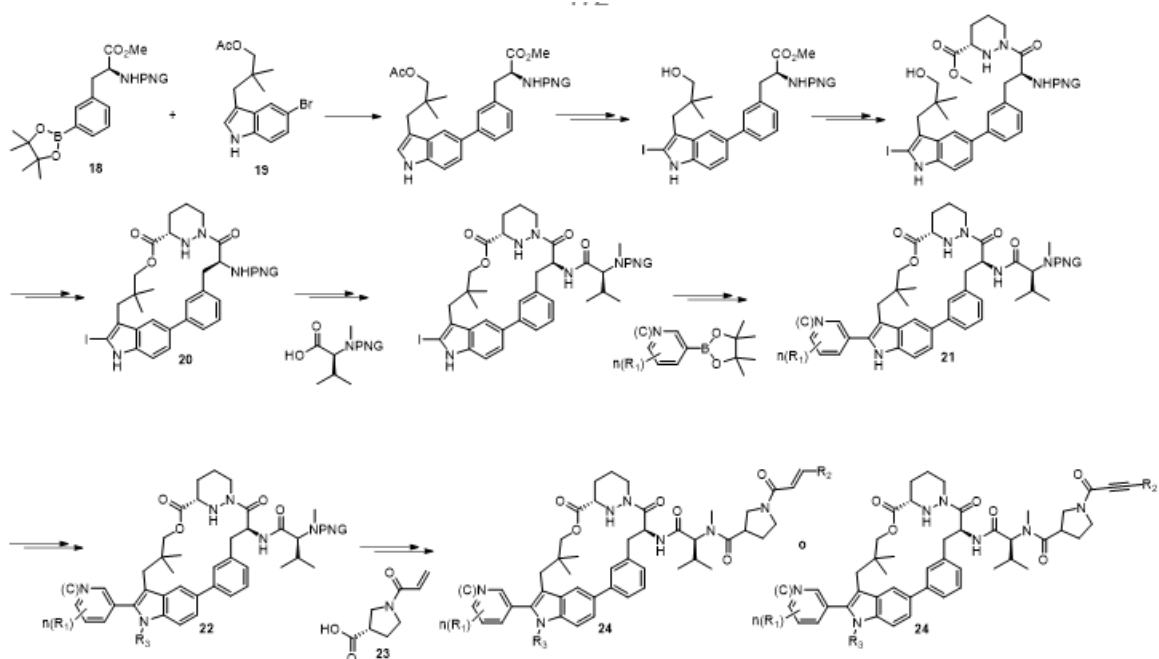
Esquema 4. Síntesis general de ésteres macrocíclicos



Una síntesis general alternativa de ésteres macrocíclicos se detalla en el Esquema 4. Una morfolina sustituida de manera adecuada o un intermedio herecíclico alternativo (**15**) pueden acoplarse con un Intermedio protegido de manera adecuada **1** mediante acoplamiento mediado por paladio. La posterior hidrólisis de éster, y acoplamiento con éster piperazicoico resulta en el intermedio **16**.

Los ésteres macrocíclicos pueden realizarse por secuencia de hidrólisis, desprotección y macrociclación. La posterior desprotección y acoplamiento con el Intermedio **4** (o análogos) resulta en productos macrocíclicos finales sustituidos de manera adecuada. Pasos de desprotección y funcionalización adicionales podrían requerirse para producir un compuesto final **17**.

Esquema 5. Síntesis general de ésteres macrocíclicos



Una síntesis general alternativa de ésteres macrocíclicos se detalla en el Esquema 5. Un macrociclo sustituido de manera adecuada (**20**) puede prepararse a partir de un éster borónico protegido de manera adecuada **18** e intermedio bromo indolilo (**19**), incluidos los pasos de acoplamiento mediado por paladio, hidrólisis, acoplamiento con éster piperazico, hidrólisis, desprotección, y macrociclación. El posterior acoplamiento con un aminoácido protegido sustituido de manera adecuada seguido por acoplamiento mediado por paladio proporciona el intermedio **21**. Los pasos de desprotección y derivatización adicionales, incluida la alquilación puede requerirse en este punto.

Los ésteres macrocíclicos finales pueden realizarse mediante acoplamiento del intermedio (**22**) y un intermedio de ácido carboxílico sustituido de manera adecuada (**23**). Pasos de desprotección y funcionalización adicionales podrían requerirse para producir un compuesto final (**24**).

Además, los compuestos de la descripción pueden sintetizarse utilizando los métodos descritos en los Ejemplo a continuación, junto con métodos sintéticos conocidos en la técnica de la química sintética orgánica, o variaciones de estos como lo aprecian los expertos en la técnica. Estos métodos incluyen, de modo no taxativo, los métodos que se describen en los Ejemplos a continuación. Por ejemplo, un experto en la técnica podrá instalar en un éster macrocíclico un grupo -B-L-W deseado de un compuesto de Fórmula (I), donde B, L y W se definen en la presente, inclusive

al usar los métodos ejemplificados en la sección de Ejemplos en la presente.

Composiciones farmacéuticas y métodos de uso

Composiciones farmacéuticas y métodos de administración

5 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.

10 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 dosificación unitaria adecuada para la administración en un régimen terapéutico que muestra una probabilidad significativa desde el punto de vista estadístico de lograr un efecto terapéutico predeterminado cuando se administra a una población relevante. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas se pueden formular especialmente para la administración en forma sólida o líquida, lo que incluye las adaptadas para lo siguiente: administración oral, por ejemplo, pociones (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, p. ej., los que se dirigen a la 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 una crema, un ungüento o un parche de liberación controlada o aerosol que se aplica a la piel, pulmones o cavidad bucal; por vía intravaginal o intrarrectal, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; por vía sublingual; ocular; transdérmica; o nasal, pulmonar; y a otras superficies mucosas.

Como se usa en la presente, un «excipiente farmacéuticamente aceptable» hace referencia a cualquier ingrediente inactivo (por ejemplo, un vehículo capaz de suspender o disolver el compuesto activo) y que tiene las propiedades de ser sustancialmente no tóxico y no inflamatorio en un sujeto.- Los excipientes típicos incluyen, por ejemplo: antiadherentes, antioxidantes, aglutinantes, recubrimientos, auxiliares de compresión, desintegrantes, colorantes (colores), emolientes, emulsionantes, rellenos (diluyentes), formadores de película o recubrimientos, sabores, fragancias, deslizantes (potenciadores de flujo), lubricantes, conservantes, tintas de impresión, sorbentes, agentes de suspensión o dispersión, edulcorantes o aguas de hidratación. Los excipientes incluyen, pero no se limitan a: hidroxitolueno butilado opcionalmente sustituido (BHT), carbonato de calcio,

fosfato de calcio (dibásico), estearato de calcio, croscarmelosa, polivinilpirrolidona reticulada, ácido cítrico, crospovidona, cisteína, etilcelulosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa opcionalmente sustituida, hidroxipropil metilcelulosa 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 al., *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. Filadelfia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2004; Gennaro, et al., *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. Philadelphia: 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 el presente documento, se refiere a aquellas sales de los compuestos descritos en la presente que, dentro del ámbito del buen juicio médico, son adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de los seres humanos y otros animales sin una toxicidad indebida, irritación, respuesta alérgica y similares, y que son acordes con una relación beneficio/riesgo razonable. Se conocen en la técnica 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. Las sales se pueden preparar in situ durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos descritos en este 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 para poder prepararse como sales farmacéuticamente aceptables. Estas sales pueden ser sales de adición de ácido que implican ácidos inorgánicos u orgánicos o las sales pueden, en el caso de las formas ácidas de los compuestos de la invención, prepararse a partir de bases inorgánicas u orgánicas. 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. Los ácidos y las bases farmacéuticamente aceptables adecuadas son conocidas en la técnica, tales como ácidos clorhídricos, sulfúricos, bromhídricos, acéticos, lácticos, cítricos o tartáricos para formar sales

de adición de ácido e hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, cafeína, diversas aminas y similares para formar sales básicas.- Los métodos para la preparación de las sales apropiadas están establecidas en la técnica.

Las sales de adición de ácido representativas incluyen sales de acetato, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroxibromuro, hidroxicloruro, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato opcionalmente sustituido, lactobionato, lactato, laurato, sulfato de laurilo, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares, así como cationes de amonio, amonio cuaternario y amina no tóxicos, que incluyen, de 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 humano.- En algunas modalidades, el animal no humano es un mamífero (p. ej., un roedor, un ratón, una rata, un conejo, un mono, un perro, un gato, una oveja, ganado, 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 con modificación genética 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 predeterminada de compuesto. 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 con una primera cantidad de dosificación, seguida por una o más dosis adicionales con una segunda cantidad de dosificación distinta de la primera cantidad de dosificación. En algunas modalidades, un régimen de dosificación comprende una primera dosis en una primera cantidad de dosificación, seguida por una o más dosis adicionales en una segunda cantidad de dosificación igual a la primera cantidad de dosificación. En algunas modalidades, un régimen de dosificación se correlaciona con un resultado deseado o favorable 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 relevante. 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. Por el contrario, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser la cantidad que proporcione una respuesta farmacológica deseada particular en una cantidad significativa 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 su uso como tratamiento de sujetos, los compuestos de la invención, o 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*, 21^a edición, Lippincott Williams & Wilkins, (2005); y *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, eds. J. Swarbrick y J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, Nueva York, cada uno de los cuales se incorpora en la presente mediante esta referencia.

Las composiciones se pueden preparar de acuerdo con los métodos de mezcla, granulación o recubrimiento convencionales, respectivamente, y las composiciones farmacéuticas de la presente pueden contener de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 5 % a aproximadamente 90 % o de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 % del compuesto de la presente invención, o 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 (p. ej., 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, p. ej., 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 (p. ej., 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 (p. ej., a un ser humano) puede ser por cualquier vía apropiada. Por ejemplo, en algunas modalidades, la administración puede ser bronquial (lo que incluye mediante instilación bronquial), bucal, enteral, interdérmica, intraarterial, intradérmica, intragástrica, intramedular, intramuscular, intranasal, intraperitoneal, intratecal, intravenosa, intraventricular, mucosa, nasal, oral, rectal, subcutánea, sublingual, tópica, traqueal (lo que incluye 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 inyección, las formulaciones se pueden preparar en formas convencionales como soluciones o suspensiones líquidas o como formas sólidas adecuadas para 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 como agentes humectantes o emulsionantes, agentes amortiguadores de pH y similares, como, por ejemplo, acetato de sodio, monolaurato de sorbitán y otros.

También se han desarrollado varios sistemas de liberación sostenida para fármacos. Ver, por ejemplo, patente estadounidense No. 5,624,677.

La administración sistémica también puede incluir 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 una sal farmacéuticamente aceptable de estos. Las formas adecuadas incluyen jarabes, cápsulas y comprimidos, 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 taxativos incluyen, de modo no taxativo, kits que contienen, p. ej., 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, como recipientes 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 un único uso para un sujeto, múltiples usos para un sujeto en particular (a una dosis constante o en la que los compuestos individuales, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, pueden variar en potencia según avanza el tratamiento); o el kit puede contener múltiples dosis adecuadas para su administración a múltiples sujetos («envasado a granel»). Los componentes del kit pueden ensamblarse en cajas de cartón, blisters, botellas, tubos y similares.

Las formulaciones para uso oral incluyen comprimidos que contienen el ingrediente(s) activo(s) en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos.- Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes o rellenos inertes (p. ej., sacarosa, sorbitol, azúcar, manitol, celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de papa, carbonato de calcio, cloruro de sodio, lactosa, fosfato de calcio, sulfato de calcio o fosfato de sodio); agentes de granulación y desintegrantes (p. ej., derivados de celulosa que incluyen celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de papa, croscarmelosa sódica, alginatos o ácido algínico); agentes aglutinantes (p. ej., sacarosa, glucosa, sorbitol, acacia, ácido algínico, alginato de sodio, gelatina, almidón, almidón pregelatinizado, celulosa microcristalina, silicato de aluminio y magnesio, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropil metilcelulosa opcionalmente sustituida, etilcelulosa, polivinilpirrolidona o polietilenglicol); y agentes lubricantes, deslizantes y antiadhesivos (p. ej., estearato de magnesio, estearato de cinc, 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 pueden presentarse como comprimidos masticables o como cápsulas de gelatina dura, donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte (p. ej., almidón de papa, lactosa, celulosa microcristalina, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín) o como cápsulas de gelatina blanda, donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva. Pueden prepararse polvos, granulados y gránulos usando los ingredientes mencionados anteriormente para comprimidos y cápsulas de una manera convencional usando, p. ej., un mezclador, un aparato de lecho fluido o un equipo de secado por pulverización.

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, p. ej., laca, cera de abejas, glycowax, cera de ricino, cera de carnaúba, alcohol estearílico, monoestearato de glicerilo, diestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerol, etilcelulosa, resinas acrílicas, ácido dl-poliláctico, butirato de acetato de celulosa, cloruro de polivinilo, acetato de polivinilo, vinil pirrolidona, polietileno, polimetacrilato, metilmetacrilato, 2-hidroximetacrilato 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, p. ej., metilcelulosa hidratada, cera de carnaúba y alcohol estearílico, carbopol 934, silicona, triestearato de glicerilo, metil acrilato-metil metacrilato, 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, aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 2000 mg por día, aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg por día, aproximadamente 5 mg a

aproximadamente 500 mg por día, aproximadamente 100 mg a aproximadamente 1500 mg por día, aproximadamente 500 mg a aproximadamente 1500 mg por día, aproximadamente 500 mg a aproximadamente 2000 mg por día, o cualquier intervalo que se puede derivar allí.

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 el suministro simple. 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 reconocerá que los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular y emplear junto con terapias, es decir, los compuestos y composiciones farmacéuticas se pueden formular o administrar simultánea, anterior o posteriormente a uno o más productos terapéuticos o procedimientos médicos deseados distintos. 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 alcanzar. También se reconocerá que las terapias empleadas pueden alcanzar un efecto deseado para el mismo trastorno o pueden alcanzar distintos efectos (p. ej., 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 un cáncer.

En consecuencia, 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 o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o sal. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer colorrectal, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer pancreático, cáncer de apéndice, melanoma, leucemia mieloide aguda,

cáncer de intestino delgado, cáncer ampular, cáncer de células germinales, cáncer cervical, cáncer de origen primario desconocido, cáncer endometrial, cáncer esofagogástrico, cáncer neuroendócrino GI, cáncer de ovario, cáncer de tumor estromal cordón sexual, cáncer hepatobiliar, o cáncer de vejiga. En algunas modalidades, el cáncer es apendicular, endometrial o melanoma.

5 También se proporciona un método para tratar un trastorno relacionado con la proteína Ras en un sujeto que lo necesita, que comprende administrarle 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.

10 En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención o sales farmacéuticamente aceptables de estos, composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos o sales, y métodos proporcionados en la presente pueden usarse para el tratamiento de una amplia variedad de cánceres que incluyen tumores como carcinomas de pulmón, próstata, mama, cerebro, piel, cervicales, carcinomas testiculares, etc. Más particularmente, los cánceres que pueden tratarse por los compuestos o sales de estos, las composiciones farmacéuticas que
15 comprenden tales compuestos o sales, y métodos de la invención incluyen, entre otros tipos de tumores como carcinomas astrocíticos, mama, cervical, colorrectal, endometrial, esofágico, gástrico, cabeza y cuello, hepatocelular, laringe, pulmón, oral, ovario, próstata y tiroideos y sarcomas. Otros cánceres incluyen, por ejemplo:

Cardíacos, por ejemplo: sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rabdomiosarcoma, liposarcoma), mixoma, rabdomioma, fibroma, lipoma, y teratoma;
20

De pulmón, por ejemplo: carcinoma broncogénico (célula escamosa, de células pequeñas no diferenciado, macrocítico no diferenciado, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma;

25 Gastrointestinales, por ejemplo: esófago (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomiosarcoma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma, leiomiosarcoma), páncreas (adenocarcinoma ductal, insulinoma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma vellosa, hamartoma, leiomioma);
30

Del tracto genitourinario, por ejemplo: riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilm (nefroblastoma), linfoma, leucemia), vejiga y uretra (carcinoma de células escamosas, carcinoma de células transicionales, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículos (seminoma, teratoma, carcinoma embrional, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoides, lipoma);
35

De hígado, por ejemplo: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular y hemangioma;

Del tracto biliar, por ejemplo: carcinoma de vesícula biliar, carcinoma ampular, colangiocarcinoma;

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

10 Del sistema nervioso, por ejemplo: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteítis deformante), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma (pinealoma), glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), neurofibroma de la espina dorsal, neurofibromatosis tipo 1, meningioma, glioma, sarcoma);

15 Ginecológicos, por ejemplo, de útero (carcinoma endometrial, carcinoma uterino, carcinoma endometrial de cuerpo uterino), de cuello de útero (carcinoma cervical, displasia cervical pretumoral), de ovarios (carcinoma de ovario (cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado), tumores de células de la granulosa, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), de vulva (carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), de vagina (carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioide (rabdomyosarcoma embrionario), de trompas de Falopio (carcinoma);

20 Hematológicos, por ejemplo: sangre (leucemia mieloide (aguda y crónica), leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica); enfermedades mieloproliferativas (p. ej., mielofibrosis y neoplasmas mieloproliferativos); mieloma múltiple; síndromes mielodisplásicos, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgking (linfoma maligno);

25 Piel, por ejemplo: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, nevos displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis; y

30 De las glándulas suprarrenales, por ejemplo: neuroblastoma.

En algunas modalidades, 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 una 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

35

emplea en un método para tratar a un paciente que tiene un cáncer, que comprende una Ras^{amp} (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 el presente documento. En algunas modalidades, la mutación se selecciona de:

- 5 (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, 10 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 un mutante 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. 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, 30 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 (p. ej., 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- o 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. Tales medios incluyen, entre otros, secuenciación directa, y utilización de un ensayos de diagnóstico de alta sensibilidad (con marca CE-IVD), p. ej., 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, por ejemplo, WO 2020/106640.

En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas 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 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 de páncreas y la mutación Ras comprende una mutación K-Ras, tal como K-Ras G12D o K-Ras G12V. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de páncreas y la mutación de Ras comprende una mutación N-Ras, tal como N-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es melanoma y la mutación de Ras comprende una mutación N-Ras, tal como N-Ras Q61R o N-Ras Q61K. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas y la proteína Ras es K-Ras^{amp}. En cualquiera de los anteriores, si aún no se especifica, un compuesto puede inhibir Ras^{WT} (p. ej., K-, H- o N-Ras^{WT}) o Ras^{amp} (p. ej., K-, H- o N-Ras^{amp}) también.

En algunas modalidades, un cáncer comprende una mutación de Ras y una mutación STK11^{LOF}, KEAP1, EPHA5 o NF1. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas y comprende una mutación K-Ras G12C. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas y comprende una mutación K-Ras G12C y una mutación STK11^{LOF}. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas y comprende una mutación K-Ras G12C y una mutación STK11^{LOF}. En algunas modalidades, un cáncer comprende una mutación de K-Ras G13C y una mutación STK11^{LOF}, KEAP1, EPHA5 o NF1. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas y comprende una mutación K-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas y comprende una mutación K-Ras G12V. En algunas

modalidades, el cáncer es cáncer colorrectal y comprende una mutación K-Ras G12C. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de páncreas y comprende una mutación K-Ras G12C o K-Ras G12D. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de páncreas y comprende una mutación K-Ras G12V. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de endometrio, cáncer de ovario, colangiocarcinoma o cáncer de apéndice mucinoso y comprende una mutación K-Ras G12C. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer gástrico y comprende una mutación K-Ras G12C. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer colorrectal o cáncer de páncreas y comprende una mutación K-Ras G13C. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón o de páncreas y comprende una mutación K-Ras G13C. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de pulmón y comprende una mutación K-Ras G13C. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de páncreas y comprende una mutación K-Ras G13C. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer colorrectal y comprende una mutación K-Ras G13C. En cualquiera de los anteriores, un compuesto puede inhibir Ras^{WT} (p. ej., K-, H- o N-Ras^{WT}) o Ras^{amp} (p. ej., K-, H- o N-Ras^{amp}) también.

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. También se proporciona un método para inhibir la unión RAF-Ras, 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. La célula puede ser una célula cancerosa. La célula cancerosa puede ser de cualquier tipo de cáncer descrito en el presente documento. 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 (p. ej., 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 se puede administrar antes, después o al mismo tiempo que una o más de tales terapias adicionales. Cuando se combinan, las dosificaciones de un compuesto de la invención y las dosificaciones de una o más terapias adicionales (p. ej., tratamiento no farmacológico o agente terapéutico) proporcionan un efecto terapéutico (p. ej., efecto terapéutico sinérgico o aditivo). Un compuesto de la presente invención y una terapia adicional, como un agente anticanceroso, pueden administrarse juntos, como en una composición farmacéutica unitaria, o por

separado y, cuando se administran por separado, esto puede producirse de forma simultánea o secuencial. Tal administración secuencial puede ser cercana o distante en el tiempo.

En algunas modalidades, la terapia adicional es la administración de agentes que limitan los efectos secundarios (por ejemplo, agentes que pretenden disminuir la aparición o 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 pueden usarse para tratar las náuseas incluyen: dronabinol; granisetron; 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, las una o más terapias adicionales incluyen un agente terapéutico (p. ej., un compuesto o agente biológico que es un agente antiangiogénico, inhibidor de la transducción de señales, agente antiproliferativo, inhibidor de la glucólisis o inhibidor de la autofagia). En algunas modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen un tratamiento no farmacológico (p. ej., cirugía o radioterapia) y un agente terapéutico (p. ej., un compuesto o agente biológico que es un agente antiangiogénico, inhibidor de la transducción de señales, 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 dos agentes terapéuticos.

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

Terapias no farmacológicas

Los ejemplos de tratamientos no farmacológicos incluyen, de modo no taxativo, radioterapia, crioterapia, hipertermia, cirugía (por ejemplo, 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 puede usarse para inhibir el crecimiento celular anormal o tratar un trastorno hiperproliferativo, como el cáncer, en un sujeto (p. ej., mamífero (p. ej., ser humano)). En la técnica se conocen las técnicas para administrar la radioterapia. La radioterapia puede administrarse a través de uno de varios métodos, o una combinación de métodos, que incluye, entre otros, terapia de haces externos, radioterapia interna, radiación de implante, radiocirugía estereotáctica, radioterapia sistémica, radioterapia, y braquiterapia intersticial permanente o temporal. El término

«terapia braquial», como se usa en la presente, se refiere a la radioterapia administrada por un material radiactivo espacialmente confinado insertado en el cuerpo en o cerca de un tumor u otro sitio de enfermedad de tejido proliferativo. Se pretende que el término incluya, entre otros, la exposición a isótopos radioactivos (p. ej., 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 taxativo, la fuente de radiación puede ser un radionúclido, tal como I-125, I-131, Yb-169, Ir-192 como una fuente sólida, I-125 como una fuente sólida, u otros radionúclidos que emiten fotones, partículas beta, radiación gamma u otros rayos terapéuticos. El material radiactivo también puede ser un fluido fabricado de cualquier solución de radionúclido(s), p. ej., una solución de I-125 o I-131, o un fluido radiactivo puede producirse utilizando una suspensión de un fluido adecuado que contenga pequeñas partículas de radionúclidos sólidos, como Au-198 o Y-90. Además, el o los radionúclidos pueden incorporarse en un gel o en microesferas radiactivas.

En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención pueden volver a las células anormales más sensibles al tratamiento con radiación con el fin de detener o inhibir el crecimiento de dichas células. Por consiguiente, la presente invención se refiere, además, a un método para sensibilizar las 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 las células anormales al tratamiento con radiación. La cantidad del compuesto en este método puede determinarse de acuerdo con los medios para decidir las cantidades eficaces de dichos compuestos como se describe en la presente. En algunas modalidades, los compuestos de la presente invención pueden usarse como terapia adyuvante después de la radioterapia o 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, la célula T es una célula T activada. La célula T puede modificarse para expresar un receptor de antígenos quiméricos (CAR). Las células T codificadas con CAR (CAR-T) pueden generarse mediante cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, las células CAR-T pueden generarse mediante la introducción de un vector de expresión adecuado que codifica el CAR en una célula T. Antes de la expansión y modificación genética de las células T, se obtiene una fuente de células T de un sujeto. Las células T se pueden obtener de varias fuentes, incluidas las células mononucleares de sangre periférica, médula ósea, tejido de los ganglios linfáticos, sangre del cordón umbilical, tejido del timo, tejido de un sitio de infección, ascitis, derrame pleural, tejido del bazo y tumores. En determinadas modalidades de la presente invención, es posible usar cualquier cantidad de líneas de células T disponibles en la técnica. En algunas modalidades, la célula T es una célula T autóloga. Ya sea antes o después de

la modificación genética de las células T para expresar una proteína deseada (p. ej., un CAR), las células T pueden activarse y expandirse generalmente mediante el uso de métodos como se describe, por ejemplo, en las patentes estadounidenses 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, de modo no taxativo, 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difuprednato, enoxolona, fluazacort, flucoronida, flumetasona, flunisolida, acetónido de fluocinolona, fluocinonida, fluocortina butilo, fluocortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednidenol, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortal, halcinonida, propionato de halobetasol, halometasona, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, mazipredona, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbata, prednisolona, 25-dietilaminoacetato de prednisolona, 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.

Los ejemplos adicionales de agentes terapéuticos que pueden usarse en la terapia de combinación con un compuesto de la presente invención incluyen compuestos descritos en las siguientes patentes: patentes estadounidenses n.º 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 (p. ej., citocina (p. ej., interferón o una interleucina como IL-2)) utilizado en el tratamiento del cáncer o síntomas asociados con el mismo. En algunas modalidades, el agente biológico es un agente biológico basado en inmunoglobulina, p. ej., un anticuerpo monoclonal (p. ej., un anticuerpo humanizado, un anticuerpo completamente humano, una proteína de fusión Fc o un fragmento funcional de esta) que agoniza un objetivo para

estimular una respuesta anticancerosa o antagoniza un antígeno importante para el cáncer. También se incluyen conjugados de anticuerpo-fármaco.

Un agente terapéutico puede ser un inhibidor del punto de control de células T. En una modalidad, el inhibidor de puntos de control es un anticuerpo inhibidor (p. ej., 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 proteínas de fusión, por ejemplo, una proteínas de fusión al receptor de Fc. En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es un agente, tal como un anticuerpo, que interactúa con una proteína del punto de control. En algunas modalidades, el inhibidor del punto de control es un agente, tal 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 PD-L2/Ig). 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 de PD-L1 como, p. ej., avelumab, durvalumab, atezolizumab, pidilizumab, JNJ-63723283 (JNJ), BGB-A317 (BeiGene & Celgene) o un inhibidor del 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 con el mismo (p. ej., un agente citotóxico, moléculas pequeñas no peptídicas u otro compuesto útil en el tratamiento del cáncer o los síntomas asociados con el mismo, colectivamente, un «agente anticanceroso»). Los agentes anticancerosos pueden ser, p. ej., agentes quimioterapéuticos o de terapia dirigida.

Los agentes anticancerígenos incluyen inhibidores mitóticos, antibióticos intercalantes, inhibidores del factor de crecimiento, inhibidores del ciclo celular, enzimas, inhibidores de la topoisomerasa, modificadores de respuesta biológica, agentes alquilantes, antimetabolitos, análogos de ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores relacionados, alcaloides de la vinca, epipodofilotoxinas, antibióticos, L-asparaginasa, inhibidores de la topoisomerasa, interferones, complejos de coordinación de platino, urea sustituida con antracenediona, derivados de metilhidrazina, supresores adrenocorticales, adrenocorticosteroides, progestinas, estrógenos, antiestrógenos, andrógenos, antiandrógenos, y análogos de la hormona de liberación de gonadotropina. Otros agentes anticancerígenos incluyen leucovorina (LV), irenotecán, oxaliplatino, capecitabina, paclitaxel y doxetaxel. En algunas modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen dos o más agentes anticancerígenos. Los dos o más agentes anticancerígenos pueden usarse en un cóctel para administrarse en combinación o administrarse por separado. Los regímenes de dosificación adecuados de la combinación de agentes anticancerígenos 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 taxativos de agentes anticancerígenos incluyen Gleevec® (mesilato de Imatinib); Kypolis® (carfilzomib); Velcade® (bortezomib); Casodex (bicalutamida); Iressa® (gefitinib); agentes alquilantes como tiotepa y la ciclofosfamida; alquilsulfonatos como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas como benzodopa, carbocina, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas que incluyen altretamina, trietilenomelamina, trietilenofosforamida, trietilenotiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (en especial bulatacina y bulatacinona); una camptotecina (incluido el análogo sintético topotecano); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluidos sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (en particular criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluidos los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; sarcodicitina A; espongistatina; mostazas de nitrógeno como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos como los antibióticos de enedina (p. ej., caliqueamicina, como caliqueamicina gammall y caliqueamicina omegall (véase, p. ej., Agnew, *Chem. Intl. Ed Engl.* 33:183-186 (1994)); dinemicina, como dinemicina A; bisfosfonatos, como clodronato; una esperamicina; cromóforo neocarcinostatina y cromóforos antibióticos de cromoproteína enedina relacionados, aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, caminomicina, carminomicina, carcinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, adriamicina

(doxorubicina), morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina, desoxidoxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabolitos como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico como denopterina, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina como fludarabina, 6-mercaptapurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestano, mepitioestano, testolactona; agentes antiadrenales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; rellenos de ácido fólico como ácido frolínico; aceglatona; glicósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; eflornitina; acetato de eliptinio; una epotilona como epotilona B; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinano; lonidamina; maitansinoides como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; complejo de polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxana; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; tricotecenos como toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina; uretano; vindesina; dacarbazina; mannomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido («Ara-C»); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, p. ej., Taxol® (paclitaxel), Abraxane® (formulación de paclitaxel en nanopartículas modificadas de albúmina sin cremofor), y Taxotere® (doxetaxel); clorambucilo; tamoxifeno (Nolvadex™); raloxifeno; 4(5)-imidazoles que inhiben la aromatasa; 4-hidroxitamoxifeno; trioxifeno; keoxifeno; LY 117018; onapristona; toremifeno (Fareston®); flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, goserelina; clorambucilo; gemcitabina Gemzar®; 6-tioguanina; mercaptopurina; complejos de coordinación de platino como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; Navelbine® (vinorelbina); novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; ibandronato; irinotecán (p. ej., CPT-11); inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides como ácido retinoico; esperamicinas; capecitabina (p. ej., Xeloda®); y sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Ejemplos adicionales no taxativos de agentes anticancerosos incluyen trastuzumab (Herceptin®), bevacizumab (Avastin®), cetuximab (Erbix®), rituximab (Rituxan®), Taxol®, Arimidex®, ABVD, avicine, abagovomab, acridina carboxamida, adecatumumab, 17-N-alilamino-17-demetoxigeldanamicina, alfaradina, alvocidib, 3-aminopiridina-2-carboxaldehído tiosemicarbazona, amonafida, antracenodiona, 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, brostalicina, briostatina, butionina sulfoximina, CBV (quimioterapia), caliculina, ácido dicloroacético, discodermolida, elsamitrucina, enocitabina, eribulina, exatecán, exisulind, ferruginol, forodesina, fosfestrol, régimen de quimioterapia ICE, IT-101, imexon, imiquimod, indolocarbazol, irofulven, laniquidar, larotaxel, lenalidomida, lucanthone, lurtotecan, 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 taxativos de agentes anticancerosos incluyen productos naturales como alcaloides de la vinca (p. ej., vinblastina, vincristina y vinorelbina), epidipodofilotoxinas (p. ej., etopósido y tenipósido), antibióticos (p. ej., dactinomicina (actinomicina D), daunorubicina e idarubicina), 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 de sintetizar su propia asparagina), agentes antiplaquetarios, agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos como las mostazas nitrogenadas (p. ej., mecloretamina, ciclofosfamida y análogos, melfalán y clorambucil), etileniminas y metilmelaminas (p. ej., hexaametilammina y tiotepa), inhibidores de CDK (p. ej., un inhibidor de CDK4/6 como abemaciclib, ribociclib, o 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), trazenes-dacarbazina (DTIC), antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos como los análogos del ácido fólico, análogos de la pirimidina (p. ej., fluorouracilo, floxuridina y citarabina), análogos de la 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), procarbazona, hidroxiurea, mitotano, aminoglutetimida, inhibidores de la histona deacetilasa (HDAC) (p. ej., trichostatina, butirato sódico, apicidán, ácido hidroámico de anilida suberoil, vorinostat, LBH 589, romidepsina, ACY-1215 y panobinostat), inhibidores de KSP(Eg5) (p. ej., Array 520), agentes de unión al ADN (p. ej., Zalypsis®), inhibidores de PI3K como el inhibidor delta de PI3K (p. ej., GS-1101 y TGR-1202), inhibidor delta y gamma de PI3K (p. ej., CAL-130), copanlisib, alpelisib e idelalisib; inhibidor de multiquinasas (p. ej., TG02 y sorafenib), hormonas (p. ej., estrógenos) y agonistas hormonales como agonistas de la hormona liberadora de hormona leutinizante (LHRH) (p. ej., goserelina, leuprolida y triptorelina), anticuerpos neutralizadores de BAFF (p. ej., LY2127399), inhibidores de IKK, inhibidores de p38MAPK, antiIL-6 (p. ej., CNT0328),

inhibidores de la telomerasa (p. ej., GRN 163L), inhibidores de la aurora quinasa (p. ej., MLN8237), anticuerpos monoclonales de la 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 quinasas específicos de Torcl/2 (p. ej., INK128), agentes dirigidos al 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, un agente anticanceroso se selecciona de mecloretamina, camptotecina, ifosfamida, tamoxifeno, raloxifeno, gemcitabina, Navelbine®, sorafenib, o cualquier análogo o derivado variante de lo anterior.

En algunas modalidades, el agente anticanceroso es un inhibidor de HER2. Los ejemplos no taxativos de inhibidores de HER2 incluyen anticuerpos monoclonales como trastuzumab (Herceptin®) y pertuzumab (Perjeta®); inhibidor de la tirosina quinasa 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, y JNJ-26483327.

En algunas modalidades, un agente anticanceroso es un inhibidor de ALK. Los ejemplos no taxativos 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 quinasa en los ejemplos 3-39 del documento WO05016894.

En algunas modalidades, un agente anticancerígeno es un inhibidor de un miembro posterior de un Receptor Tirosina Quinasa (RTK)/Receptor del Factor de Crecimiento (por ejemplo, un inhibidor de SHP2 (por ejemplo, SHP099, TNO155, RMC-4550, RMC-4630, JAB-3068, JAB-3312, RLY-1971, ERAS-601, SH3809, PF-07284892, o BBP-398), un inhibidor de SOS1 (por ejemplo, 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 (por ejemplo, un inhibidor de mTORC1 o de mTORC2). En algunas modalidades, el agente contra el cáncer es JAB-3312.

En algunas modalidades, un agente anticancerígeno es un inhibidor adicional de Ras o una vacuna de Ras, u otra modalidad terapéutica diseñada para disminuir de forma directa o indirecta 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 aquí como referencia en su totalidad. En algunas

5 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

10 inhibidor de K-Ras G12D, como ERAS-4, MRTX1133, RMC-9805 o JAB-22000. En algunas modalidades, el inhibidor de Ras es un inhibidor de K-Ras G12V, 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 aquí como referencia en su totalidad: WO 2022087624, WO 2022087375, WO

15 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

20 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

25 2021180181, WO 2021175199, WO 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

30 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

35 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 (por ejemplo, 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 ruta de la MAP quinasa (MAPK) (o «inhibidor 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 puede seleccionarse 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 disruptor o inhibidor de las vías de señalización 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 (Basel) 2015 Sep; 7(3): 1758–1784. Por ejemplo, el inhibidor PI3K/AKT se puede seleccionar de uno o más de NVP-BEZ235; BGT226; XL765/SAR245409; SF1126; GDC-0980; PI-103; PF-04691502; PKI-587; GSK2126458.

En algunas modalidades, un 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 molécula pequeña, inhibidores de anticuerpos o nucleótidos antisentido específicos o siARN. Los inhibidores de anticuerpos útiles de EGFR incluyen cetuximab (Erbix®), 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 taxativos de inhibidores de EGFR basados en anticuerpos incluyen los 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 al., 1999, Cancer Res. 15:59(8):1935-40; y Yang et al., 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 molécula pequeña 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®). Los ejemplos no taxativos adicionales 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 n.º 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: patente estadounidense n.º 5,789,427; patente estadounidense n.º 5,650,415; patente estadounidense n.º 5,656,643; WO99/35146; WO99/35132; WO99/07701; y WO92/20642. Los ejemplos no taxativos adicionales de inhibidores de EGFR de molécula pequeña 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 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 (Cotellic®), 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

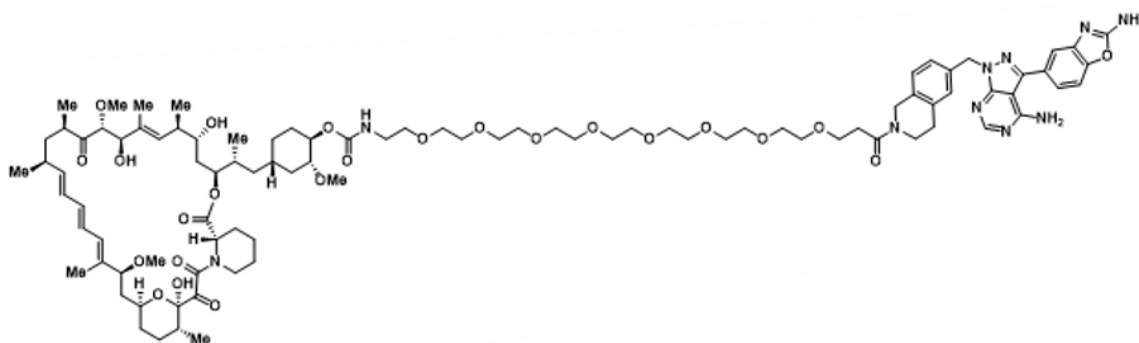
de D67N; P124L; P124S; y L177V. En algunas modalidades, la mutación MEK es una mutación MEK1 de Clase II seleccionada de Δ E51-Q58; Δ F53-Q58; E203K; L177M; C121S; F53L; K57E; Q56P; y K57N.

Los inhibidores de PI3K incluyen, de modo no taxativo, wortmanina; análogos de 17-hidroxiwortmanina descritos en WO06/044453; 4-[2-(1H-Indazol-4-il)-6-[[4-(metilsulfonil)piperazin-1-il]metil]tieno[3,2-d]pirimidin-4-il]morfolina (también conocida como pictilisib o GDC-0941 y descrita en WO09/036082 y WO09/055730); 2-metil-2-[4-[3-metil-2-oxo-8-(quinolin-3-il)-2,3-dihidroimidazo[4,5-c]quinolin-1-il]fenil]propionitrilo (también conocido como BEZ 235 o NVP-BEZ 235, y descrito en WO06/122806); (S)-l-(4-((2-(2-aminopirimidin-5-il)-7-metil-4-morfolinotieno[3,2-d]pirimidin-6-il)metil)piperazin-1-il)-2-hidroxiopropan-1-ona (descrita en WO08/070740); LY294002 (2-(4-morfolinil)-8-fenil-4H-l-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 ácido (2-metil-5-nitro-2-[(6-bromoimidazo[1,2-a]piridin-3-il)metileno]-1-metilhidrazida-benzenesulfónico, monoclóridato) (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-[l-[5-(4-fluoro-2-hidroxi-fenil)-furan-2-il]-met-(Z)-ilideno]-tiazolidina-2,4-diona (disponible en Axon Medchem); TGX-221 (7-metil-2-(4-morfolinil)-9-[1-(fenilamino)etil]-4H-pirido-[1,2-a]piriridin-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 Aktl y 2) (Barnett et al., Biochem. J. 2005, 385(Pt. 2): 399-408); API-59CJ-Ome (por ejemplo, Jin et al., Br. J. Cancer 2004, 91:1808-12); compuestos de 1-H-imidazo[4,5-c]piridinilo (por ejemplo, WO 05/011700); indol-3-carbinol y derivados de este (por ejemplo, patente estadounidense n.º 6,656,963; Sarkar y Li J Nutr. 2004, 134(12 Supl):3493S-3498S); perifosina (por ejemplo, interfiere con la localización de membrana Akt; Dasmahapatra et al. Clin. Cancer Res. 2004, 10(15):5242-52); análogos lipídicos de éter de fosfatidilinositol (por ejemplo, Gills y Dennis Expert. Opin. Investig. Drugs 2004, 13:787-97); y tricitribina (TCN o API-2 o identificador de NCI: NSC 154020; Yang et al., Cancer Res. 2004, 64:4394-9).

Los inhibidores de mTOR incluyen, de modo no taxativo, inhibidores ATP-competitivos mTORC1/mTORC2, por ejemplo, PI-103, PP242, PP30; torin 1; potenciadores de FKBP12; derivados de 4H-1-benzopiran-4-ona; y rapamicina (también conocida como sirolimus) y sus derivados, incluidos: temsirolimus (Torisel®); everolimus (Afinitor®; WO94/09010); ridaforolimus (también conocido como deforolimus o AP23573); rapálogos, por ejemplo, como se describe en

WO98/02441 y WO01/14387, por ejemplo, AP23464 y AP23841; 40-(2-hidroxietil)rapamicina; 40-[3-hidroxi(hidroximetil)metilpropanoato]-rapamicina (también conocido como CC1779); 40-epi-(tetrazolit)-rapamicina (también llamada ABT578); 32-desoxorapamicina; 16-pentiniloxi-32(S)-dihidrorapamicina; derivados descritos en WO05/005434; derivados descritos en las patentes estadounidenses 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), tal como RMC-5552 que tienen la estructura



Los inhibidores de BRAF que se pueden utilizar en combinación con los 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 del tumor, así como con la resistencia, no solo a las quimioterapias tradicionales, sino también a las terapias dirigidas, lo que incluye los inhibidores de BCL-2 tales 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 la proliferación, diferenciación, mantenimiento del ciclo celular y migración. SHP2 tiene dos dominios de homología Src 2 en el extremo N (N-SH2 y C-SH2), un dominio catalítico (PTP) y una cola en el extremo C. Los dos dominios de SH2 controlan la

localización subcelular y la regulación funcional de SHP2. La molécula existe en una conformación autoinhibida inactiva estabilizada por una red de unión que involucra residuos de los dominios N-SH2 y PTP. La estimulación por, por ejemplo, citocinas o factores de crecimiento que actúan a través de los receptores tirosina quinasas (RTK) conduce a la exposición del sitio catalítico que da como resultado la activación enzimática de SHP2.

SHP2 participa en la señalización a través de la proteína quinasa activada por mitógeno RAS (MAPK), las vías JAK-STAT o la 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 de Leopard, así como cánceres humanos, como leucemia mielomonocítica juvenil, neuroblastoma, melanoma, leucemia mieloide aguda y cánceres 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 lo 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 múltiples líneas de células cancerosas in vitro (p. ej., cáncer de páncreas, pulmón, ovario y mama). Por lo tanto, la terapia de combinación que implica 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 al.*, *J. Med. Chem.* 2017, 62, 1793; Xie *et al.*, *J. Med. Chem.* 2017, 60, 113734; y Igbe *et al.*, *Oncotarget*, 2017, 8, 113734; y solicitudes de patente: 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 aquí como 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, p. ej., 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 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 JAB-3312. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es RLY-1971. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es ERAS-601. En algunas modalidades, el inhibidor de SHP2 es 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 (28 de octubre, 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, de modo no taxativo, carfilzomib (Kyprolis®), bortezomib (Velcade®) y oprozomib.

Las terapias inmunitarias incluyen, entre otras, anticuerpos monoclonales, imidas inmunomoduladoras (IMiD), agonistas de GITR, células T modificadas genéticamente (p. ej., células CAR-T), anticuerpos biespecíficos (p. ej., BiTE) y agentes anti-PD-1, anti-PD-L1, anti-CTLA4, anti-LAG1 y anti-OX40).

Los agentes inmunomoduladores (IMiD) son una clase de fármacos inmunomoduladores (medicamentos 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 al., Blood 2007, 110(1):186-192; Thompson et al., Clin. Cancer Res. 2007, 13(6):1757-1761; y WO06/121168 A1), así como se describen en otra parte de la presente.

Los agonistas de GITR incluyen, de modo no taxativo, 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 estadounidense n.º 6,111,090, patente estadounidense n.º 8,586,023, WO2010/003118 y WO2011/090754; o un anticuerpo anti-GITR descrito, p. ej., en la patente estadounidense n.º 7,025,962, EP 1947183, patente estadounidense n.º 7,812,135, la patente estadounidense n.º 8,388,967, la patente estadounidense n.º 8,591,886, la patente estadounidense n.º 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 de forma sintética in vitro, anticuerpos, regiones de unión al 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 taxativos 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. Los ejemplos de inhibidores útiles de metaloproteinasas de la matriz se describen en 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 las patentes estadounidenses n.º 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 ejemplos de agentes antiangiogénicos incluyen agentes inhibidores de KDR (receptor de dominio quinasa) (p. ej., anticuerpos y regiones de unión al antígeno que se unen específicamente al receptor de dominio quinasa), agentes anti-VEGF (p. ej., anticuerpos o regiones de unión al antígeno que se unen específicamente a VEGF (p. ej., bevacizumab), o receptores de VEGF solubles o una región de unión a ligando de estos) como VEGF-TRAP™, y agentes receptor anti-VEGF (p. ej., anticuerpos o regiones de unión al antígeno que se unen específicamente a ellos), agentes inhibidores de EGFR (p. ej., anticuerpos o regiones de unión al antígeno que se unen específicamente a ellos) como Vectibix® (panitumumab), erlotinib (Tarceva®), agentes anti-Ang1 y anti-Ang2 (p. ej., anticuerpos o regiones de unión al antígenos que se unen específicamente a ellos o a sus receptores, p. ej., Tie2/Tek), y agentes inhibidores de la quinasa anti-Tie2 (p. ej., anticuerpos o regiones de unión al antígeno que se unen específicamente a los mismos). Otros agentes antiangiogénicos incluyen Campath, IL-8, B-FGF, antagonistas de Tek (US2003/0162712; US6,413,932), agentes anti-TWEAK (p. ej., regiones de unión al antígeno o anticuerpos que se unen de forma específica, o antagonistas de los receptores de TWEAK solubles; véase, US6,727,225), dominio de desintegrina ADAM para antagonizar la unión de la integrina a sus ligandos (US 2002/0042368), regiones de unión al antígeno o anticuerpos anti-efrina o del receptor anti-eph que se une de forma específica (patentes estadounidenses n.º 5,981,245; 5,728,813; 5,969,110; 6,596,852; 6,232,447; 6,057,124 y miembros de las familias de patentes de estas), y antagonistas anti-PDGF-BB (p. ej., regiones de unión al antígeno o anticuerpos que se unen de forma específica), así como regiones de unión al antígeno o anticuerpos que se unen de forma específica a ligandos

de PDGF-BB, y agentes inhibidores de la quinasa PDGFR (p. ej., regiones de unión al antígeno o anticuerpos que se unen de forma específica a esta). Los agentes antiangiogénicos adicionales incluyen: SD-7784 (Pfizer, EE. UU.); cilengitida (Merck KGaA, Alemania, EPO 0770622); pegaptanib octasodio, (Gilead Sciences, EE. UU.); Alfastatina, (BioActa, Reino Unido); M-PGA, (Celgene, EE. UU., US 5712291); ilomastat, (Arriva, EE. UU., US5892112); emaxanib, (Pfizer, EE. UU., US5792783); 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); ARGENT technology (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 MedImmune, 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; Munich Technical University, Alemania, Scripps Clinic and Research Foundation, EE. UU.); AVE 8062 (Ajinomoto, Japón); AS 1404 (Cancer Research Laboratory, Nueva Zelanda); SG 292, (Telios, EE. UU.); Endostatina (Boston Childrens Hospital, 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.); xantorizol, (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, (British Columbia University, 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 angiogénica (EntreMed, EE. UU.); inhibidor del activador del plasminógeno uroquinasa (Dendreon, EE. UU.); oglufanida (pINN), (Melmotte, EE. UU.); inhibidores de HIF-1 α (Xenova, Reino Unido); CEP 5214, (Cephalon, EE. UU.); BAY RES 2622, (Bayer, Alemania); Angiocidina, (InKine, EE. UU.); A6, (Angstrom, EE. UU.); KR 31372, (Korea Research Institute of Chemical Technology, 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.); AAL 993 (Novartis, Suiza); VEGI (ProteomTech, EE.UU.); inhibidores del factor de necrosis tumoral α ; 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, α 5 β 1 (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); antagonistas de VE-cadherina-2 (ImClone Systems, EE. UU.); Vasostatina (National Institutes of Health, EE. UU.); Flk-1 (ImClone Systems, EE. UU.); TZ 93 (Tsumura, Japón); TumStatin (Beth Israel Hospital, 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 (Allegheny Health, Education and Research Foundation, EE. UU.).

Los ejemplos adicionales de agentes terapéuticos que pueden usarse con los compuestos de la invención incluyen agentes (por ejemplo, anticuerpo, regiones de unión al antígeno, o receptores solubles) que se unen específicamente e inhiben la actividad de los 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 al 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, hidroxiclороquina (Plaquenil™), bafilomicina A1, ribósido de 5-amino-4-imidazol carboxamida (AICAR), ácido okadaico, toxinas de algas supresoras de la autofagia que inhiben las fosfatasa de proteína 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, de modo no taxativo, ATG5 (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 los compuestos de la invención es un agente antineoplásico. En algunas modalidades, las una o más terapias adicionales incluyen un agente antineoplásico. Los ejemplos no taxativos de agentes antineoplásicos incluyen acemannan, aclarubicin, aldesleukin, alemtuzumab, alitretinoin, altretamina, amifostina, ácido aminolevulico, amrubicina, amsacrina, anagrelida, anastrozol, ancer, ancestim, arglabin, trióxido de arsénico, BAM-002 (Novelos), bexaroteno, bicalutamida, broxuridina, capecitabina, celmoleucina, cetorelix, cladribina, clotrimazol, ocfosfato de citarabina, DA 3030 (Dong-A), daclizumab, denileucina diftotox, deslorelina, dexrazoxano, dilazep, docetaxel, docosanol, doxercalciferol, doxifluridina, bromocriporubicinina, doxcriporubicinina, carmustina, citarabina, fluorouracilo, diclofenaco HIT, interferón alfa, daunorrubicina, doxorrubicina, tretinoína, edelfosina, edrecolomab, eflornitina, emitefur, epirubicina, epoetina beta, etopósido fosfato, exemestano, exisulind, fadrozol, filgrastim, finasteride, fludarabina fosfato, formestano, fotemustina, nitrato de galio, gemcitabina, gemtuzumab zogamicina, gimeracil/oteracil/tegafur combinación, glicopina, goserelina, heptaplatino, gonadotropina coriónica humana, fetoproteína alfa fetal humana, ácido ibandrónico, idarrubicina, (imiquimod, interferón alfa, interferón alfa, natural, interferón alfa-2, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, interferón alfa -NI, interferón alfa-n3, interferón alfacón-1, interferón alfa natural, interferón beta, interferón beta-la, interferón beta-lb, interferón gamma, interferón gamma-la natural, 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 de doble cadena no coincidente, mitoguazona, mitolactol, mitoxantrona, molgramostim, nafarelina, naloxona + pentazocina, nartograstim, nedaplatino, nilutamida, noscapina, nueva proteína estimulante de la eritropoyesis, NSC 631570 octreotida, oprelvequina, osaterona, oxaliplatino, paclitaxel, ácido pamidrónico, pegaspargasa, peginterferón alfa-2b, pentosan polisulfato sódico,

pentostatina, picibanil, pirarrubicina, antitímocito policlonal de conejo anticuerpo, polietilenglicol interferón alfa-2a, porfímero sódico, raloxifeno, raltitrexed, rasburiembodiment, renio Re 186 etidronato, RII retinamida, rituximab, romurtide, samario (153 Sm) leixidronam, sargramostim, sizofiran, sobuzoxane, sonermina, cloruro de estroncio-89, suramina, tasonermina, tazaroteno, tegafur, temoporquina, temozolomida, tenipósido, tetraclorodecaóxido, talidomida, timalfasina, tiotropina alfa, topotecán, toremifeno, tositumomab-yodo 131, trastuzumab, treosulfán, tretinoína, trilostano, trimetrexato, triptorelina, factor de necrosis tumoral alfa natural, ubenimex, vacuna contra el cáncer de vejiga, vacuna Maruyama, vacuna lisado de melanoma, valrubicina, verteporfin, vinorelbina, virulizina, zinostatin stimalamer o ácido zoledrónico; abarelix; AE 941 (Aeterna), ambamustina, oligonucleótido antisentido, bcl-2 (Genta), APC 8015 (Dendreon), decitabina, dexamínoglutetimida, diazicuona, 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), cáncer MAb (Japan Pharmaceutical Development), HER-2 y Fc MAb (Medarex), idiotypic 105AD7 MAb (CRC Technology), idiotypic 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 esparfósico, 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 de oncolisado de melanoma (Colegio Médico de Nueva York), vacuna de lisados de células de melanoma viral (Royal Newcastle Hospital) o valspodar.

Los ejemplos adicionales de agentes terapéuticos que pueden utilizarse 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 (Providence Health Services); huMAbOX40L; atacicept; CP-870893; lucatumumab; dacetuzumab; muromonab-CD3; ipilimumab; 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®); efilizumab (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 se pueden utilizar en combinación con los agentes descritos en la presente u otros agentes adecuados, en función de la afección que se esté tratando. Por lo tanto, en algunas modalidades, los uno o más compuestos de la descripción se administrarán de forma conjunta con otras terapias 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. La 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 separada. 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 invención y cualquiera de las terapias descritas en la presente pueden administrarse de forma simultánea, de forma que ambos agentes están presentes en formulaciones separadas. En otra alternativa, un compuesto de la presente descripción 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 horas de diferencia o con unos días de diferencia.

En algunas modalidades de cualquiera de los métodos descritos en la presente, la primera terapia (p. ej., 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, hasta 14 horas, hasta 16 horas, 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.

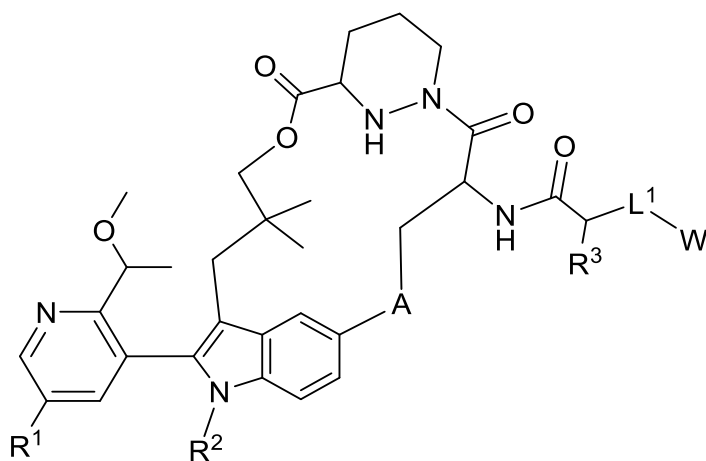
La invención también presenta kits que incluyen (a) una composición farmacéutica que incluye un agente (p. ej., un compuesto de la invención) descrito en la presente, y (b) un prospecto

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 (p. ej., un compuesto de la invención) descrito en la presente, (b) una o más terapias adicionales (p. ej., un tratamiento no farmacológico o un agente terapéutico) y (c) un prospecto con instrucciones para realizar cualquiera de los métodos descritos en la presente.

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 favorable cuando los componentes individuales se administran preferentemente en distintas formas de dosificación (por ejemplo, oral y parenteral) se administran en intervalos de dosificación diferentes, o cuando el profesional de la salud tratante desea la titulación de los componentes individuales de la combinación.

Modalidades numeradas

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



Fórmula I

donde A es heterocicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

L^1 está ausente o es un enlazador;

W es un grupo de reticulación que comprende una vinil cetona, una vinil sulfona, inona, o una alquinil sulfona;

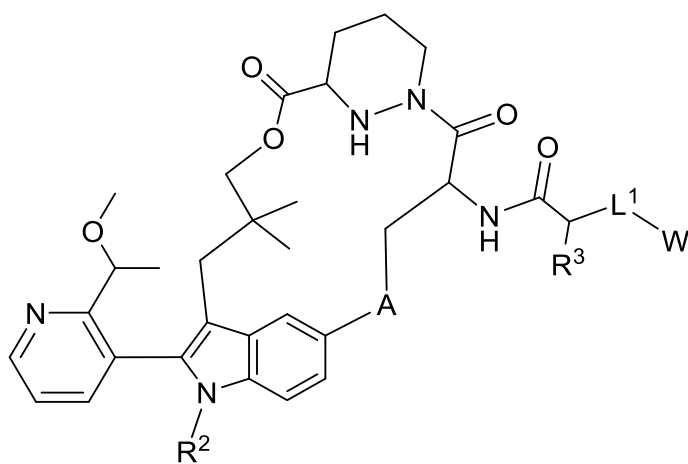
R^1 es hidrógeno, heterocicloalquilo de 3 a 10 miembros opcionalmente sustituido, o heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido;

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

R^3 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido.

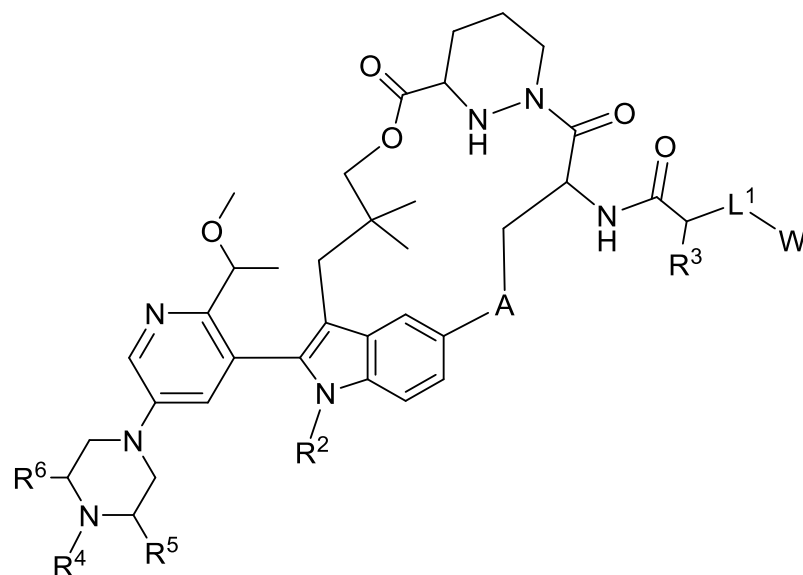
2. El compuesto de la modalidad 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A es tiazol opcionalmente sustituido, oxazol opcionalmente sustituido, morfolino opcionalmente sustituido, pirrolidinilo opcionalmente sustituido, piridilo opcionalmente sustituido, azetidinilo opcionalmente sustituido, pirazinilo opcionalmente sustituido, pirimidina opcionalmente sustituida, piperidinilo opcionalmente sustituido, oxadiazol, tiadiazol opcionalmente sustituido, triazol opcionalmente sustituido, tiomorfolino 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:



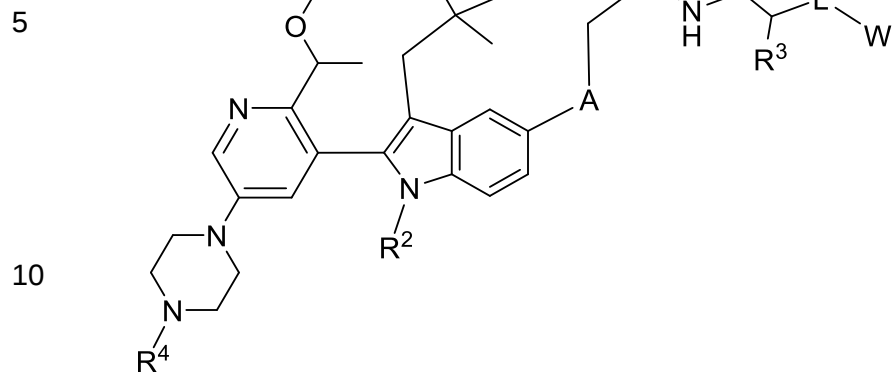
Fórmula II-2,

en donde R⁴, R⁵, y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido; o

R⁴ y R⁵ 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

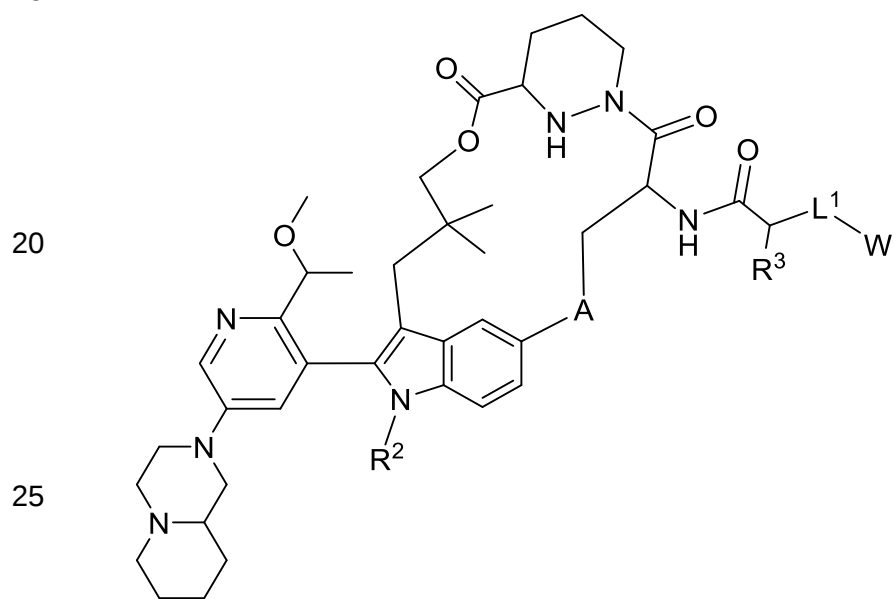
R⁴ y R⁶ se combinan con los átomos a los que están unidos para formar un cicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido o un heterocicloalquilo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido.

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



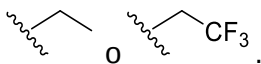
Fórmula II-3.

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



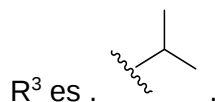
Fórmula II-4.

7. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde R^2 es:



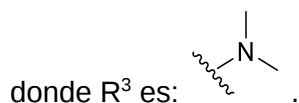
8. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde R^3 es alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido.

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



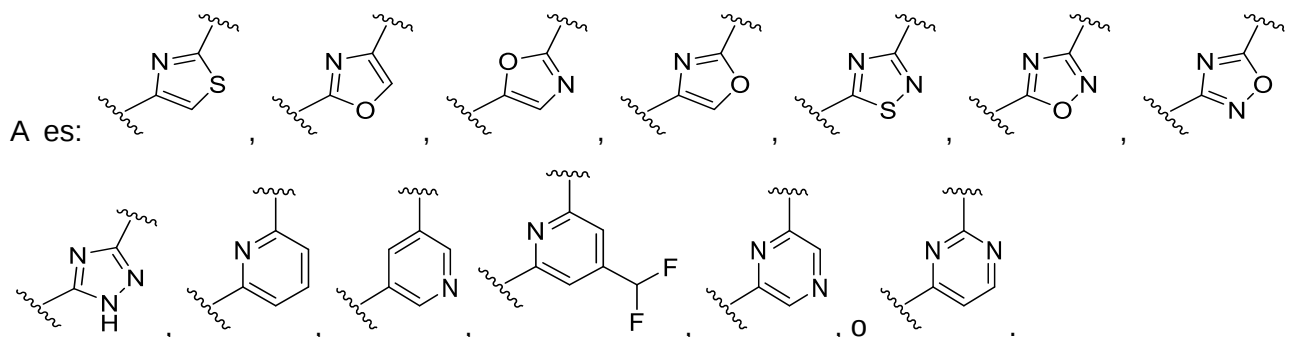
10. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde R³ es alquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido.

11. El compuesto de la modalidad 10, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en



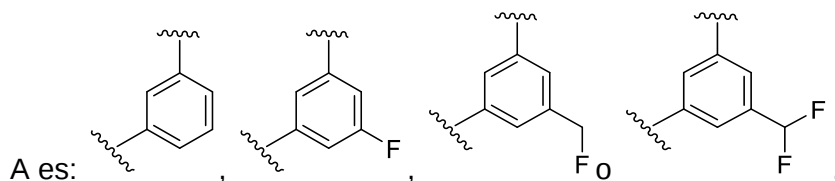
12. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A es heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido.

13. El compuesto de la modalidad 12, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde



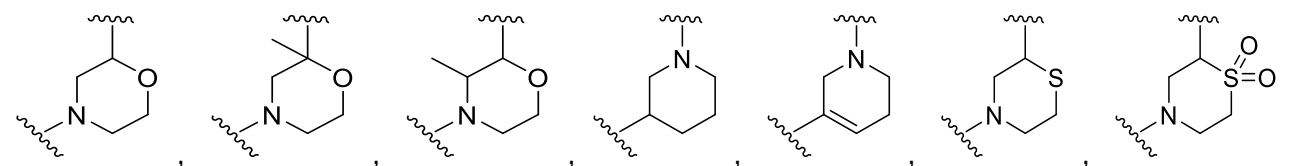
14. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A es fenilo opcionalmente sustituido.

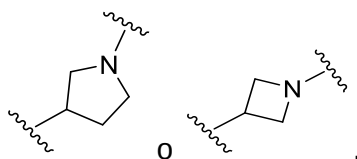
15. El compuesto de la modalidad 14, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde



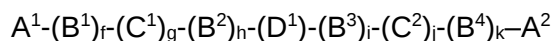
16. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A es heterocicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

17. El compuesto de la modalidad 16, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde A se selecciona entre los siguientes, o un estereoisómero de este:





18. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 17, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde el enlazador es la estructura de Fórmula III:

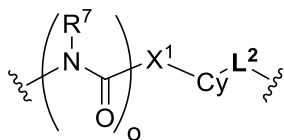


Fórmula III

en donde A^1 es un enlace entre el enlazador y $CH(R^3)$; A^2 es un enlace entre W y el enlazador; cada uno de B^1 , B^2 , B^3 , y B^4 , independientemente, se selecciona de alquileo C_1-C_2 opcionalmente sustituido, heteroalquileo C_1-C_3 opcionalmente sustituido, O, S, y NR^N ; R^N es hidrógeno, alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido, alquenilo C_2-C_4 opcionalmente sustituido, alquinilo C_2-C_4 opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 3 a 14 miembros opcionalmente sustituido, arilo de 6 a 10 miembros opcionalmente sustituido, o heteroalquilo C_1-C_7 opcionalmente sustituido; C^1 y C^2 se selecciona cada uno, independientemente, de carbonilo, tiocarbonilo, sulfonilo o fosforilo; f, g, h, i, j, y k son cada uno, independientemente, 0 o 1; y D^1 es alquileo C_1-C_{10} opcionalmente sustituido, alquenileno C_2-C_{10} opcionalmente sustituido, alquinileno C_2-C_{10} opcionalmente sustituido, heterocicloalquileo de 3 a 14 miembros opcionalmente sustituido, heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 a 10 miembros opcionalmente sustituido, polietilen glicoleno C_2-C_{10} opcionalmente sustituido, o heteroalquileo C_1-C_{10} opcionalmente sustituido, o un enlace químico que enlaza $A^1-(B^1)_f-(C^1)_g-(B^2)_h-$ a $-(B^3)_i-(C^2)_j-(B^4)_k-A^2$.

19. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 18, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde el enlazador es o comprende un resto cíclico.

20. El compuesto de la modalidad 19, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde el enlazador tiene la estructura de la Fórmula IIIa:



Fórmula IIIa,

donde o es 0 o 1;

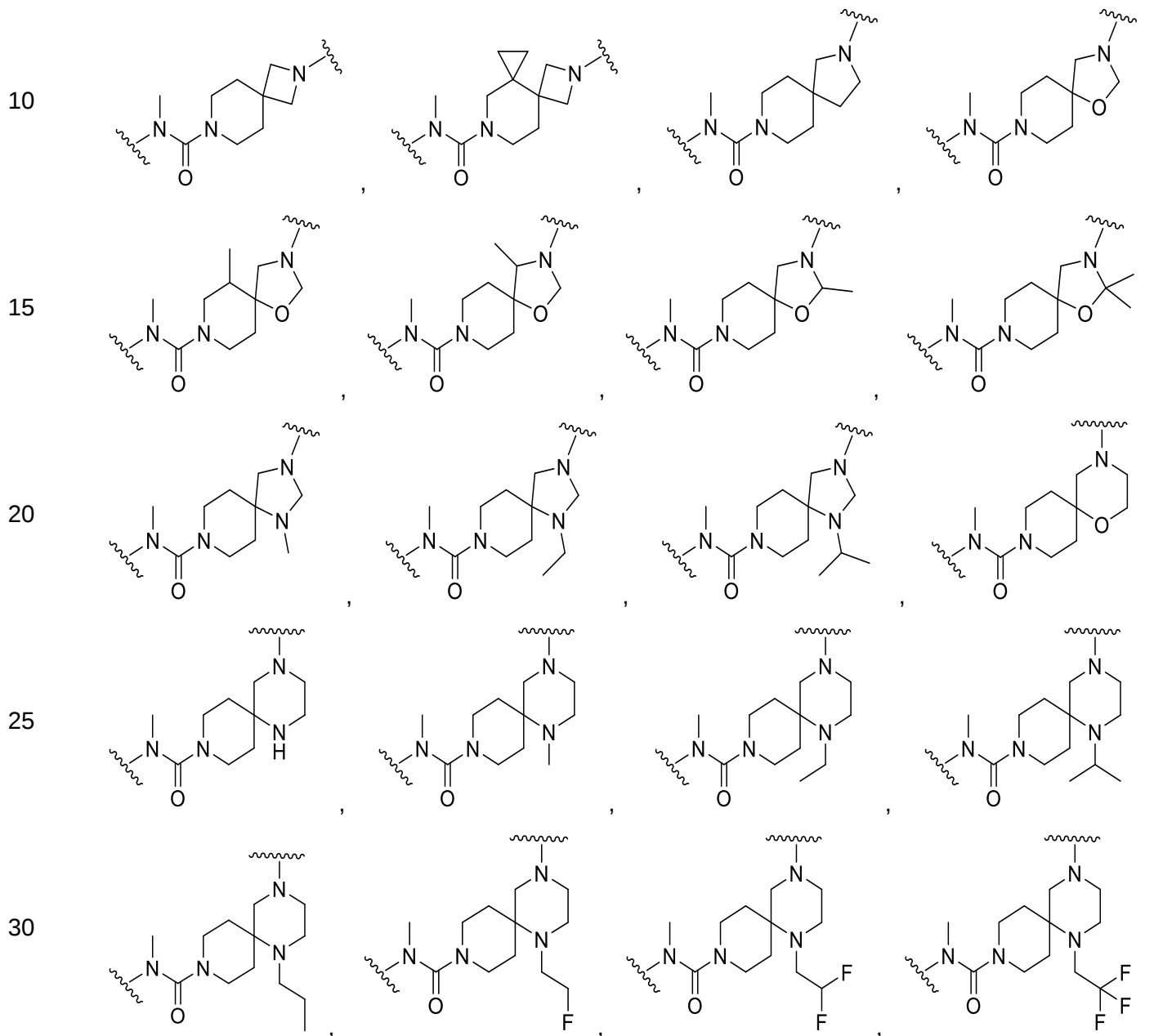
R^7 es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquileo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido, o heterocicloalquileo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido;

X^1 está ausente, alquileo C_1-C_4 opcionalmente sustituido, O, NCH_3 , o heteroalquileo C_1-C_4 opcionalmente sustituido;

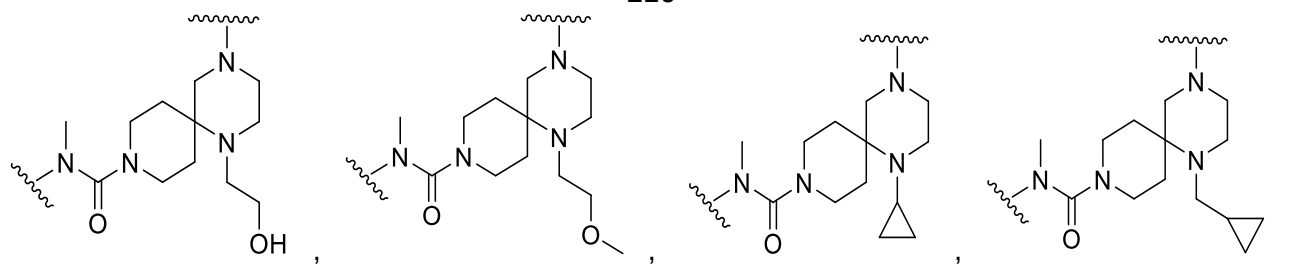
Cy es cicloalquileo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquileo de 3 a 12 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 a 10 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido; y

5 L^2 está ausente, $-SO_2-$, $-NH-$, alquileo C_1 - C_4 opcionalmente sustituido, heteroalquileo C_1 - C_4 opcionalmente sustituido o heterocicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

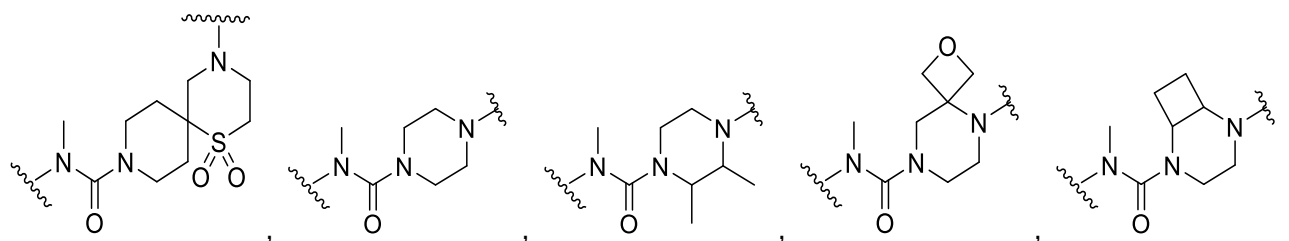
21. El compuesto de la modalidad 20, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde el enlazador se selecciona de, o un estereoisómero de este:



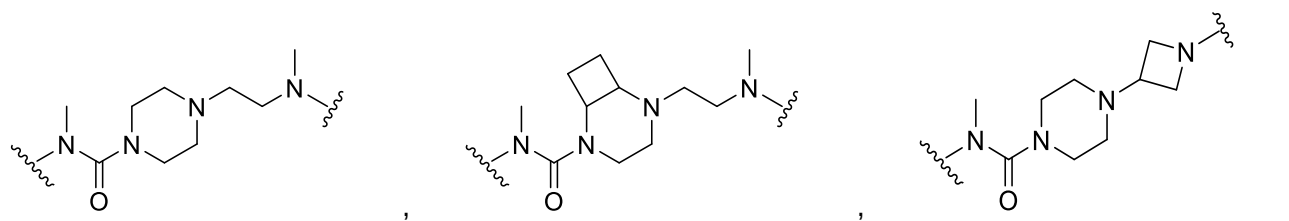
5



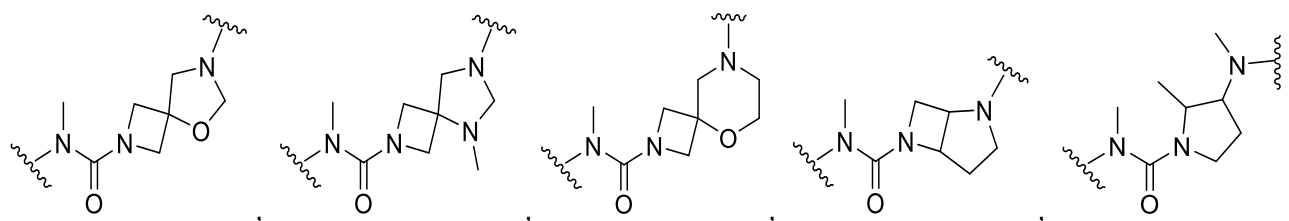
10



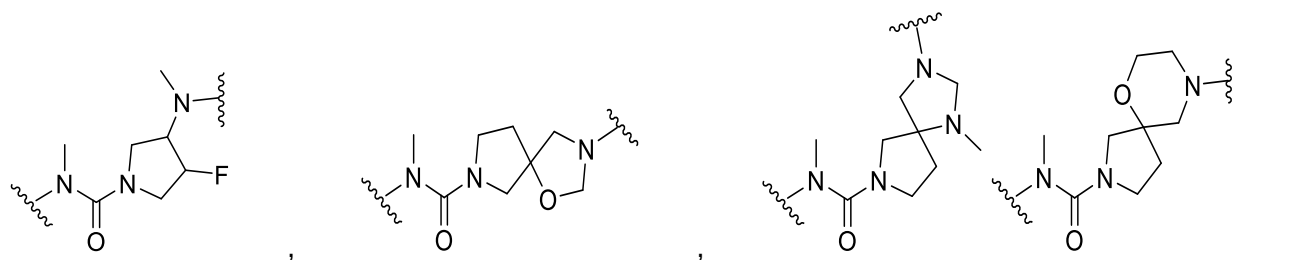
15



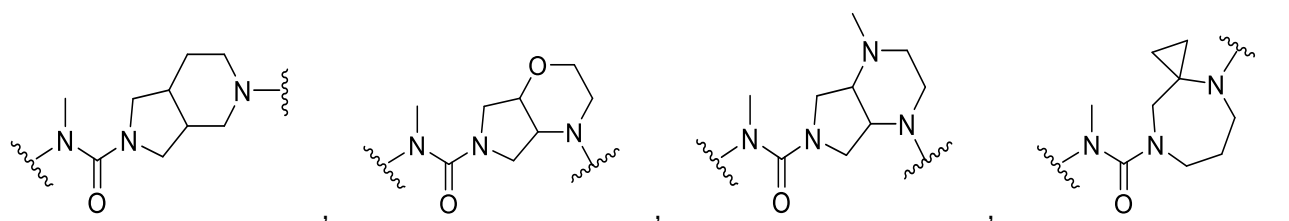
20



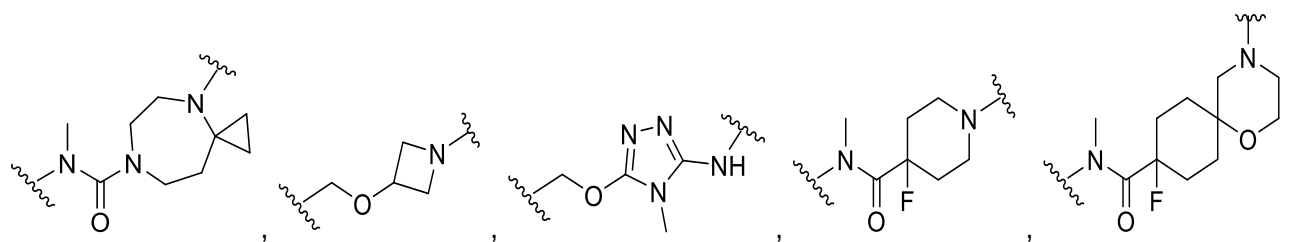
25



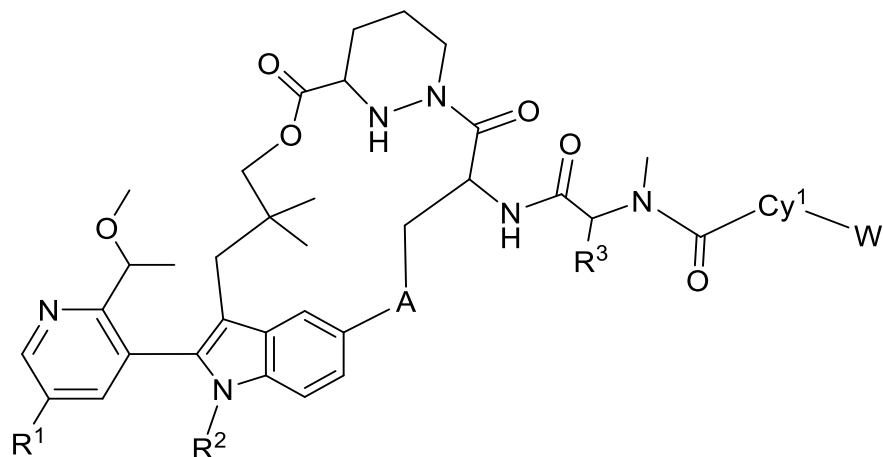
30



35



23. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 22, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula II-5:

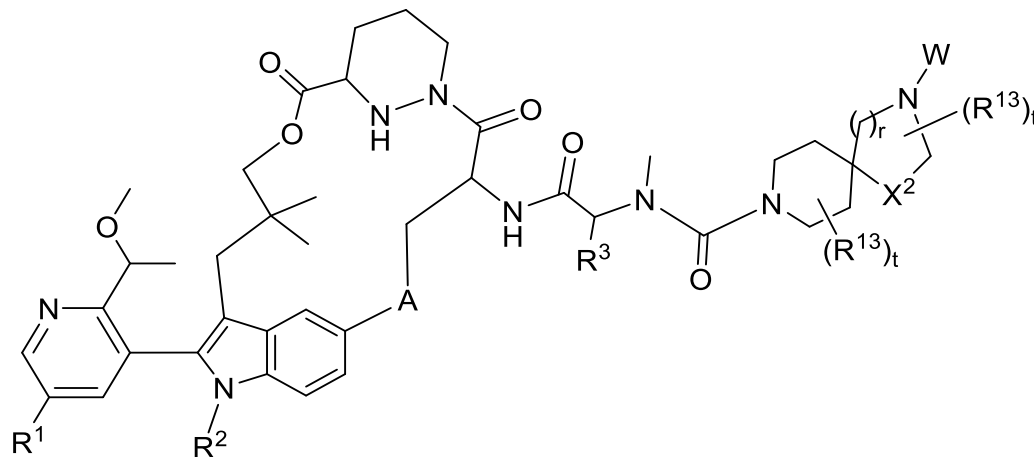


en donde Cy¹ es heterocicloalquileno espirocíclico de 8 a 11 miembros opcionalmente sustituido o heterocicloalquileno bicíclico de 7 a 9 miembros opcionalmente sustituido; y

en donde W comprende una vinil cetona o una vinil sulfona.

24. El compuesto de la modalidad 23, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde Cy¹ es heterocicloalquileo espirocíclico de 10 a 11 miembros opcionalmente sustituido.

25. El compuesto de la modalidad 24, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula II-5a:



Fórmula II-5a,

en donde X^2 es O, $C(R^{11})_2$, NR^{12} , S, o SO_2 .

r es 1 o 2;

cada t es independientemente 0, 1 o 2;

R^{11} y R^{12} son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo C_1 - C_4 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_2 - C_4 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 5 miembros opcionalmente sustituido; y

cada R^{13} es independientemente, $-CH_3$.

26. El compuesto de la modalidad 25, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde r es 1.

27. El compuesto de la modalidad 25, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde r es 2.

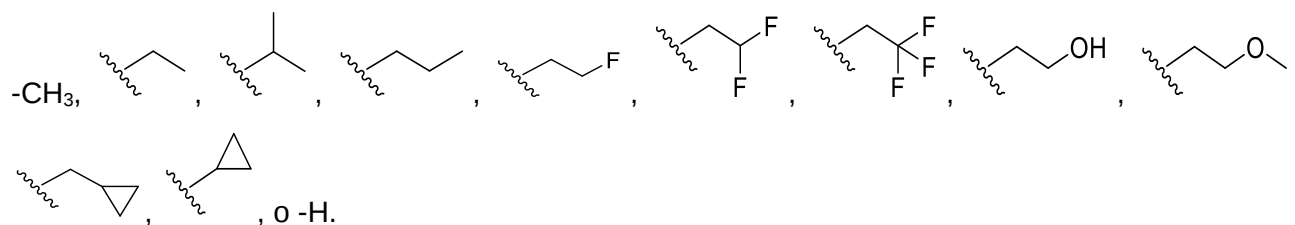
28. El compuesto de cualquiera de las modalidades 25 a 27, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde X^2 es O.

29. El compuesto de cualquiera de las modalidades 25 a 27, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde X^2 es S.

30. El compuesto de cualquiera de las modalidades 25 a 27, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde X^2 es SO_2 .

31. El compuesto de cualquiera de las modalidades 25 a 27, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde X^2 es NR^{12} .

32. El compuesto de la modalidad 31, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde R^{12} se selecciona de, o un estereoisómero de este:

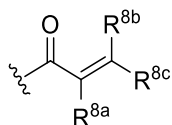


33. El compuesto de cualquiera de las modalidades 25 a 27, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde X^2 es $C(R^{11})_2$.

34. El compuesto de la modalidad 33, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^{11} es hidrógeno.

35. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 34, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde W es un grupo de reticulación que comprende una vinilcetona.

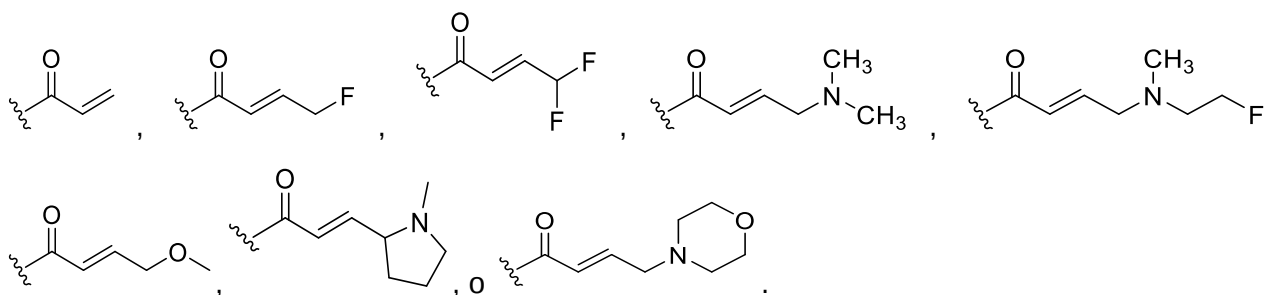
36. El compuesto de la modalidad 35, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde W tiene la estructura de la Fórmula IVa:



Fórmula IVa,

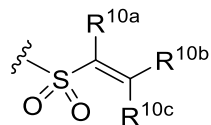
5 donde R^{8a} , R^{8b} , y R^{8c} son, independientemente, hidrógeno, -CN, halógeno o alquilo -C₁-C₃ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de -OH, alquilo -O-C₁-C₃, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₃), -N(alquilo C₁-C₃)₂, o un heterocicloalquilo saturado de 4 a 7 miembros.

10 37. El compuesto de la modalidad 36, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde W se selecciona de, o un estereoisómero de este:



15 38. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 34, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde W es un grupo de reticulación que comprende una vinilsulfona.

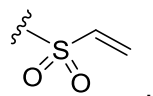
20 39. El compuesto de la modalidad 38, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde W tiene la estructura de la Fórmula IVc:



Fórmula IVc,

25 donde R^{10a} , R^{10b} , y R^{10c} son, independientemente, hidrógeno, -CN, o alquilo -C₁-C₃ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de -OH, alquilo -O-C₁-C₃, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₃), -N(alquilo C₁-C₃)₂, o un heterocicloalquilo saturado de 4 a 7 miembros.

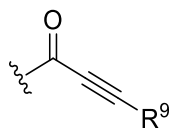
30 40. El compuesto de la modalidad 39, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde W es:



35 41. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 34, o una sal farmacéuticamente

aceptable de este, en donde W es un grupo de reticulación que comprende una inona.

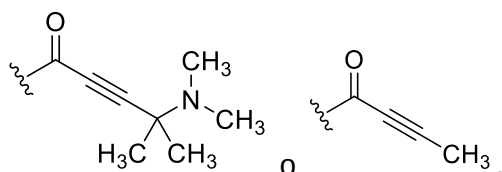
42. El compuesto de la modalidad 41, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde W tiene la estructura de la Fórmula IVb:



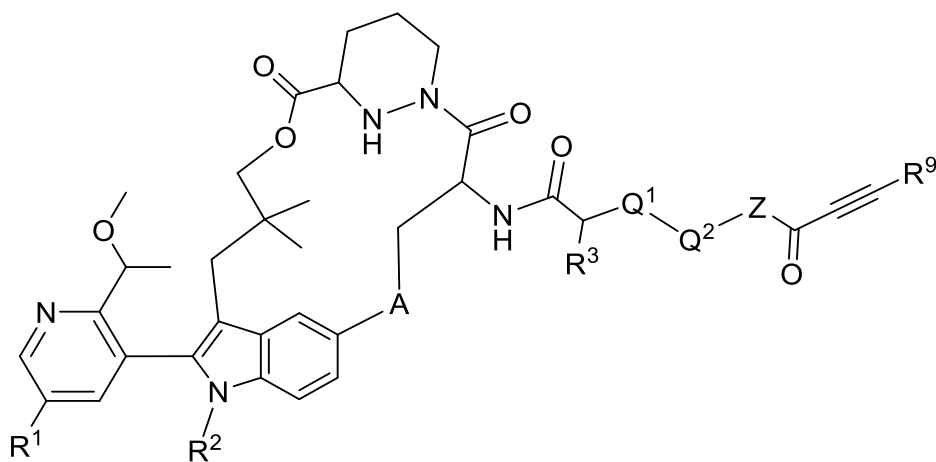
Fórmula IVb,

donde R^9 es hidrógeno, alquilo $-C_1-C_3$ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de $-OH$, $-O$ -alquilo C_1-C_3 , $-NH_2$, $-NH$ (alquilo C_1-C_3), $-N$ (alquilo C_1-C_3)₂, o un cicloalquilo saturado de 4 a 7 miembros, o un heterocicloalquilo saturado de 4 a 7 miembros.

43. El compuesto de la modalidad 42, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde W se selecciona de:



44. El compuesto de la modalidad 42 o 43, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula II-6:



Fórmula II-6

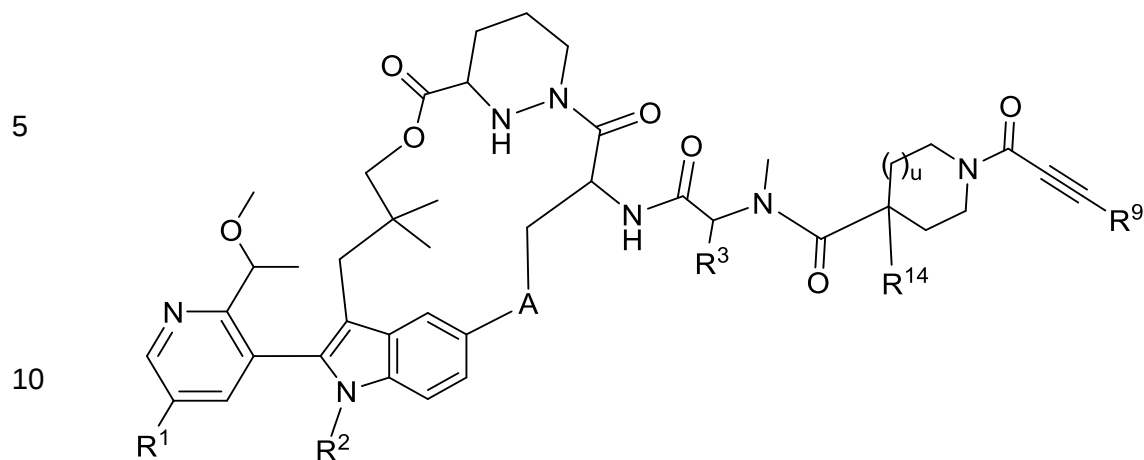
30 en donde Q^1 es CH_2 , NR^N , u O ;

Q^2 es CO , NR^N , o O ; y

Z es heterocicloalquileno de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido; o

35 en donde Q^1-Q^2-Z es un heterocicloalquileno espirocíclico de 9 a 10 miembros opcionalmente sustituido.

45. El compuesto de cualquiera de las modalidades 42 a 44, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula II-6a:



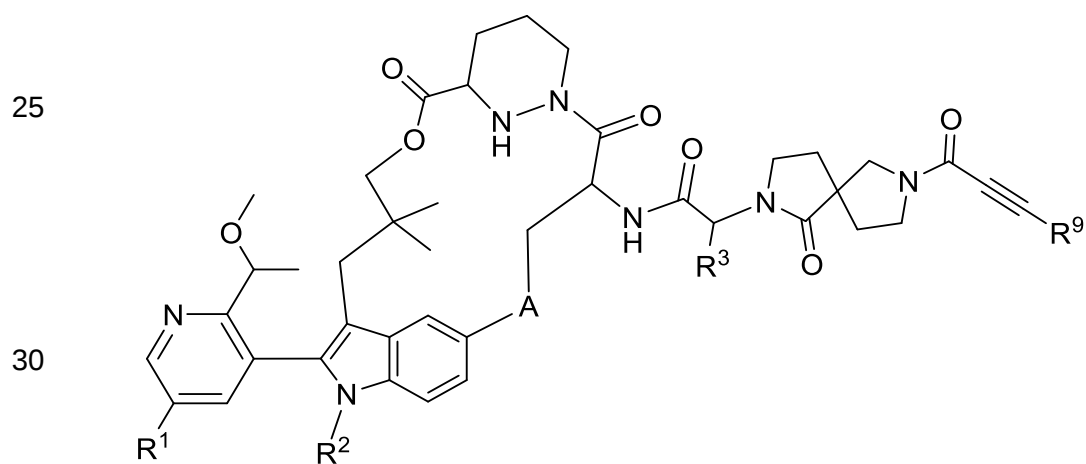
Fórmula II-6a,

en donde R^{14} fluoro, hidrógeno o alquilo C_1-C_3 ; y
u es 0 o 1.

46. El compuesto de la modalidad 45, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^{14} es fluoro y u es 1.

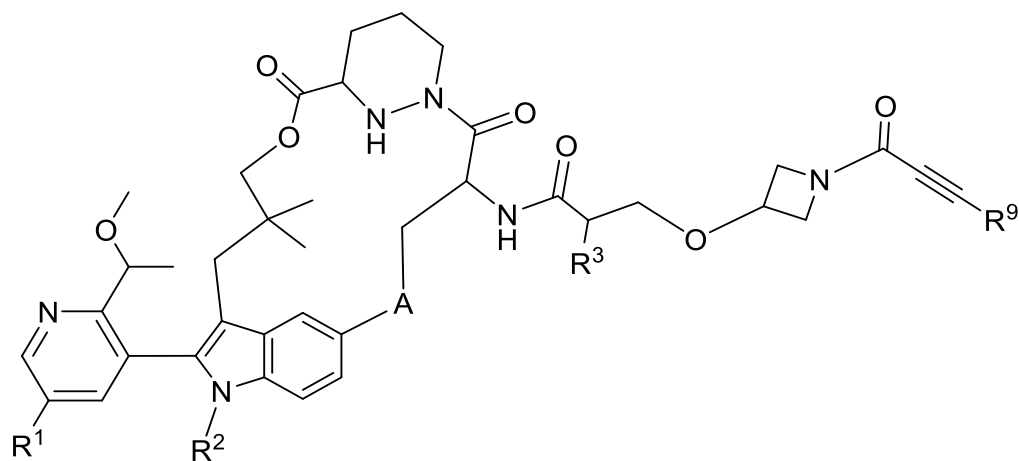
47. El compuesto de la modalidad 45, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^{14} es hidrógeno y u es 0.

48. El compuesto de cualquiera de las modalidades 42 a 44, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula II-6b:



Fórmula II-6b.

49. El compuesto de cualquiera de las modalidades 42 a 44, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que tiene la estructura de Fórmula II-6c:



Fórmula II-6c.

50. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que se selecciona de la Tabla 1.

51. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 50, o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

52. Un conjugado, o sal de este, que comprende la estructura de Fórmula V:

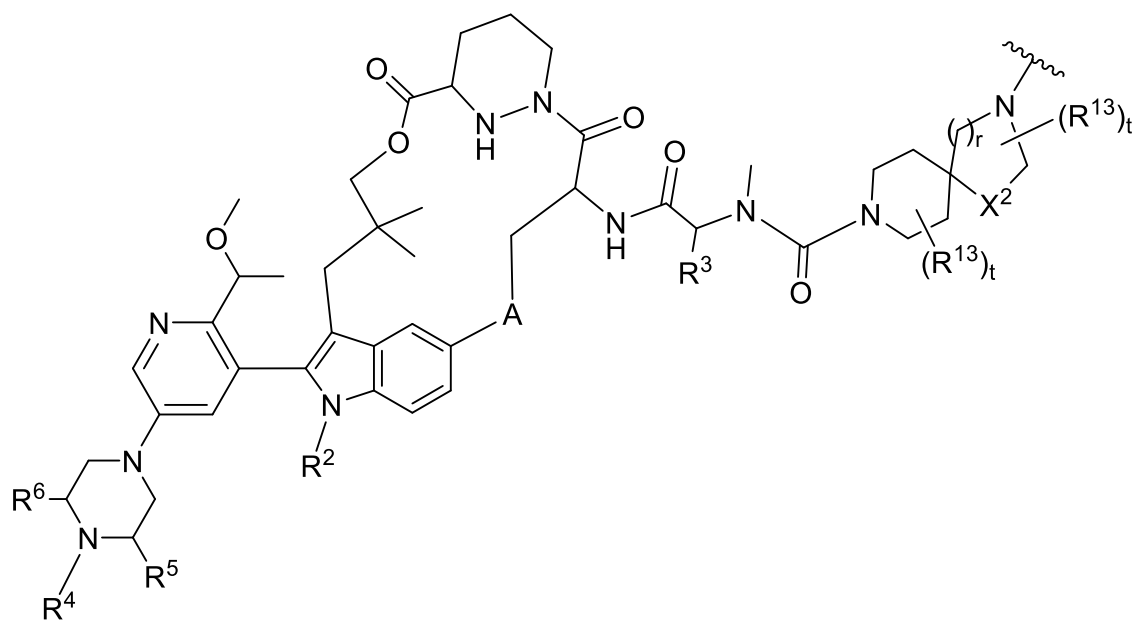
M-L-P

Fórmula V,

donde L es un enlazador;

P es un resto orgánico monovalente; y

M tiene la estructura de Fórmula VIa:



Fórmula VIa,

donde A es heterocicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

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

R^3 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido.

X^2 es O, $C(R^{11})_2$, NR^{12} , S, o SO_2 .

r es 1 o 2;

cada t es independientemente 0, 1 o 2;

10 R^{11} y R^{12} son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_2-C_4 opcionalmente sustituido o cicloalquilo de 3 a 5 miembros opcionalmente sustituido;

cada R^{13} es independientemente, $-CH_3$; y

15 R^4 , R^5 , y R^6 se seleccionan cada uno independientemente de 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

20 R^4 y R^5 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^4 y R^6 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.

53. Un conjugado, o sal de este, que comprende la estructura de Fórmula V:

25 M-L-P

Fórmula V,

donde L es un enlazador;

P es un resto orgánico monovalente; y

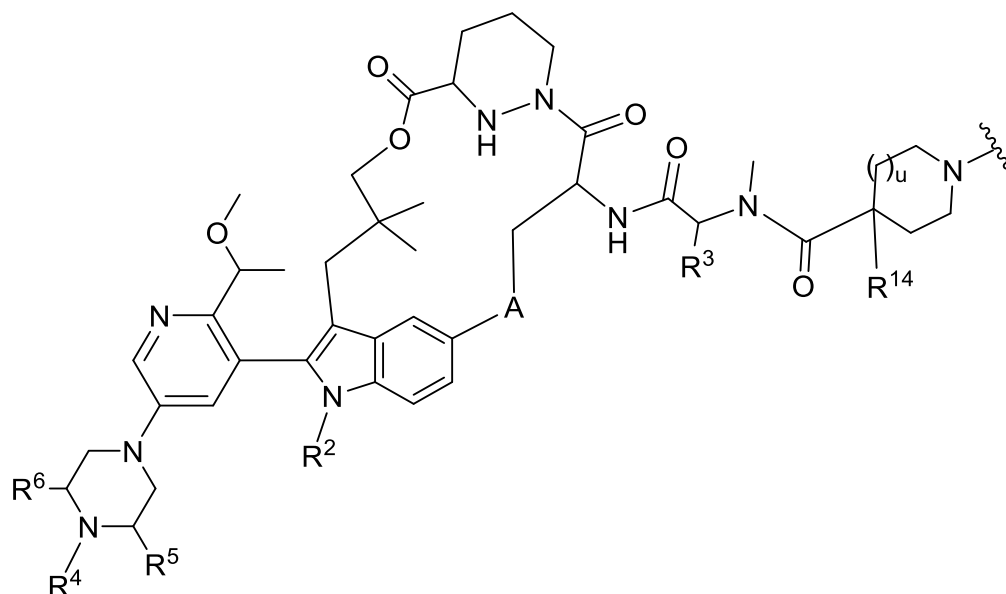
M tiene la estructura de Fórmula VIb:

30

35

5

10



Fórmula VIb,

15

donde A es heterocicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

R² es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido;

R³ es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido o heteroalquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido.

20

R¹⁴ es fluoro, hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

u es 0 o 1; y

R⁴, R⁵, y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido;

25

o

R⁴ y R⁵ 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

30

R⁴ y R⁶ 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.

54. Un conjugado, o sal de este, que comprende la estructura de Fórmula V:

M-L-P

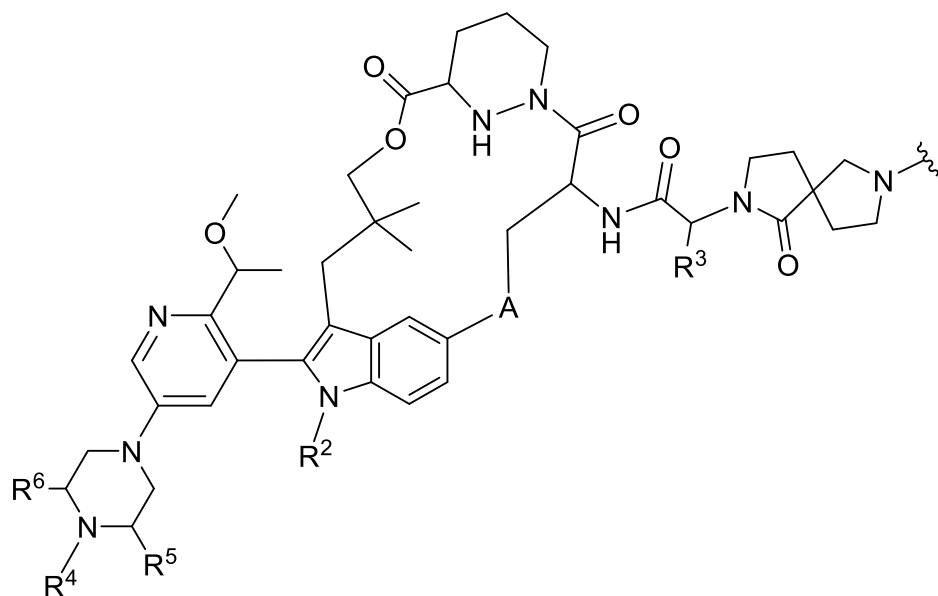
Fórmula V,

35

donde L es un enlazador;

P es un resto orgánico monovalente; y

M tiene la estructura de Fórmula VIc:



Fórmula VIc,

donde A es heterocicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, cicloalquileo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, arileno de 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarileno de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido;

R² es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido;

R³ es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido o heteroalquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido;

y

R⁴, R⁵, y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido;

o

R⁴ y R⁵ 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

R⁴ y R⁶ 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.

55. Un conjugado, o sal de este, que comprende la estructura de Fórmula V:

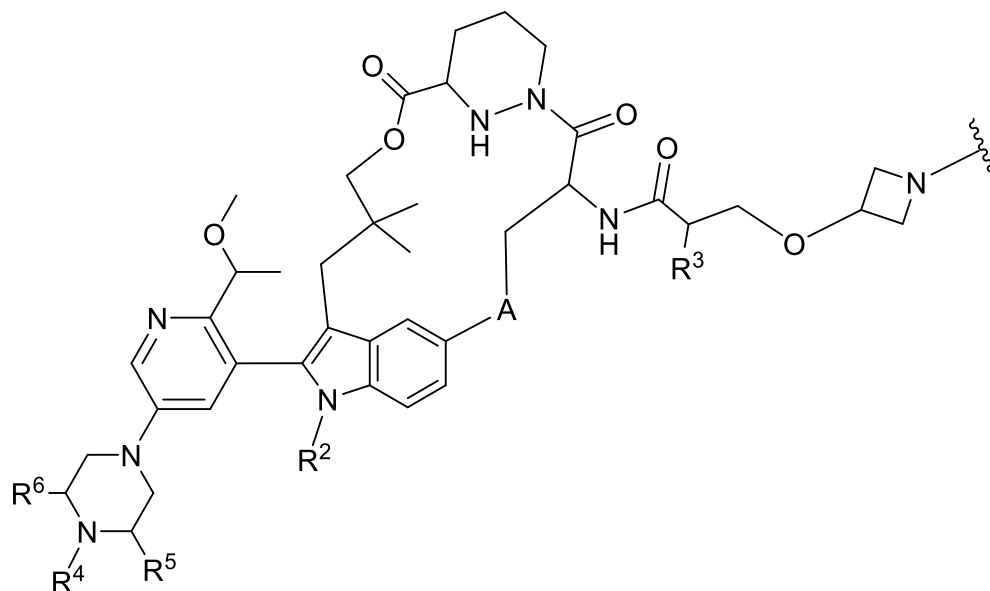
M-L-P

Fórmula V,

donde L es un enlazador;

P es un resto orgánico monovalente; y

M tiene la estructura de Fórmula VId:



Fórmula VId,

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;

R² es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido;

R³ es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido o heteroalquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido;

y

R⁴, R⁵, y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido;

o

R⁴ y R⁵ 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

R⁴ y R⁶ 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.

56. El conjugado de cualquiera de las modalidades 52 a 55, o una sal de este, en donde el resto orgánico monovalente es una proteína.

57. El conjugado de la modalidad 56, o sal de este, en donde la proteína es una proteína Ras.

58. El conjugado de la modalidad 57, o una sal de este, en donde la proteína Ras es K-Ras G12C, K-Ras G13C, H-Ras G12C, H-Ras G13C, N-Ras G12C o N-Ras G13C.

59. El conjugado de cualquiera de las modalidades 52 a 58, o una sal de este, en donde el enlazador está unido al resto orgánico monovalente a través de un enlace a un grupo sulfhidrido de un residuo de aminoácido del resto orgánico monovalente.

60. 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 cualquiera de las modalidades 1 a 50, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o una composición farmacéutica de la modalidad 51.

61. El método de la modalidad 60, donde el cáncer es cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón de células no pequeñas, o cáncer de endometrio.

62. El método de la modalidad 60 o 61, donde el cáncer comprende una mutación Ras.

63. El método de la modalidad 62, donde la mutación Ras es K-Ras G12C, K-Ras G13C, H-Ras G12C, H-Ras G13C, N-Ras G12C, o N-Ras G13C.

64. 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 cualquiera de las modalidades 1 a 50, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o una composición farmacéutica de la modalidad 51.

65. Un método para inhibir una proteína Ras en una célula, comprendiendo el método poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de un compuesto de cualquiera de las modalidades 1 a 50, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o una composición farmacéutica de la modalidad 51.

66. El método de la modalidad 64 o 65, donde la proteína Ras es K-Ras G12C, K-Ras G13C, H-Ras G12C, H-Ras G13C, N-Ras G12C, o N-Ras G13C.

67. El método de la modalidad 65 o 66, donde la célula es una célula cancerígena.

68. El método de la modalidad 67, donde la célula cancerígena es una célula de cáncer pancreático, una célula de cáncer colorrectal, una célula de cáncer de pulmón de células no pequeñas, o una célula de cáncer de endometrio.

69. El método o uso de cualquiera de las modalidades 60 a 68, donde el método o uso comprende además administrar una terapia anticancerígena adicional.

70. El método de la modalidad 69, en donde la terapia anticancerígena 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 los mismos.

71. El método de la modalidad 69 o 70, en donde la terapia anticancerígena adicional es un inhibidor de SHP2.

Ejemplos

La descripción se ilustra de forma más detallada mediante los siguientes ejemplos y esquemas de síntesis, que no se deben interpretar como limitación del alcance o espíritu de la presente descripción a los procedimientos específicos descritos en la presente. Se debe comprender que los ejemplos se proveen para ilustrar determinadas modalidades y que no se pretende limitar de forma alguna el alcance de la descripción. También se debe comprender que es posible recurrir a otras modalidades, modificaciones y equivalentes diferentes de estas que puedan presentarse a los expertos en la técnica, sin apartarse del espíritu de la presente invención o el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Síntesis químicas

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

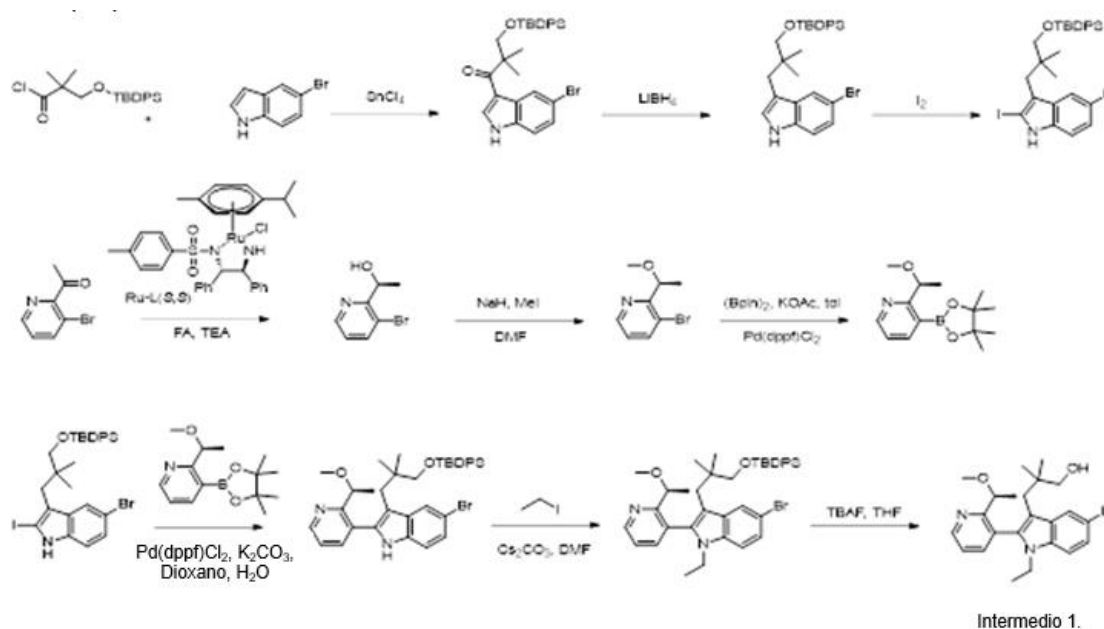
CH ₂ Cl ₂ , DCM	Cloruro de metileno, diclorometano
CH ₃ CN, MeCN	Acetonitrilo
CuI	Yoduro de cobre (I)
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMF	N,N-Dimetilformamida
EtOAc	Acetato de etilo
h	hora
H ₂ O	Agua
HCl	Ácido clorhídrico
K ₃ PO ₄	Fosfato de potasio (tribásico)
MeOH	Metanol
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
NMP	N-metilpirrolidona
Pd(dppf)Cl ₂	[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II)

Instrumentación

La recolección de datos de espectrometría de masas tuvo lugar con Shimadzu LCMS-2020, un Agilent 1260LC-6120/6125MSD, un Shimadzu LCMS-2010EV, o un Waters Acquity UPLC, con un detector QDa o un detector SQ Detector 2. Se inyectaron muestras en su fase líquida en una fase inversa C-18. Los compuestos se eluyeron de la columna usando un gradiente de acetonitrilo y se alimentaron en el analizador de masas. El análisis de datos inicial tuvo lugar con Agilent ChemStation, Shimadzu LabSolutions o Waters MassLynx. Se recogieron datos de NMR con un instrumento Bruker AVANCE III HD 400MHz, Bruker Ascend 500MHz o Varian 400MHz, y los datos sin procesar se analizaron con TopSpin o Mestrelab Mnova.

Síntesis de los 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. A una mezcla de cloruro de 3-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropanoil (65 g, 137 mmol, bruto) en DCM (120 mL) a 0 °C en una atmósfera de N_2 se agregó 1M SnCl_4 en DCM (137 mL, 137 mmol) lentamente. La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min, luego se agregó una solución de 5-bromo-1*H*-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 (100 mL x 4), se secó en Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar 1-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-3-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropan-1-ona (55 g, 75% rendimiento). LCMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]$

calculado para $C_{29}H_{32}BrNO_2SiNa$ 556,1; encontrado 556,3.

Paso 2. A una mezcla de 1-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-3-((*tert*-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 agregó $LiBH_4$ (6,1 g, 281 mmol). La mezcla se calentó hasta 60 °C y se agitó durante 20 h, luego se agregaron 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 hasta 10 °C y se agregaron diludina (9,5 g, 37,4 mmol) y $TsOH \cdot H_2O$ (890 mg, 4,7 mmol). La mezcla se agitó a 10 °C durante 2 h, se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 1-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-3-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropan-1-ona (41 g, 84% rendimiento). LCMS (ESI): m/z $[M+H]$ calculado para $C_{29}H_{34}BrNOSi$ 519,2; encontrado 520,1; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,96 (s, 1H), 7,75 - 7,68 (m, 5H), 7,46 - 7,35 (m, 6H), 7,23 - 7,19 (m, 2H), 6,87 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 3,40 (s, 2H), 2,72 (s, 2H), 1,14 (s, 9H), 0,89 (s, 6H).

Paso 3. A una mezcla de 1-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-3-((*tert*-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 ta se agregó $AgOTf$ (888 mg, 3,5 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h, luego se diluyó con EtOAc (200 mL) y se lavó con $Na_2S_2O_3$ saturada (100 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 dar 5-bromo-3-(3-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1*H*-indol (900 mg, 72% rendimiento) como un sólido. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 11,70 (s, 1H), 7,68 (d, $J = 1,3$ Hz, 1H), 7,64 - 7,62 (m, 4H), 7,46 - 7,43 (m, 6H), 7,24 - 7,22 (d, 1H), 7,14 - 7,12 (dd, $J = 8,6, 1,6$ Hz, 1H), 3,48 (s, 2H), 2,63 (s, 2H), 1,08 (s, 9H), 0,88 (s, 6H).

Paso 4. A una mezcla agitada de $HCOOH$ (66,3 g, 1,44 mol) en TEA (728 g, 7,2 mol) a 0 °C en una atmósfera de Ar se agregó (4*S*,5*S*)-2-cloro-2-metil-1-(4-metilbencenosulfonil)-4,5-difenil-1,3-diaza-2-rutenaciclopentano cimeno (3,9 g, 6,0 mmol) en porciones. La mezcla se calentó hasta 40 °C y se agitó durante 15 min, luego se enfrió hasta ta y se agregó 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 agregó 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 dar (1*S*)-1-(3-bromopiridin-2-il)etanol (100 g, 74% rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI): m/z $[M+H]$ calculado para C_7H_8BrNO 201,1; encontrado 201,9.

Paso 5. A una mezcla agitada de (1*S*)-1-(3-bromopiridin-2-il)etanol (100 g, 495 mmol) en DMF (1 L) a 0 °C se agregó NaH, 60 % de dispersión en aceite (14,25 g, 594 mmol) en porciones. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Se agregó MeI (140,5 g, 990 mmol) gota a gota a 0 °C y la

mezcla se dejó calentar hasta ta y se agitó durante 2 h. La mezcla se enfrió hasta 0 °C y se agregó NH₄Cl (5 L) saturado. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 L), se secó en Na₂SO₄ 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 dar 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (90 g, 75 % rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₈H₁₀BrNO 215,0; encontrado 215,9.

Paso 6. A una mezcla agitada de 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (90 g, 417 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (30,5 g, 41,7 mmol) en tolueno (900 mL) a ta en una atmósfera de Ar se agregó bis(pinacolato)diboro (127 g, 500 mmol) y KOAc (81,8 g, 833 mmol) en porciones. La mezcla se calentó hasta 100 °C y se agitó durante 3 h. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de Al₂O₃ para dar 2-[(1S)-1-metoxietil]-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (100 g, 63% rendimiento) como un semisólido. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₁₄H₂₂BNO₃ 263,2; encontrado 264,1.

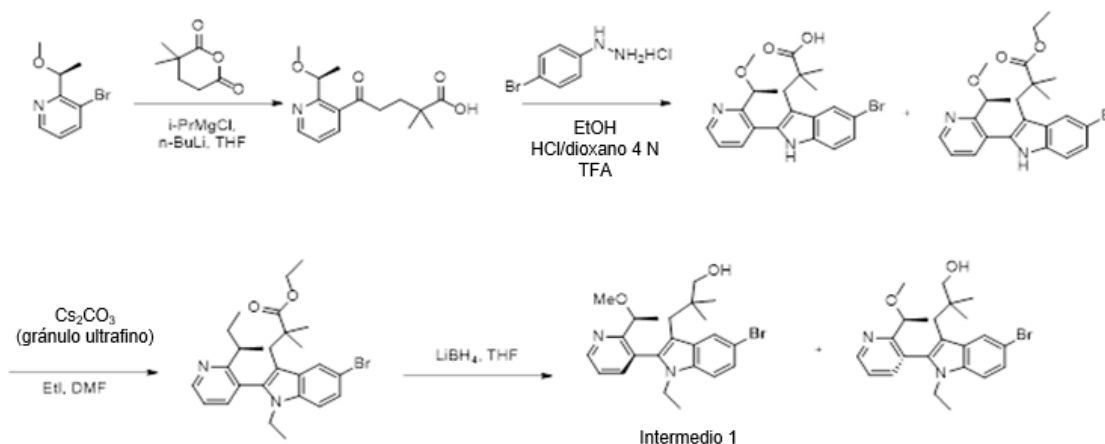
Paso 7. A una mezcla agitada de 5-bromo-3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-yodo-1*H*-indol (140 g, 217 mmol) y 2-[(1S)-1-metoxietil]-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (100 g, 380 mmol) en 1,4-dioxano (1,4 L) a ta en atmósfera de Ar se agregó K₂CO₃ (74,8 g, 541 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (15,9 g, 21,7 mmol) y H₂O (280 mL) en porciones. La mezcla se calentó hasta 85 °C y se agitó durante 4 h, luego se enfrió, se agregó H₂O (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 Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar 5-bromo-3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1*H*-indol (71 g, 45% rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₃₇H₄₃BrN₂O₂Si 654,2; encontrado 655,1.

Paso 8. A una mezcla agitada de 5-bromo-3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1*H*-indol (71 g, 108 mmol) en DMF (0,8 L) a 0 °C en una atmósfera de N₂ se agregó Cs₂CO₃ (70,6 g, 217 mmol) y EtI (33,8 g, 217 mmol) en porciones. La mezcla se calentó hasta ta y se agitó durante 16 h, luego se agregó H₂O (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 Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar 5-bromo-3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol (66 g, 80% rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₃₉H₄₇BrN₂O₂Si 682,3; encontrado 683,3.

Paso 9. A una mezcla agitada de TBAF (172,6 g, 660 mmol) en THF (660 mL) a ta en una atmósfera de N₂ se agregó 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 hasta 50 °C y se agitó durante 16 h, luego se enfrió, se diluyó con H₂O (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 Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-(5-bromo-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (30 g, 62% rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₂₃H₂₉BrN₂O₂ 444,1; encontrado 445,1.

Intermedio 1. Síntesis alternativa mediante la vía de indol de Fisher.



Paso 1. A una mezcla de *i*-PrMgCl (2M in en THF, 0,5 L) a -10 °C en una atmósfera de N₂ se agregó *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 luego se agregó 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (180 g, 833 mmol) en THF (0,5 L) gota a gota durante 30 min a -10 °C. La mezcla resultante se calentó hasta -5 °C y se agitó durante 1 h, luego se agregó 3,3-dimetiloxano-2,6-diona (118 g, 833 mmol) en THF (1,2 L) gota a gota durante 30 min a -5 °C. La mezcla se calentó hasta 0 °C y se agitó durante 1,5 h, luego se inactivó con la adición de HCl 4M enfriado previamente en 1,4-dioxano (0,6 L) a 0 °C para ajustar el pH ~5. La mezcla se diluyó con agua helada (3 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 2,5 L). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na₂SO₄ anhidro, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar ácido 5-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-2,2-dimetil-5-oxopentanoico (87 g, 34% rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₁₅H₂₁NO₄ 279,2; encontrado 280,1.

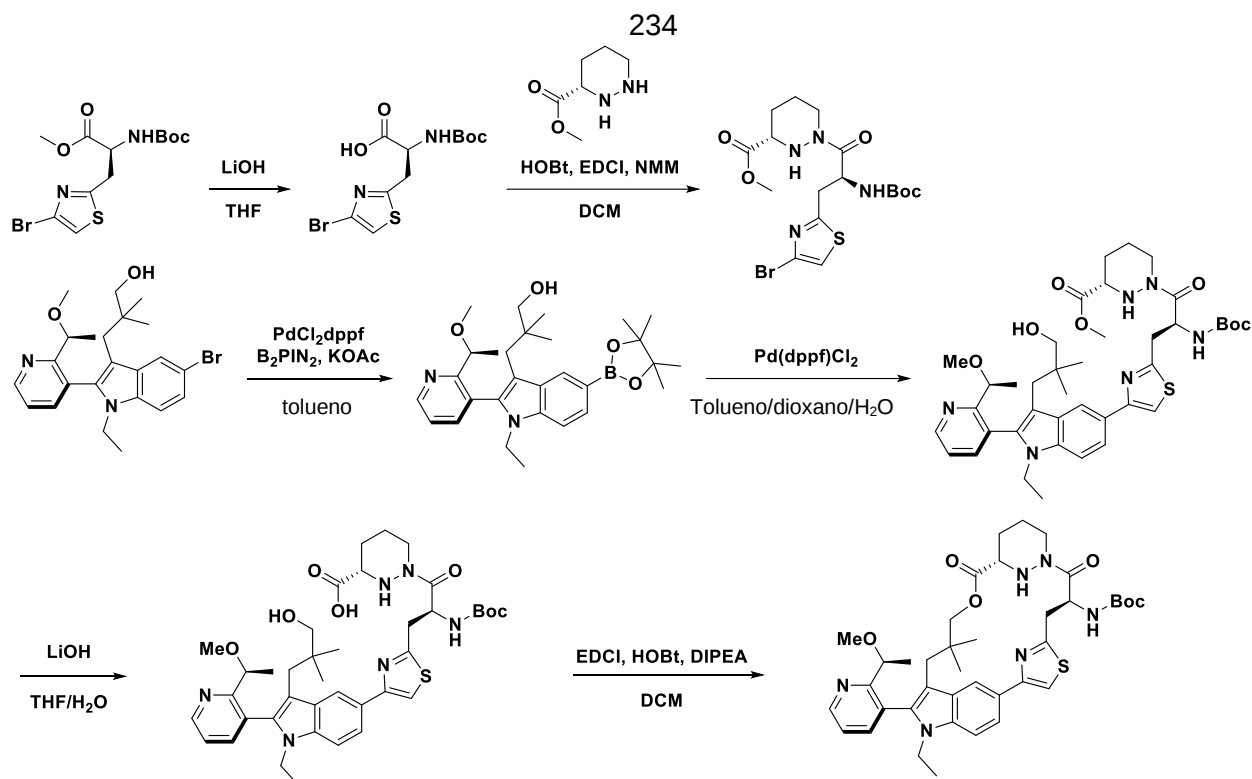
Paso 2. A una mezcla de ácido 5-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-2,2-dimetil-5-oxopentanoico (78 g, 279 mmol) en EtOH (0,78 L) a ta en una atmósfera de N₂ se agregó sal de HCl de (4-bromofenil)hidrazina (68,7 g, 307 mmol) en porciones. La mezcla se calentó hasta 85 °C y se agitó durante 2 h, se enfrió hasta ta, luego se agregó HCl 4M en 1,4-dioxano (69,8 mL, 279 mmol)

gota a gota. 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 hasta 60 °C y se agitó durante 1,5, se concentró a presión reducida y el residuo se ajustó hasta pH ~5 con NaHCO₃ saturado, luego se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 L). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na₂SO₄ anhidro, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar ácido 3-(5-bromo-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoico y (S)-3-(5-bromo-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoato de etilo (78 g, bruto). LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₂₁H₂₃BrN₂O₃ 430,1 y C₂₃H₂₇BrN₂O₃ 458,1; encontrado 431,1 y 459,1.

Paso 3. A una mezcla de ácido 3-(5-bromo-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoico y (S)-3-(5-bromo-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoato de etilo (198 g, 459 mmol) en DMF (1,8 L) a 0 °C en una atmósfera de N₂ se agregó Cs₂CO₃ (449 g, 1,38 mol) en porciones. Luego se agregó Etl (215 g, 1,38 mmol) en DMF (200 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla se calentó hasta ta 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 Na₂SO₄ 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 3-(5-bromo-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoato de etilo (160 g, 57% rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₂₅H₃₁BrN₂O₃ 486,2; encontrado 487,2.

Paso 4. A una mezcla de 3-(5-bromo-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoato de etilo (160 g, 328 mmol) en THF (1,6 L) a 0 °C en una atmósfera de N₂ se agregó LiBH₄ (28,6 g, 1,3 mol). La mezcla se calentó hasta 60 °C durante 16 horas, se enfrió y se inactivó con NH₄Cl acuoso (5 L) enfriado previamente (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 Na₂SO₄ 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 (como atropisómeros únicos) de 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (60 g, 38 % rendimiento) y (40 g, 26 % rendimiento) ambos como sólidos. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₂₃H₂₉BrN₂O₂ 444,1; encontrado 445,2.

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



Paso 1. A una solución de (2S)-3-(4-bromo-1,3-tiazol-2-il)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoato de metilo (110 g, 301,2 mmol) en THF (500 mL) y H₂O (200 mL) a temperatura ambiente se agregó 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 HCl 1 M y luego se extrajo con DCM (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el producto deseado (108 g, bruto). LCMS (ESI) m/z: [M + H] calculado para C₁₁H₁₅BrN₂O₄S: 351,00, encontrado 351,0.

Paso 2. A una solución de ácido (S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoico (70 g, 199,3 mmol) en DCM (500 mL) a 0 °C se agregó (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo sal de ácido bis(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 H₂O (500 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0 → 50 %/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (88,1 g, rendimiento del 92,6 %). LCMS (ESI) m/z: [M + H] calculado para C₁₇H₂₅BrN₄O₅S: 477,08, encontrado 477,1.

Paso 3. A una solución de 3-(5-bromo-1-etil-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (60 g, 134,7 mmol) en tolueno (500 mL) a temperatura ambiente se agregó bis(pinacolato)diboron (51,31 g, 202,1 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (9,86 g, 13,48 mmol), y KOAc (26,44 g,

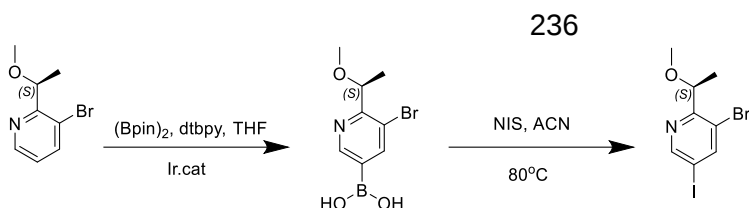
269,4 mmol). Luego la mezcla de reacción se calentó hasta 90 °C y se agitó durante 2 h. Luego la solución de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía de gel de sílice (0→50 % EtOAc/éter de petróleo) proporcionó el producto deseado (60,6 g, 94,0 % rendimiento). LCMS (ESI) m/z: [M + H] calculado para C₂₉H₄₁BN₂O₄: 493,32, encontrado 493,3.

Paso 4. 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)-1*H*-indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (30 g, 60,9 mmol) en tolueno (600 mL), dioxano (200 mL), y H₂O (200 mL) a temperatura ambiente se agregó (S)-1-((S)-3-(4-bromotiazol-2-il)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (43,62 g, 91,4mmol), K₃PO₄ (32,23 g, 152,3 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (8,91 g, 12,18 mmol). La solución resultante se calentó hasta 70 °C y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se inactivó con H₂O (200 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 1000 mL) y las capas orgánicas combinadas se secaron en Na₂SO₄, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0 → 90%/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (39,7 g, rendimiento del 85,4%). LCMS (ESI) m/z: [M + H] calculado para C₄₀H₅₄N₆O₇S: 763,39, encontrado 763,3.

Paso 5. A una solución de (S)-1-((S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1*H*-indol-5-il)tiazol-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (39,7 g, 52,0 mmol) en THF (400 mL) y H₂O (100 mL) a temperatura ambiente se agregó LiOH•H₂O (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 ajustó a pH 6 con HCl 1 M y se extrajo con DCM (3 x 1000 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el producto deseado (37,9 g, bruto). LCMS (ESI) m/z: [M + H] calculado para C₃₉H₅₂N₆O₇S: 749,37, encontrado 749,4.

Paso 6. A una solución de ácido (S)-1-((S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-(4-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1*H*-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 agregó EDCI (271,63 g, 1416,9 mmol). La mezcla resultante se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se inactivó con H₂O y se lavó con HCl 1 M (4 x 1 L). La capa orgánica se separó y concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0 → 70%/éter de petróleo) para proporcionar el producto deseado (30 g, rendimiento del 81,1%). LCMS (ESI) m/z: [M + H] calculado para C₃₉H₅₀N₆O₆S: 731,36, encontrado 731,3.

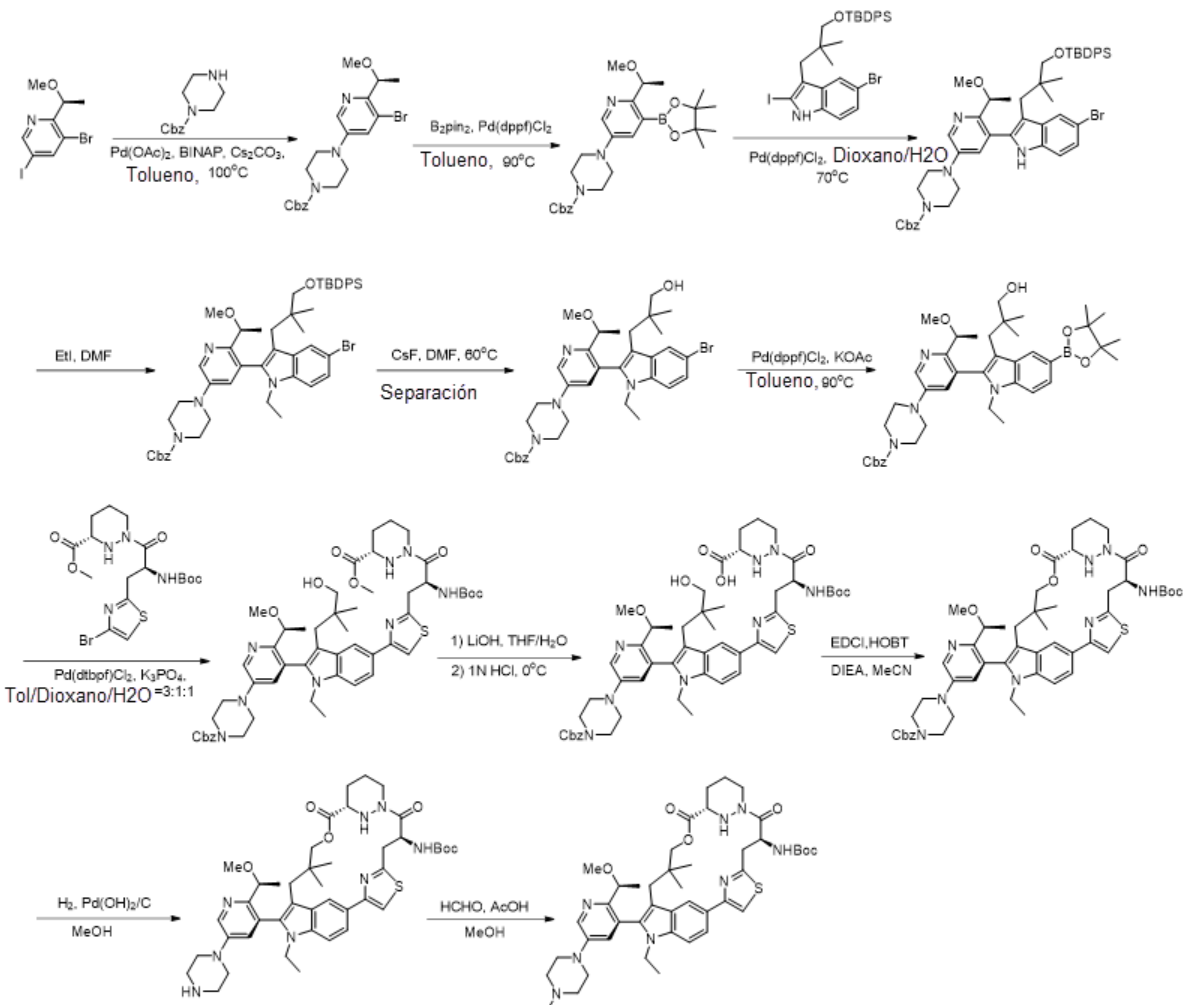
Intermedio 3. Síntesis de (S)-3-bromo-5-iodo-2- (1-methoxietil) piridina.



Paso 1. A una solución agitada de 3-bromo-2-[(1*S*)-1-metoxietil]piridina (80,00 g, 370,24 mmol, 1,00 equiv) y bis(pinacolato)diboron (141,03 g, 555,3 mmol, 1,50 equiv) en THF (320 mL) se agregó dtbpy (14,91 g, 55,5 mmol) y dímero de cloro(1,5-ciclooctadiene)iridium(I) (7,46 g, 11,1 mmol) en una atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 16 horas a 75 °C en atmósfera de argón. La mezcla se concentró a presión reducida. La mezcla resultante se disolvió en EtOAc (200 mL) y la mezcla se ajustó hasta pH 10 con Na₂CO₃ (40 g) y NaOH (10 g) (masa 4:1) en agua (600 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (800mL). La fase acuosa se acidificó hasta pH = 6 con HCl (6 *N*) para precipitar el sólido deseado para proporcionar ácido 5-bromo-6-[(1*S*)-1-metoxietil]piridin-3-ilborónico (50 g, 52,0 % rendimiento) como un sólido amarillo claro. LCMS (ESI): *m/z* [M+H] calculado para C₈H₁₁BBrNO₃ 259,0; encontrado 260,0

Paso 2. A una solución agitada de ácido 5-bromo-6-[(1*S*)-1-metoxietil]piridin-3-ilborónico (23,00 g, 88,5 mmol) en ACN (230 mL) se agregó NIS (49,78 g, 221,2 mmol) a temperatura ambiente en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante la noche a 80 °C en atmósfera de argón. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. La mezcla resultante se disolvió en DCM (2,1 L) y se lavó con Na₂S₂O₃ (3 x 500 mL). La capa orgánica se secó en Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar (S)-3-bromo-5-yodo-2-(1-metoxietil)piridina (20 g, 66,0 % rendimiento). LCMS (ESI): *m/z* [M+H] calculado para C₈H₉BrINO 340,9; encontrado 341,7.

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



Paso 1. En un matraz de fondo redondo y 3 cuellos de 3L 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) bencil piperazina-1-carboxilato (94,69 g, 429,8 mmol), Pd(OAc)₂ (4,83 g, 21,4 mmol), BINAP (5,35 g, 8,6 mmol), Cs₂CO₃ (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. La mezcla de reacción se enfrió a 25°C después de que se completó la reacción. La mezcla resultante se concentró a presión reducida El residuo se aplicó a una columna de gel de sílice con acetato de etilo/hexano (1:1). La eliminación del disolvente a presión reducida dio (S)-4-(5-bromo-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo (135 g, 65,1% rendimiento) como un sólido amarillo oscuro. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₂₀H₂₄BrN₃O₃ 433,1; encontrado 434,1.

Paso 2. En un matraz de fondo redondo y 3 cuellos de 3 L purgado y mantenido con una atmósfera inerte de argón, se colocó 4-[5-bromo-6-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]piperazina-1-carboxilato de bencilo (135 g, 310,8 mmol), bis(pinacolato)diboron (86,82 g, 341,9 mmol),

Pd(dppf)Cl₂ (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 25 °C. La mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se aplicó a una columna de alúmina neutra con acetato de etilo/hexano (1:3). La eliminación del disolvente a presión reducida dio (S)-4-(6-(1-metoxietil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo (167 g, en bruto) como un sólido amarillo oscuro. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₂₆H₃₆BN₃O₅ 481,3; encontrado 482,1.

Paso 3. En un matraz de fondo redondo y 3 cuellos 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-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-yodo-1H-indol (224,27 g, 346,9 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (25,38 g, 34,6 mmol), dioxano (600 mL), H₂O (200 mL), K₃PO₄ (184,09 g, 867,2 mmol), tolueno (200 mL). La solución resultante se agitó durante la noche a 70 °C en un baño de aceite. La mezcla de reacción se enfrió a 25 °C después de que se completó la reacción. La mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se aplicó a una columna de gel de sílice con acetato de etilo/hexano (1:1). La eliminación del disolvente a presión reducida dio (S)-4-(5-(5-bromo-3-(3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo (146 g, 48,1% rendimiento) como un sólido amarillo. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₄₉H₅₇BrN₄O₄Si 872,3; encontrado 873,3.

Paso 4. A una mezcla agitada de (S)-4-(5-(5-bromo-3-(3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo (146 g, 167,0 mmol) y Cs₂CO₃ (163,28 g, 501,1 mmol) en DMF (1200 mL) se agregó C₂H₅I (52,11 g, 334,0 mmol) en porciones a 0 °C en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción final se agitó a 25 °C durante 12 h. El producto deseado se pudo detectar por LCMS. La mezcla resultante se diluyó con EA (1 L) y se lavó con salmuera (3 x 1,5L). Las capas orgánicas se secaron en Na₂SO₄ anhidro. Luego de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para dar (S)-4-(5-(5-bromo-3-(3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-1-etil-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo (143 g, en bruto) como un sólido amarillo que se usó directamente para el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₅₁H₆₁BrN₄O₄Si 900,4; encontrado 901,4.

Paso 5. A una mezcla agitada de (S)-4-(5-(5-bromo-3-(3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-1-etil-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo (143 g, 158,5 mmol) en DMF (1250 mL) se agregó CsF (72,24 g, 475,5 mmol). Luego la mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 2 días en atmósfera de N₂. El producto deseado se pudo detectar mediante LCMS. La mezcla resultante se diluyó con EA (1 L) y se lavó con salmuera (3 x 1L). Luego la fase orgánica se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en

columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EA (1/3) para proporcionar dos atropisómeros de (S)-4-(5-(5-bromo-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1*H*-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo **A** (38 g, 36 % rendimiento, RT = 1,677 min en 3 min LCMS(FA al 0,1 %)) y **B** (34 g, 34 % rendimiento, RT = 1,578 min en 3 min LCMS(0,1 % FA)) ambos como un sólido amarillo. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₃₅H₄₃BrN₄O₄ 663,2; encontrado 662,2.

Paso 6. En un matraz de fondo redondo de 3 cuellos y 500 mL purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó (S)-4-(5-(5-bromo-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1*H*-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo **A** (14 g, 21,1 mmol), bis(pinacolato)diboron (5,89 g, 23,21 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (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 °C en un baño de aceite. La mezcla de reacción se enfrió hasta 25 °C. La mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EA (1/3) para dar (S)-4-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1*H*-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo (12 g, 76,0% rendimiento) como un sólido amarillo. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₄₁H₅₅BN₄O₆ 710,4; encontrado 711,3.

Paso 7. En un matraz de fondo redondo de 250 mL purgado y mantenido con una atmósfera inerte de argón, se colocó (S)-4-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1*H*-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo (10,8 g, 15,2 mmol), metil (3*S*)-1-[(2*S*)-3-(4-bromo-1,3-tiazol-2-il)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato de bencilo (7,98 g, 16,7 mmol), Pd(dtbpf)Cl₂ (0,99 g, 1,52 mmol), K₃PO₄ (8,06 g, 37,9 mmol), tolueno (60 mL), dioxano (20 mL), H₂O (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 25 °C. La solución resultante se extrajo con EtOAc (2 x 50 mL) y se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a una columna de gel de sílice con acetato de etilo/hexano (10:1). La eliminación del disolvente para dar (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)-1*H*-indol-5-il)tiazol-2-il)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (8 g, 50,9 % rendimiento) como un sólido amarillo. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₅₂H₆₈N₈O₉S 980,5; encontrado 980,9.

Paso 8. A una mezcla agitada de (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)-1*H*-indol-5-il)tiazol-2-il)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (12 g, 12,23 mmol) en THF (100 mL)/H₂O (100 mL) se agregó LiOH (2,45 g, 61,1 mmol) en atmósfera de N₂ y la mezcla resultante se agitó durante 2 h a 25 °C. El producto deseado se pudo detectar por LCMS. Se concentró THF a presión reducida. El pH de la fase acuosa se acidificó hasta 5 con HCL (1N) a 0

°C. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 100 ml). La fase orgánica se concentró a presión reducida para dar ácido (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)-1*H*-indol-5-il)tiazol-2-il)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (10 g, 84,5 % rendimiento) como un sólido amarillo claro. LCMS (ESI): *m/z* [M+H] calculado para C₅₁H₆₆N₈O₉S 966,5; encontrado 967,0.

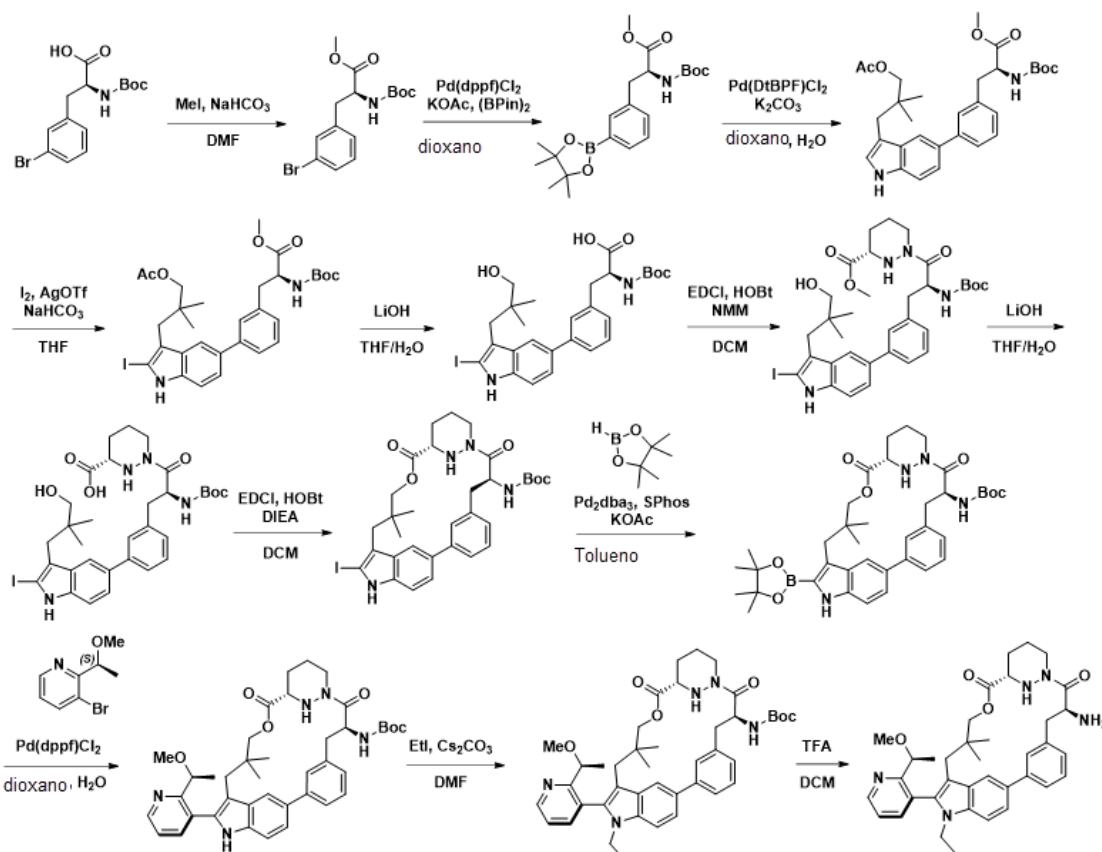
Paso 9. En un matraz de fondo redondo de 3 L purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó ácido (S)-1-((S)-3-(4-(2-(5-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1*H*-indol-5-il)tiazol-2-il)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (18 g, 18,61 mmol), ACN (1,8 L), DIEA (96,21 g, 744,4 mmol), EDCI (107,03 g, 558,3 mmol), HOBT (25,15 g, 186,1 mmol). La solución resultante se agitó durante la noche a 25 °C. La mezcla resultante se concentró al vacío luego de que la reacción se había completado. La solución resultante se diluyó con DCM (1 L). La mezcla resultante se lavó con HCl (3 x 1 L, 1N acuoso). La mezcla resultante se lavó con agua (3 x 1 L). Luego la capa orgánica se concentró, el residuo se aplicó a una columna de gel de sílice con acetato de etilo/hexano (1:1). La eliminación del disolvente a presión reducida dio 4-(5-((6³S,4S,*Z*)-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-1¹-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹*H*-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-1²-il)-6-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo (10,4 g, 54,8 % rendimiento) como un sólido amarillo claro. LCMS (ESI): *m/z* [M+H] calculado para C₅₁H₆₄N₈O₈S 948,5; encontrado 949,3.

Paso 10. En un matraz de fondo redondo de 250 mL purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó 4-(5-((6³S,4S,*Z*)-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-1¹-etil-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹*H*-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-1²-il)-6-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)piperazina-1-carboxilato de bencilo (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 25 °C en 2 atm de H₂. Los sólidos se retiraron mediante filtración y la torta de filtración se lavó con MeOH (3 x 100 mL). Luego la fase orgánica combinada se concentró a presión reducida para dar ((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-1¹*H*-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)carbamato de *tert*-butilo (8,5 g, 90,4 % rendimiento) como un sólido amarillo claro. LCMS (ESI): *m/z* [M+H] calculado para C₄₃H₅₈N₈O₆S 814,4; encontrado 815,3.

Paso 11. En un matraz de fondo redondo de 1000 mL purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó ((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-1¹*H*-8-oxa-2(4,2)-tiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)carbamato de *tert*-butilo (8,5 g, 10,4 mmol), MeOH (100

mL), AcOH (1,88 g, 31,2 mmol) y se agitó durante 15 minutos. Luego se agregó HCHO (1,88 g, 23,15 mmol, solución acuosa al 37 %) y NaBH₃CN (788 mg, 12,5 mmol) a 25 °C. La solución resultante se agitó durante 3 h a 25 °C. La mezcla resultante se inactivó con 100 mL de agua y se concentró a presión reducida para eliminar el MeOH. La solución resultante se diluyó con 300 mL de DCM. La mezcla resultante se lavó con agua (3 x 100 mL). La eliminación del disolvente dio ((6³S,4S,Z)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)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 de *terc*-butilo (8,2 g, 90,1 % rendimiento) como un sólido amarillo. LCMS (ESI): m/z [M+H] calculado para C₄₄H₆₀N₈O₆S 828,4; encontrado 829,3.

Intermedio 5. Síntesis de (6³S,4S)-4-amino-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. 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 agregó NaHCO₃ (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 H₂O (1 L) y se extrajo con EtOAc (3 x 1 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 500 mL), se secaron en Na₂SO₄, 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 dar el producto final (109 g, bruto). LCMS (ESI): m/z [M+Na] calculado para $C_{15}H_{20}BrNO_4$ 380,05; encontrado 380,0.

Paso 2. A una solución agitada de (2S)-3-(3-bromofenil)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoato de metilo (108 g, 301,5 mmol) y bis(pinacolato)diboro (99,53 g, 391,93 mmol) en dioxano (3,2 L) se agregó KOAc (73,97 g, 753,70 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (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 x 800 mL), se secaron en Na₂SO₄, 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; encontrado 428,1.

Paso 3. A una mezcla de (2S)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-[3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]propanoato de metilo (94 g, 231,9 mmol) y 3-(5-bromo-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropil acetato de metilo (75,19 g, 231,93 mmol) en dioxano (1,5 L) y H₂O (300 mL) se agregó K₂CO₃ (64,11 g, 463,85 mmol) y Pd(DtBPF)Cl₂ (15,12 g, 23,19 mmol). La mezcla de reacción se calentó hasta 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 Na₂SO₄, se filtraron y 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; encontrado: 523,1.

Paso 4. A una solución de (2S)-3-(3-[3-(3-(acetiloxi)-2,2-dimetilpropil]-1H-indol-5-il)fenil)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoato de metilo (95,0 g, 181,8 mmol) y yodo (36,91 g, 145,41 mmol) en THF (1 L) a -10 °C se agregó AgOTf (70,0 g, 272,7 mmol) y NaHCO₃ (22,9 g, 272,65 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min y luego se inactivó mediante la adición de Na₂S₂O₃ sat. ac. (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 Na₂SO₄, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (50 % EtOAc/éter de petróleo) para dar (S)-3-(3-(3-(3-(acetoxi)-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1H-indol-5-il)fenil)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoato de metilo (49,3 g, 41,8 % rendimiento). LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{30}H_{37}IN_2O_6$: 649,18; encontrado: 649,1.

Paso 5. A una solución de (2S)-3-(3-[3-(3-(acetiloxi)-2,2-dimetilpropil]-2-yodo-1H-indol-5-il)fenil)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoato de metilo (60 g, 92,5 mmol) en THF (600 mL) se agregó una solución de LiOH•H₂O (19,41 g, 462,5 mmol) en H₂O (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 sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el producto (45 g, 82,1 % de rendimiento). LCMS (ESI) *m/z* [M+Na] calculado para C₂₇H₃₃IN₂O₆ 615,13; encontrado: 615,1.

5 **Paso 6.** A una solución de ácido (2*S*)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1*H*-indol-5-il]fenil]propanoico (30 g, 50,6 mmol) y (3*S*)-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (10,9 g, 75,9 mmol) en DCM (400 mL) se agregó 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 NH₄Cl sat. ac (2 x 200 ml) y salmuera (2 x 200 ml), y la mezcla
10 se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida para dar el producto (14 g, rendimiento del 38,5 %). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para C₃₃H₄₃IN₄O₆ 718,23; encontrado: 719,4.

Paso 7. A una solución de (S)-1-((S)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1*H*-indol-5-il)fenil)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (92 g, 128,0 mmol) en THF (920 mL) a 0 °C se agregó una solución de LiOH•H₂O (26,86 g, 640,10 mmol) en H₂O (640 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h y luego se concentró a presión reducida para dar el producto (90 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para C₃₂H₄₁IN₄O₆ 705,22; encontrado: 705,1.

Paso 8. A una solución de ácido (3*S*)-1-[(2*S*)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-yodo-1*H*-indol-5-il]fenil]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico (90 g, 127,73 mmol) en DCM (10 L) a 0 °C se agregó 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 Na₂SO₄, 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, rendimiento del 79,8 %). LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para C₃₂H₃₉IN₄O₅ 687,21; encontrado: 687,1.

Paso 9. Un matraz de fondo redondo de 1 L se cargó con ((6³S,4*S*)-1²-yodo-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹*H*-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-
30 bencenacicoundecafano-4-il)carbamato de *terc*-butilo (22,0 g, 32,042 mmol), tolueno (300,0 mL), Pd₂(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 agregó 4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (26,66 g, 208,275 mmol) gota a gota 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 filtrado se lavó con EtOAc. El filtrado
35 se concentró a presión reducida y el residuo restante se purificó mediante cromatografía en columna

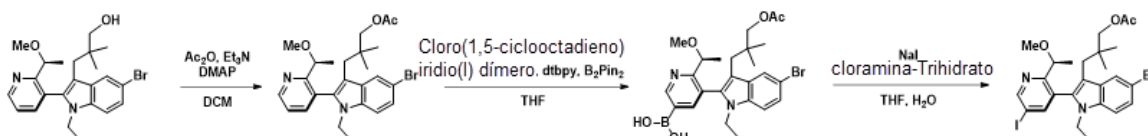
de gel de sílice para dar el producto (22 g, 90 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{38}H_{51}BN_4O_7$ 687,3; encontrado: 687,4.

Paso 10. Una mezcla de ((6³S,4S)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1²-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)carbamato de *terc*-butilo (2,0 g, 2,8 mmol), 3-bromo-2-[(1S)-1-metoxietil]piridina (0,60 g, 2,8 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (0,39 g, 0,5 mmol), y K₃PO₄ (1,2 g, 6,0 mmol) en dioxano (50 mL) y H₂O (10 mL) en una atmósfera de N₂ se calentó hasta 70 °C y se agitó durante 2 h. La mezcla se diluyó con H₂O (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 Na₂SO₄ 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 el producto (1,5 g, 74 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{40}H_{49}N_5O_6$ 695,4; encontrado: 696,5.

Paso 11. A una solución de ((6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)carbamato de *terc*-butilo (20 g, 28,7 mmol) y Cs₂CO₃ (18,7 g, 57,5 mmol) en DMF (150 mL) a 0 °C se agregó 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 se diluyó con H₂O (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 Na₂SO₄, 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, rendimiento del 18,8 %) y el atropisómero (5,78 g, rendimiento del 25,7 %) como sólidos. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{42}H_{53}N_5O_6$ 724,4; encontrado: 724,6.

Paso 12. Una mezcla de *terc*-butil (((6³S,4S)-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-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-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 dar el producto (1,30 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{37}H_{45}N_5O_4$ 623,3; encontrado: 624,4.

Intermedio 6: Síntesis de (S)-3-(5-bromo-1-etil-2-(5-yodo-2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropil acetato



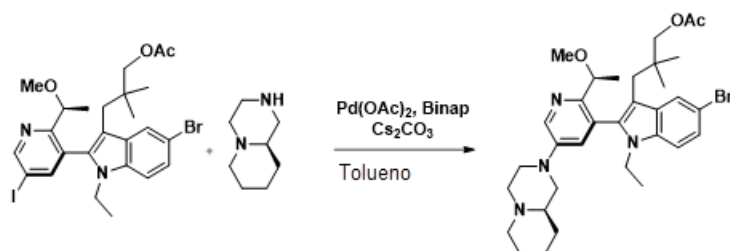
Paso 1. A una solución agitada de (S)-3-(5-bromo-1-etil-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-

indol-3-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (100 g, 224,517 mmol) y Et₃N (45,44 g, 449,034 mmol) en DCM (1 L), se añadió DMAP (2,74 g, 22,452 mmol) y Ac₂O (27,50 g, 269,420 mmol) en porciones a 0 °C bajo atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. Se concentró la mezcla resultante a presión reducida y luego se diluyó con EtOAc (1000 mL). La mezcla resultante se lavó con HCl 1M (500 mL), se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (500 mL) y salmuera (500 mL), se secó con Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante trituración con éter de pet. (500 ml) para proporcionar el producto (93,3 g, rendimiento del 85 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para C₂₅H₃₁BrN₂O₃: 487,16; encontrado: 489,2

Paso 2. 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 B₂PIN₂ (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 bajo atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante la noche a 75 °C. La mezcla resultante se concentró a presión reducida para dar el producto (190 g, bruto) como un aceite. LCMS(ESI) *m/z* [M + H]; calculado para C₂₅H₃₂BBrN₂O₅: 531,17; encontrado: 533,3

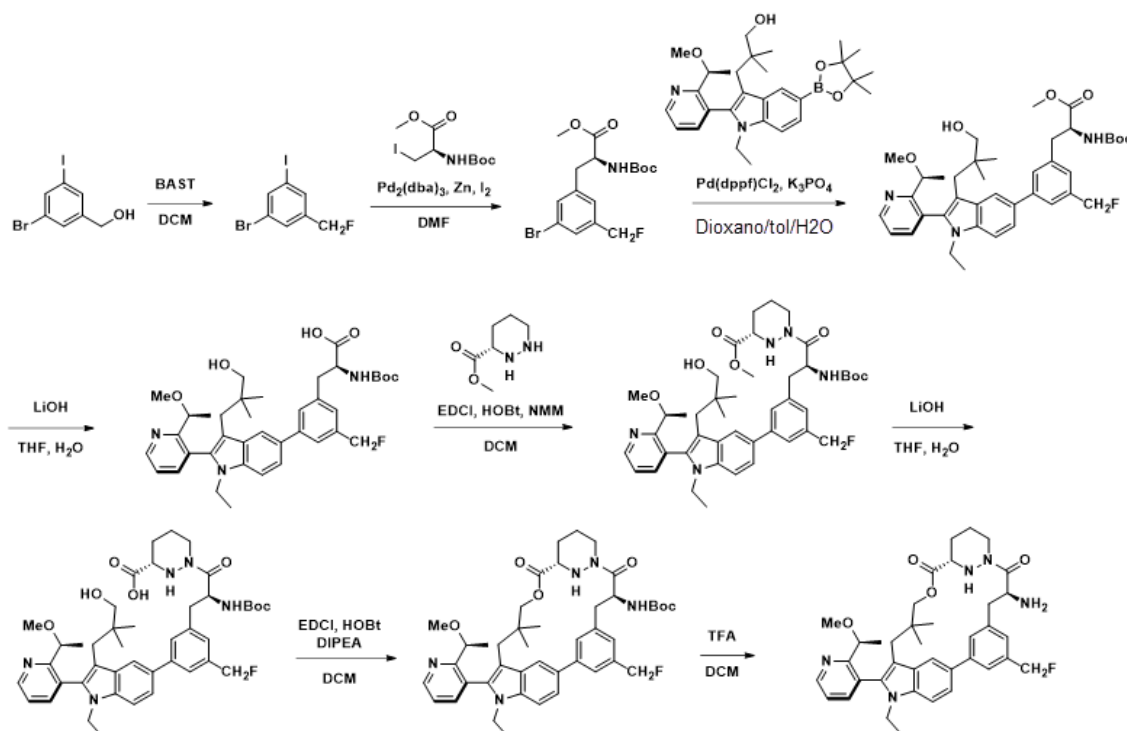
Paso 3. A una solución agitada de ácido (S)-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-5-bromo-1-etil-1H-indol-2-il)-6-(1-metoxietil)piridin-3-il)borónico (110 g, 207,059 mmol) y trihidrato de cloramina-T (349,96 g, 1242,354 mmol) en THF (550 ml) se añadió a una solución de NaI (186,22 g, 1242,354 mmol) en H₂O (225 ml) en porciones a 0 °C bajo una atmósfera de aire. La mezcla resultante se agitó durante la noche a 50 °C en una atmósfera de argón. Se concentró la mezcla resultante a presión reducida y luego se lavó con CHCl₃ (500 mL). La mezcla resultante se filtró, se lavó la torta de filtrado con CHCl₃ (3 x 250 mL). El filtrado se extrajo con CHCl₃ (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con Na₂S₂O₃ (500 ml), se lavaron con salmuera (2 x 200 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice.

Intermedio 7: Síntesis 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



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 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (329,44 mg, 1,467 mmol) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó durante 6 h a 100 °C, después la mezcla se filtró y la torta de filtración se lavó con EtOAc (100 ml). Se concentró el producto filtrado a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (MeOH al 8 %/DCM) para dar el producto (6 g, rendimiento del 65 %) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{BrN}_4\text{O}_3$: 625,28; encontrado: 627,4

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



Paso 1. A una solución de (3-bromo-5-yodofenil)metanol (175,0 g, 559,227 mmol) en DCM (2 l) se le añadió gota a gota BAST (247,45 g, 1118,454 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con solución sat. acuosa de NaHCO_3 a 0 °C. Las capas orgánicas se lavaron con H_2O (3 x 700 ml) y se secaron sobre 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, rendimiento del 68 %).

Paso 2. En un matraz de fondo redondo de tres bocas y 1000 ml se añadió polvo de Zn (32,40 g, 495,358 mmol) en DMF (350,0 ml) e I₂ (967,12 mg, 3,810 mmol). A la mezcla se añadió una solución de (2R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-yodopropanoato de metilo (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 Pd₂(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 retiró 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 NH₄Cl acuoso (3000 ml) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 1000 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2x 1000 mL) y se secaron en Na₂SO₄ 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, rendimiento del 60 %).

Paso 3. Una mezcla de (2S)-3-[3-bromo-5-(fluorometil)fenil]-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoato de metilo (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)Cl₂ (14,11 g, 19,291 mmol) y K₂CO₃ (53,32 g, 385,810 mmol) en dioxano (900 ml) y H₂O (180 ml) se agitó durante 2 h a 80 °C. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y después se diluyó con H₂O. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 1200 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (3 x 500 mL) y se secaron en Na₂SO₄ 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, rendimiento del 80 %). LCMS (ESI) *m/z*: [M + H] calculado para C₃₉H₅₀FN₃O₆: 676,38, encontrado 676,1.

Paso 4. A una solución de (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 de metilo (108 g, 159,801 mmol) en THF (500 ml) se añadió una solución de LiOH•H₂O (11,48 g, 479,403 mmol) en H₂O (500 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0 °C y luego se acidificó a pH 6 con HCl 1 M (acuoso). 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 Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto deseado (101 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z*: [M + H] calculado para C₃₈H₄₈FN₃O₆: 662,36, encontrado 662,1.

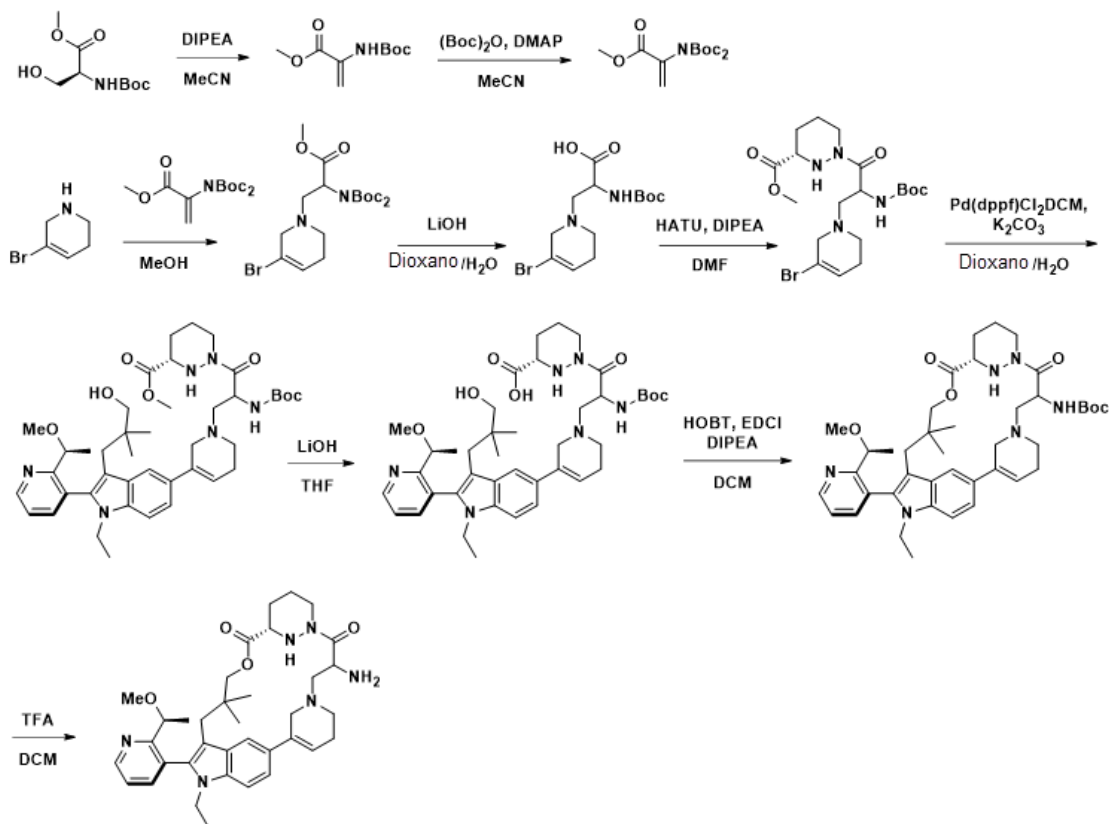
Paso 5. A una solución agitada de ácido (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(3-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-5-(fluorometil)fenil)propanoico (103 g, 155,633 mmol) y NMM (157,42 g, 1556,330 mmol) en DCM (1200 ml) se añadió (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (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 HCl 0,5 M (2 x 1000 ml) y salmuera (2 x 800 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ 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, rendimiento del 83 %). LCMS (ESI) *m/z*: [M + H] calculado para C₄₄H₅₈FN₅O₇: 788,44, encontrado 788,1.

Paso 6. A una solución agitada de (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)propanoilo)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (103 g, 130,715 mmol) en THF (700 ml) se añadió una solución de LiOH•H₂O (27,43 g, 653,575 mmol) en H₂O (700 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0 °C y luego se neutralizó a pH 6 con HCl 1 M. 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 sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto deseado (101 g, bruto). LCMS (ESI) *m/z*: [M + H] calculado para C₄₃H₅₆FN₅O₇: 774,43, encontrado 774,1.

Paso 7. 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)propanoilo)hexahidropiridazina-3-carboxílico (101 g, 130,50 mmol) en DCM (5500 ml) se añadió DIPEA (227,31 ml, 1305,0 mmol) y 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. Después, la mezcla se lavó con HCl 0,5 M (2 x 2000 ml), salmuera (2 x 2000 ml), se secó sobre Na₂SO₄ 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, rendimiento del 65 %). LCMS (ESI) *m/z*: [M + H] calculado para C₄₃H₅₄FN₅O₆: 756,42, encontrado 756,4.

Paso 8. A una solución agitada de ((6³S,4S)-1¹-etil-2⁵-(fluorometil)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il) -10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloudenecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (350 mg, 0,403 mmol) en DCM (4 ml) se añadió TFA (1,50 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h y después se concentró a presión reducida para dar el producto deseado (600 mg, bruto). LCMS (ESI) *m/z*: [M + H] calculado para C₃₈H₄₆FN₅O₄: 656,36, encontrado 656,4.

Intermedio 9. Síntesis de (6³S)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-5,7-diona



Paso 1. A una solución de (*tert*-butoxicarbonil)-L-serinato de metilo (10 g, 45 mmol) en MeCN anhidro (150 mL), se agregó DIPEA (17 g, 137 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 45 °C durante 2 h para dar el producto en solución. LCMS (ESI) m/z [M + Na] calculado para C₉H₁₅NO₄ 201,1; encontrado: 224,1.

Paso 2. A una solución de 2-((*tert*-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)₂O (26 g, 120 mmol). La reacción se agitó durante 6 h, luego se inactivó con H₂O (100 mL) y se extrajo con DCM (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para brindar el producto (12,5 g, 65 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + Na] calculado para C₁₄H₂₃NO₆ 301,2; encontrado: 324,1.

Paso 3. A una mezcla de 5-bromo-1,2,3,6-tetrahydropiridina (8,0 g, 49 mmol) en MeOH (120 mL) en una atmósfera de Ar se agregó 2-{bis[(*tert*-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 dar el producto (12 g, rendimiento del 47 %) como un aceite. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{19}H_{31}BrN_2O_6$ 462,1; encontrado: 463,1.

Paso 4. A una mezcla de 2-(bis(*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-(5-bromo-3,6-dihidropiridin-1(2*H*)-il)propanoato de metilo (14 g, 30 mmol) en dioxano (30 mL) y H_2O (12 mL) se agregó LiOH (3,6 g, 151 mmol). La mezcla se calentó hasta 35 °C y se agitó durante 12 h, luego se agregó HCl 1M 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 dar el producto (10 g, rendimiento del 85 %) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{13}H_{21}BrN_2O_4$ 348,1; encontrado: 349,0.

Paso 5. A una mezcla de ácido 3-(5-bromo-3,6-dihidropiridin-1(2*H*)-il)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propanoico (10 g, 30 mmol), DIPEA (12 g, 93 mmol) y (3*S*)-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (5,4 g, 37 mmol) en DMF (100 mL) a 0 °C en una atmósfera de Ar se agregó HATU (13 g, 34 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se agregó H_2O y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa para dar 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; encontrado: 475,1.

Paso 6. Una mezcla de (3*S*)-1-(3-(5-bromo-3,6-dihidropiridin-1(2*H*)-il)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (9,0 g, 18 mmol), K_2CO_3 (4,5 g, 32 mmol), $Pd(dppf)Cl_2 \cdot DCM$ (1,4 g, 2 mmol), 3-(1-etil-2-{2-[(1*S*)-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 hasta 75 °C y se agitó durante 2 h. Se agregó H_2O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre 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 dar el producto (4,0 g, 25 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{42}H_{60}N_6O_7$ 760,5; encontrado: 761,4.

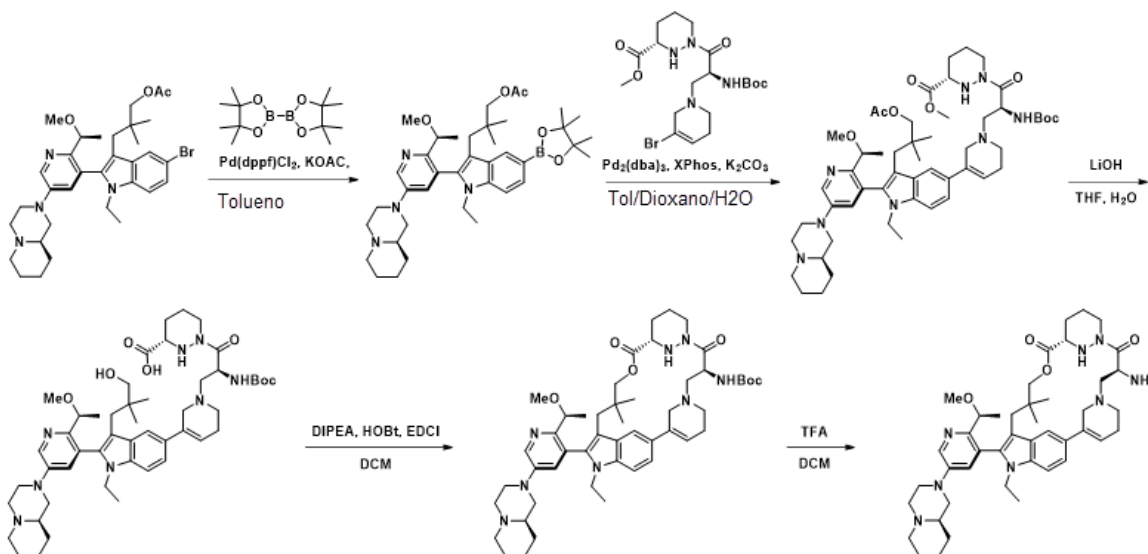
Paso 7. A una mezcla de (3*S*)-1-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((*S*)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1*H*-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2*H*)-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (4,1 g, 5,0 mmol) en THF (35 mL) a 0 °C se agregó LiOH (0,60 g, 27 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1,5 h, luego se agregó HCl 1M para ajustar el pH hasta ~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, rendimiento del 80 %) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H]

calculado para $C_{41}H_{56}N_6O_7$ 746,4; encontrado: 747,4.

Paso 8. A una mezcla de ácido (3*S*)-1-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-(5-(1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((*S*)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1*H*-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2*H*)-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 agregó EDCI•HCl (28 g, 140 mmol) y HOBt (6,5 g, 50 mmol). La mezcla se calentó hasta 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 H₂O (2 x 200 mL), salmuera (200 mL), se secó en Na₂SO₄ y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar el producto (1,45 g, 40 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{41}H_{56}N_6O_6$ 728,4; encontrado: 729,4.

Paso 9. A una mezcla de ((6³*S*)-1¹-etil-1²-(2-((*S*)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹*H*-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)carbamato de *tert*-butilo (130 mg, 0,20 mmol) en DCM (1,0 mL) a 0 °C se agregó TFA (0,3 mL). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, después se concentró a presión reducida para dar el producto, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para $C_{36}H_{48}N_6O_4$ 628,4; encontrado: 629,4.

Intermedio 10. Síntesis de (6³*S*,4*S*)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((*S*)-1-metoxietil)-5-((*R*)-octahidro-2*H*-pirido[1,2-*a*]pirazin-2-il)pidin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹*H*-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-5,7-diona



Paso 1. 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 atmósfera de nitrógeno. La mezcla se basificó luego hasta pH 8 con $NaHCO_3$ saturado acuoso. 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 al 2 %/DCM) para proporcionar el producto (0,9 g, rendimiento del 83 %) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{39}H_{57}BN_4O_5$: 673,45; encontrado: 673,6

Paso 2. 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), (3S)-1-[(2S)-3-(3-bromo-5,6-dihidro-2H-piridin-1-il)-2-[(terc-butoxicarbonilo) amino]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (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 atmósfera de nitrógeno. La mezcla se basificó luego hasta pH 8 con $NaHCO_3$ saturado acuoso. 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 al 2 %/DCM) para proporcionar el producto (1,1 g, rendimiento del 87%) en forma de un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{52}H_{76}N_8O_8$: 941,59; encontrado: 941,8

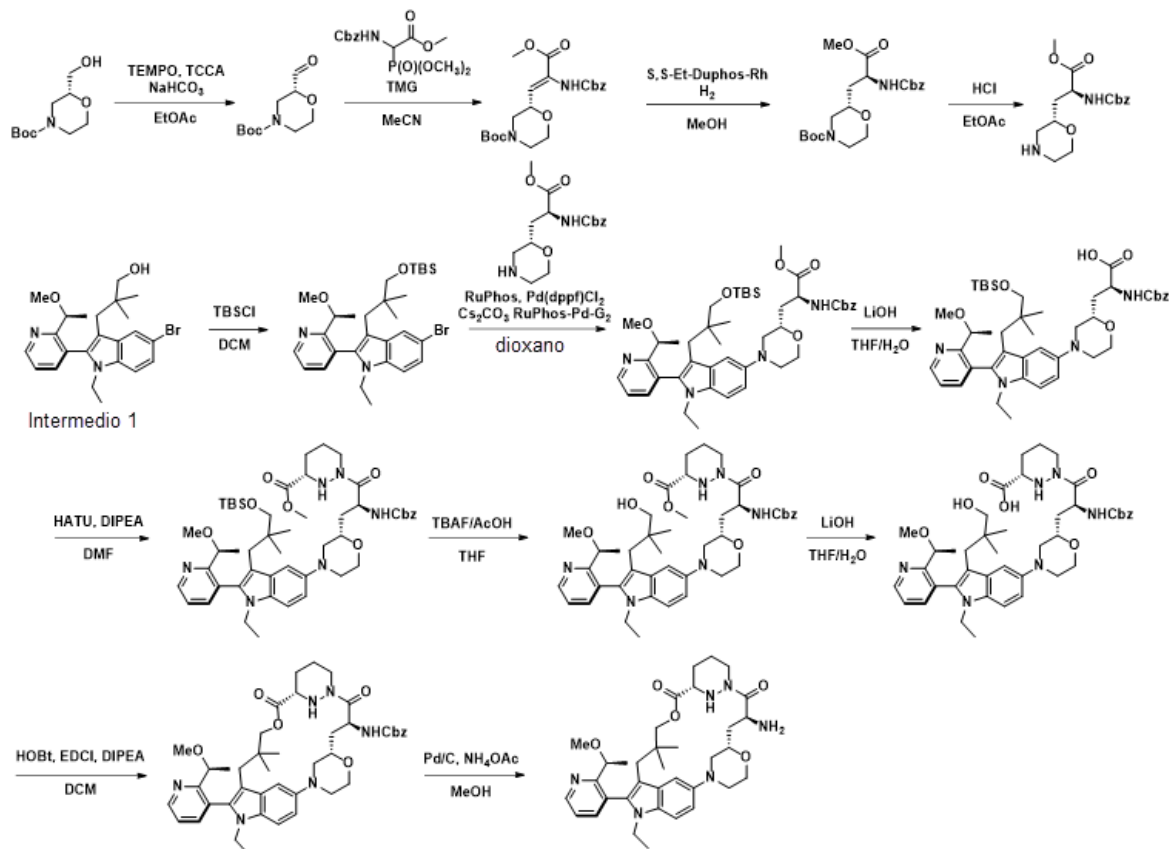
Paso 3. A una solución agitada de (S)-1-((S)-3-(5-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (1,1 g, 1,169 mmol) en THF (8 ml) se añadió a una solución de LiOH (0,14 g, 5,845 mmol) en H_2O (8 ml) gota a gota a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. Después la mezcla se acidificó hasta pH 6 con solución concentrada de HCl. La mezcla resultante 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 producir el producto (1,0 g, 96 % de rendimiento) como un sólido, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{49}H_{72}N_8O_7$: 885,56; encontrado: 885,5

Paso 4. 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 bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. Después la mezcla se basificó hasta pH 8 con solución saturada acuosa de NaHCO₃. 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 Na₂SO₄ 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 al 3 %/DCM) para proporcionar el producto (650 mg, rendimiento del 66 %) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para C₄₉H₇₀N₈O₆: 867,55; encontrado: 867,5

Paso 5. A una solución agitada de ((6³S,4S)-1¹-etil-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-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (300 mg, 0,346 mmol) en DCM (3 ml) se añadió TFA (3 ml) gota a gota a 0 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. Después la mezcla se basificó hasta pH 8 con solución saturada acuosa de NaHCO₃. 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 Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida para producir el producto (260 mg, 98% de rendimiento) como un sólido, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para C₄₄H₆₂N₈O₄: 767,50; encontrado: 767,2

Intermedio 11. Síntesis de (2²S,6³S,4S)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)pyridin-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)-piridazinacicloundecafano-5,7-diona



Paso 1. A una solución de formiato de (2R)-2-(hidroximetil)morfolin-4-ilo de terc-butilo (50 g, 230 mmol) en EtOAc (1 l) se le añadió TEMPO (715 mg, 4,6 mmol) y NaHCO₃ (58 g, 690 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se enfrió a -50 °C, después se añadió gota a gota TCCA (56 g, 241 mmol) en EtOAc (100 ml) durante 30 min. La mezcla de reacción se calentó a 5 °C durante 2 h, luego se inactivó con Na₂S₂O₃ 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 H₂O (100 mL) y salmuera (100 mL), luego se secaron en Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida para dar el producto (50 g, bruto) como un aceite.

Paso 2. A una solución de formiato de (2R)-2-formilmorfolin-4-il terc-butilo (49 g, 153 mmol) y 2-[[[(benciloxi)carbonil]amino]-2-(dimetoxifosforil)acetato de metilo (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 NaHCO₃ acuoso al 10 % (200 mL). La fase orgánica se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar el producto (36 g, 90 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M+Na] calculado para C₂₁H₂₈N₂O₄ 420,2; encontrado: 443,1

Paso 3. A una solución de (S,Z)-2-(2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)morfolin-4-carboxilato de terc-butilo (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 H₂ (60 psi) durante 48 h. La reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar el producto (44 g, 90 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M+Na] calculado para C₂₁H₃₀N₂O₇ 422,2; encontrado: 445,2.

Paso 4. A una solución agitada de (S)-2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-metoxi-3-oxopropil)morfolin-4-carboxilato de terc-butilo (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 dar el producto (1,51 g, rendimiento del 90 %) como un aceite. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para C₁₆H₂₂N₂O₅ 322,1; encontrado: 323,2.

Paso 5. 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 H₂O (3 x 300 ml) y salmuera (2 x 200 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó con cromatografía en columna de gel de sílice para brindar el producto (138 g, 90 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para C₂₉H₄₃BrN₂O₂Si 558,2; encontrado: 559,2.

Paso 6. 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) se añadió (2S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-[(2S)-morfolin-2-il]propanoato de metilo (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 bajo una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó durante 6 h a 105 °C en atmósfera de N₂. Se filtró la mezcla resultante a presión reducida y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía de TLC prepratoria para obtener el producto (55 g, 73 % de rendimiento) como sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H] calculado para C₄₅H₆₄N₄O₇Si 800,5; encontrado: 801,5.

Paso 7. A una solución de (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 de metilo (10 g, 12 mmol) en THF (270 ml) se añadió LiOH (1,3 g, 31 mmol) en H₂O (45 ml) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se trató con HCl 1 N 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 se lavaron con salmuera y se secaron en Na₂SO₄ anhidro. Después, la fase orgánica se concentró a presión reducida para dar el producto (9,5 g, rendimiento del 97 %)

como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{44}H_{62}N_4O_7Si$ 786,4; encontrado: 787,4.

Paso 8. 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 (S)-hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (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 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 ~ 5 °C durante 1 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (500 ml) y H₂O (200 ml). La capa orgánica se separó y se lavó con H₂O (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre 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 dar el producto. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{50}H_{72}N_6O_8Si$ 912,5; encontrado: 913,4.

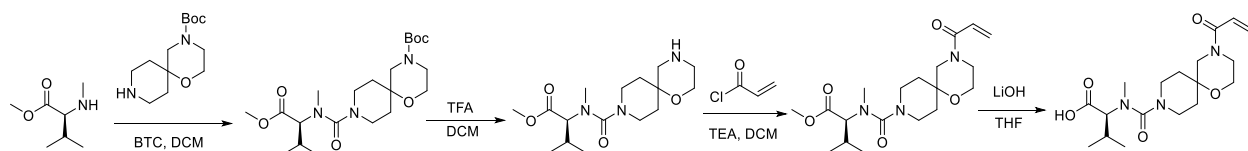
Paso 9. A una solución de (S)-1-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((S)-4-(3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)morfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (8,5 g, 9 mmol) en THF (8 ml) se añadió una 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 H₂O (6 x 20 ml). La fase orgánica se concentró a presión reducida para dar el producto (7,4 g, rendimiento del 100 %) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{44}H_{58}N_6O_8$ 799,4; encontrado: 798,4.

Paso 10. A una solución de (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 de metilo (8 g, 10 mmol) en THF (200 ml) se añadió LiOH (600 mg, 25 mmol) en H₂O (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se trató con HCl 1 N para ajustar el pH a 4~5 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 dar el producto (8 g, bruto) como un sólido. LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{43}H_{56}N_6O_8$ 784,4; encontrado: 785,4.

Paso 11. 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 añadieron EDCI (88 g, 458 mmol) y HOBt (27,6 g, 204 mmol) a temperatura ambiente en una 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 dar el producto (5 g, 66 % de rendimiento) como un sólido; LCMS (ESI) m/z [M + H] calculado para $C_{43}H_{54}N_6O_7$ 766,4; encontrado: 767,4.

Paso 12. A una solución de (((2²S,6³S,4S)-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)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-4-il)carbamato de bencilo (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 H₂ y la mezcla se agitó durante 2 h. La mezcla resultante se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se redisolvió en DCM (20 ml) y se lavó con H₂O (5 ml x 2), después se concentró a presión reducida para producir el producto (320 mg, rendimiento del 97 %) como un sólido. LCMS (ESI) *m/z* [M + H]⁺ calculado para C₃₅H₄₈N₆O₅ 632,4; encontrado: 633,3.

Intermedio 12. Síntesis del ácido (2S)-3-metil-2-[metil(4-(prop-2-enil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carbonil)amino]butanoico



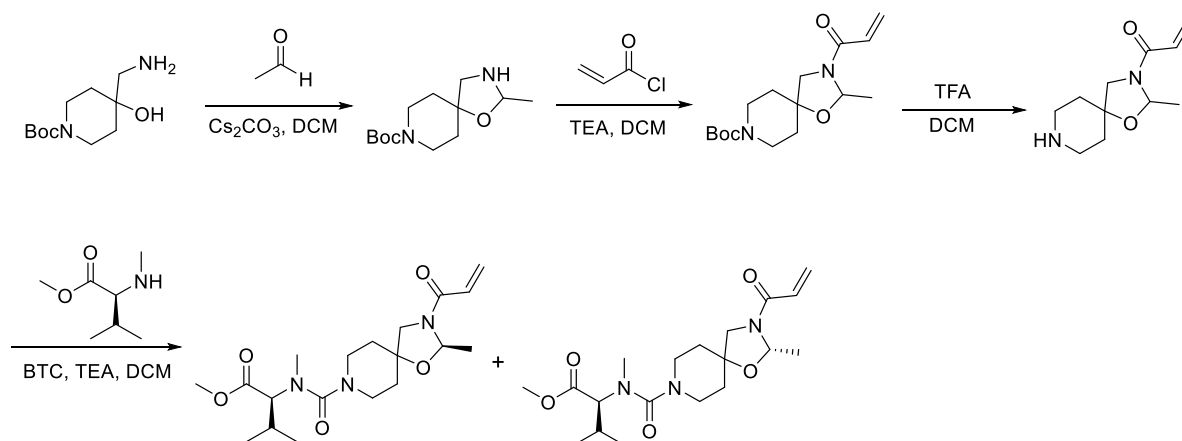
Paso 1. A una mezcla de carbonato de ditriclorometilo (135 mg, 0,45 mmol) y DCM (1 ml) a 0 °C se añadió una mezcla de (2S)-3-metil-2-(metilamino)butanoato de metilo (200 mg, 1,4 mmol) y piridina (327 mg, 4,1 mmol) en DCM (1 ml) gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se añadieron gota a gota 1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (353 mg, 1,4 mmol), TEA (418 mg, 4,1 mmol) en DCM (2 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h y luego se concentró a presión reducida. Se añadió salmuera (20 ml) al residuo y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar 9-[[[(2S)-1-metoxi-3-metil-1-oxobutan-2-il](metil)carbamoil]-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (335 mg, rendimiento del 57 %) como un sólido. LCMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calculado para C₂₁H₃₇N₃O₆ 427,3; encontrado 428,2.

Paso 2. A una mezcla de 9-[[[(2S)-1-metoxi-3-metil-1-oxobutan-2-il](metil)carbamoil]-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (330 mg, 0,77 mmol) en DCM (2,4 ml) a 0 °C se añadió TFA (0,8 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante h, luego se basificó a pH ~7 con NaHCO₃ saturado y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (2S)-3-metil-2-[metil(1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carbonil)amino]butanoato de metilo (280 mg, bruto) como un sólido amarillo claro. LCMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calculado para C₁₆H₂₉N₃O₄ 327,2; encontrado 328,1.

Paso 3. A una mezcla de (2S)-3-metil-2-[metil(1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carbonil)amino]butanoato de metilo (270 mg, 0,83 mmol) y TEA (1,67 g, 16,5 mmol) en DCM (3 ml) a 0 °C se añadió gota a gota cloruro de acrililo (75 mg, 0,83 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar (2S)-3-metil-2-[metil(4-(prop-2-enoil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carbonil)amino]butanoato de metilo (230 mg, rendimiento 73 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₉H₃₁N₃O₅ 381,2; encontrado 382,2.

Paso 4. A una mezcla de (2S)-3-metil-2-[metil(4-(prop-2-enoil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carbonil)amino]butanoato de metilo (220 mg, 0,58 mmol) en THF (1,8 ml) y H₂O (0,6 ml) a 0 °C se añadió LiOH (21 mg, 0,87 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 día, luego se acidificó a pH ~4 con HCl acuoso y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido (2S)-3-metil-2-[metil(4-(prop-2-enoil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carbonil)amino]butanoico (137 mg, rendimiento del 65 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₈H₂₉N₃O₅ 367,2; encontrado 368,2.

Intermedio 13. Síntesis de N-((S)-3-acrililoil-2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)-N-metil-L-valinato de metilo y N-((R)-3-acrililoil-2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)-N-metil-L-valinato de metilo



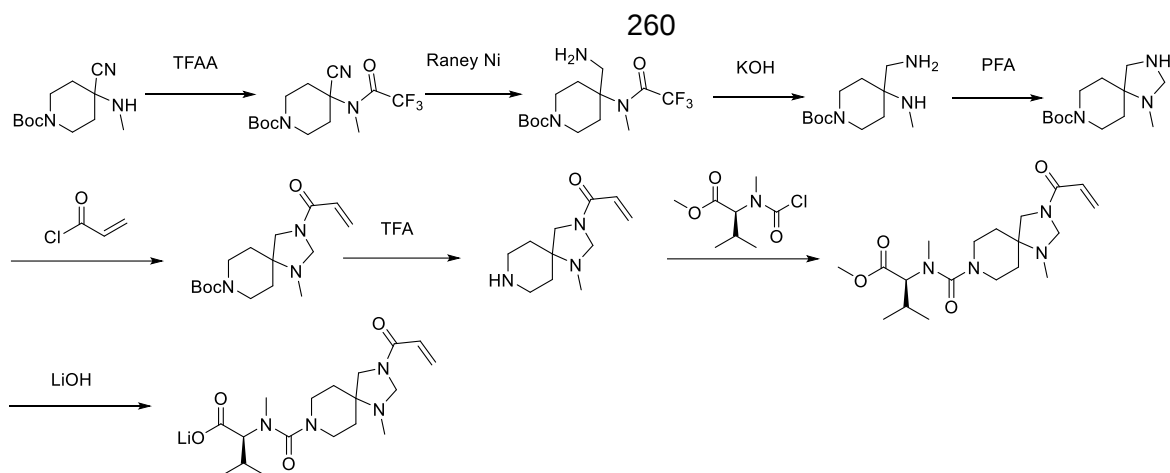
Paso 1. A una mezcla de 4-(aminometil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de terc-butilo (5,0 g, 21,7 mmol) en DCM (50 ml) se le añadió MgSO₄ (10 g), Cs₂CO₃ (7,07 g, 21,7 mmol) y acetaldehído (0,96 g, 21,7 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se filtró y la torta de filtración se lavó con EtOAc (5 x 100 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para dar 2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decano-8-carboxilato de terc-butilo (6 g) como un aceite, que se usó directamente en la siguiente etapa. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₃H₂₄N₂O₃ 256,2; encontrado 257,4.

Paso 2. A una mezcla de 2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decano-8-carboxilato de terc-butilo (5,9 g, 23,0 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C se añadió TEA (6,99 g, 69,1 mmol) y cloruro de acrilóilo (2,08 g, 23,0 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min, luego se agregó hielo/H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (4 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-acrilóil-2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carboxilato de terc-butilo (2,7 g, 38 %) como un aceite.

Paso 3. A una mezcla de 3-acrilóil-2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carboxilato de terc-butilo (2,65 g, 8,5 mmol) en DCM (26 ml) a 0 °C se añadió TFA (13 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se concentró a presión reducida para dar 1-(2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-3-il)prop-2-en-1-ona (4,8 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₁H₁₈N₂O₂ 210,1; encontrado 211,2.

Paso 4. A una mezcla de BTC (0,40 g, 1,4 mmol) en DCM (10 ml) a 0 °C se le añadió metil-L-valinato de metilo HCl (0,73 g, 4,1 mmol) y piridina (1,28 g, 16,2 mmol) en DCM (7 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregaron TEA (4,10 g, 40,5 mmol) y 1-(2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-3-il)prop-2-en-1-ona (1,70 g, 8,1 mmol) en DCM. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se agregó hielo/H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC preparativa y HPLC preparativa para dar N-((S)-3-acrilóil-2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)-N-metil-L-valinato de metilo (750 mg) y N-((R)-3-acrilóil-2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)-N-metil-L-valinato de metilo (730 mg) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₉H₃₁N₃O₅ 381,2; encontrado 382,2.

Intermedio 14. Síntesis del ácido (2S)-3-metil-2-{metil[1-metil-3-(prop-2-enoil)-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-8-il]carbonilamino}butanoico, sal de litio



Paso 1. A una mezcla de formiato de [4-ciano-4-(metilamino)piperidin-1-il] terc-butilo (14,4 g, 63 mmol) y piridina (8 g, 125,6 mmol) en THF (200 ml) a 0 °C se añadió TFAA (15,8 g, 75,2 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h, luego se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc (100 ml), se lavó con HCl 1 N (100 ml), luego se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 4-ciano-4-(2,2,2-trifluoro-N-metilacetamido)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (15,9 g, 71 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+Na]⁺ calculado para C₁₄H₂₀F₃N₃NaO₃ 358,1; encontrado 358,2.

Paso 2. Una mezcla de 4-ciano-4-(2,2,2-trifluoro-N-metilacetamido)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (9,6 g, 28 mmol) en EtOH (100 ml) y Raney Ni (2 g) se agitó bajo una atmósfera de H₂ (15 psi) durante 16 h. La mezcla se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 4-(aminometil)-4-(2,2,2-trifluoro-metilacetamido)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (3,9 g, rendimiento del 40 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₄H₂₄F₃N₃O₃ 339,2; encontrado 340,2.

Paso 3. A una mezcla de 4-(aminometil)-4-(2,2,2-trifluoro-metilacetamido)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (3,9 g, 12 mmol) en MeOH (40 ml) y H₂O (8 ml) se añadió KOH (3,45 g, 60 mmol). La mezcla se calentó a 80 °C y se agitó durante 1 h, luego se concentró a presión reducida para eliminar el MeOH. La fase acuosa se extrajo con DCM (30 ml x 3) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida para dar 4-(aminometil)-4-(metilamino)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (2,9 g, rendimiento del 92 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₂H₂₅N₃O₂ 243,2; encontrado 244,2.

Paso 4. A una mezcla de formiato de [4-(aminometil)-4-(metilamino)piperidin-1-il] terc-butilo (1,4 g, 5,7 mmol) en Et₂O (15 ml) se le añadió paraformaldehído (0,77 g, 25,6 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se filtró y la torta de filtración se lavó con DCM. El filtrado se concentró a presión reducida para dar formiato de {1-metil-1,3,8-triazaespiro[4.5]decan-8-ilo} de terc-butilo (1,2 g, rendimiento del 77 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado

para $C_{13}H_{25}N_3O_2$ 255,2; encontrado 256,3.

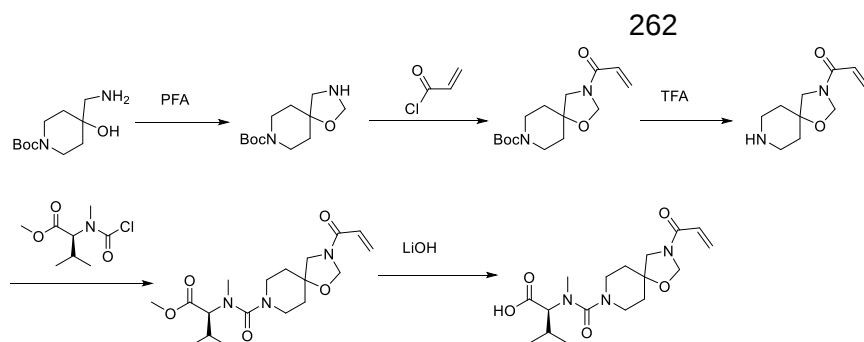
Paso 5. A una mezcla de formiato de {1-metil-1,3,8-triazaespiro[4.5]decan-8-ilo} de terc-butilo (1,4 g, 5,5 mmol), $NaHCO_3$ (1,16 g, 13,7 mmol) en H_2O (15 ml) y DCM (15 ml) a 0 °C se añadió cloruro de prop-2-enoilo (0,55 g, 6 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregó H_2O (30 mL), y la mezcla se extrajo con DCM (50 mL x 3). Las capas orgánicas obtenidas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar formiato de [1-metil-3-(prop-2-enoil)-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-8-il] de terc-butilo (0,8 g, rendimiento del 43 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{16}H_{27}N_3O_3$ 309,2; encontrado 310,3.

Paso 6. A una mezcla de formiato de [1-metil-3-(prop-2-enoil)-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-8-il] de terc-butilo (800 mg, 2,6 mmol) en DCM (6 ml) se añadió TFA (2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y luego se concentró a presión reducida para dar 1-{1-metil-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-3-il}prop-2-en-1-ona (540 mg), que se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{11}H_{19}N_3O$ 209,2; encontrado 210,3.

Paso 7. A una mezcla de 1-{1-metil-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-3-il}prop-2-en-1-ona (540 mg, 2,6 mmol) y (2S)-2-[(clorocarbonil)(metil)amino]-3-metilbutanoato de metilo (589 mg, 2,83 mmol) en DCM (10 ml) a 0 °C se añadió TEA (781 mg, 7,74 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregó H_2O (30 mL), y la mezcla se extrajo con DCM (50 mL x 3). Las capas orgánicas obtenidas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar (2S)-3-metil-2-{metil[1-an aceite. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{19}H_{32}N_4O_4$ 380,2; encontrado 381,3.

Paso 8. A una mezcla de (2S)-3-metil-2-{metil[1-metil-3-(prop-2-enoil)-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-8-il]carbonilamino}butanoato de metilo (600 mg, 1,6 mmol) en THF (3 ml) se añadió LiOH (75,5 mg, 3,15 mmol) en H_2O (2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se liofilizó para proporcionar ácido (2S)-3-metil-2-{metil[1-metil-3-(prop-2-enoil)-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-8-il]carbonilamino}butanoico, sal de litio (500 mg, rendimiento del 78 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{18}H_{30}N_4O_4$ 366,2; encontrado 367,2.

Intermedio 15. Síntesis del ácido (2S)-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il]carbonilamino}butanoico



Paso 1. A una mezcla de 4-(aminometil)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (26 g, 112,9 mmol) en MeOH (52 ml) y NaOH 3 M (260 ml) se le añadió HCHO (37 % en peso en H₂O; 52 ml). La mezcla se agitó durante 16 h a temperatura ambiente y después se extrajo con DCM (100 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar 1-oxa-3,8-diazaespiro[4,5]decano-8-carboxilato de terc-butilo (28,8 g) como un aceite. El producto bruto se usó directamente en la siguiente etapa. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₂H₂₂N₂O₃ 242,2; encontrado 243,2.

Paso 2. A una mezcla de 1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decano-8-carboxilato de terc-butilo (14,4 g, 59,4 mmol) y NaHCO₃ (14,97 g, 178,2 mmol) en DCM (75 ml) y H₂O (75 ml) a 0 °C se añadió cloruro de prop-2-enoilo (8,06 g, 89,1 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se extrajo con DCM (50 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decano-8-carboxilato de terc-butilo (10 g, rendimiento 54 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₅H₂₄N₂O₄ 296,2; encontrado 297,2.

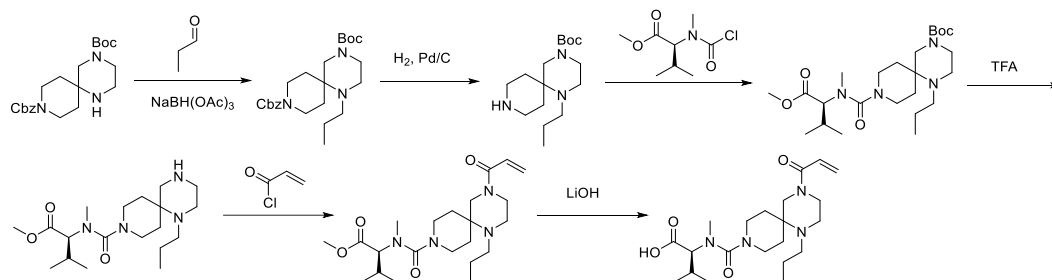
Paso 3. A una mezcla de 3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decano-8-carboxilato de terc-butilo (1,0 g, 3,4 mmol) en DCM (6 ml) se le añadió TFA (2 ml). La mezcla se agitó a ta durante 1 h, luego se concentró a presión reducida para dar 1-{1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decan-3-il}prop-2-en-1-ona (0,67 g) como un aceite. El producto se utilizó en el siguiente paso directamente. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₀H₁₆N₂O₂ 196,1; encontrado 197,1.

Paso 4. A una mezcla de (2S)-2-[(clorocarbonil)amino]-3-metilbutanoato de metilo (0,66 g, 3,4 mmol) y TEA (1,72 g, 17 mmol) en DCM (10 ml) a 0 °C se añadió 1-{1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decan-3-il}prop-2-en-1-ona (0,67 g, 3,4 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregó H₂O (30 mL), y la mezcla se extrajo con DCM (30 mL). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar (2S)-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il]carbonilamino}butanoato de metilo (600 mg, 47 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₈H₂₉N₃O₅ 367,2; encontrado 368,3.

Paso 5. A una mezcla de (2S)-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-

diazaspiro[4.5]decan-8-il]carbonilamino}butanoato de metilo (600 mg, 1,63 mmol) en THF (5 ml) se añadió a una solución de hidróxido de litio (78 mg, 3,3 mmol) en H₂O (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, luego se ajustó a pH ~4 con HCl 1 N y se extrajo con DCM (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para dar ácido (2S)-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il]carbonilamino}butanoico (500 mg) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₇H₂₇N₃O₅ 353,2; encontrado 354,2.

Intermedio 16. Síntesis del ácido (2S)-3-metil-2-{metil[4-(prop-2-enil)-1-propil-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecan-9-il]carbonilamino}butanoico, sal de litio



Paso 1. A una mezcla de 9-{3-[(formiloxi)metil]fenil}-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (1,0 g, 2,6 mmol) y propanal (0,3 g, 5,2 mmol) en DCM (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Se añadió NaBH(OAc)₃ (1,1 g, 5,2 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, después se añadió H₂O (20 ml) y la mezcla se extrajo con DCM (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 9-{3-[(formiloxi)metil]fenil}-1-propil-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (0,7 g, rendimiento del 62 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₂₄H₃₇N₃O₄ 431,3; encontrado 432,3.

Paso 2. Una mezcla de 9-{3-[(formiloxi)metil]fenil}-1-propil-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (600 mg, 1,39 mmol) y Pd/C al 10 % (148 mg, 1,39 mmol) en THF (10 ml) se agitó bajo una atmósfera de H₂ (15 psi) a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar 1-propil-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (500 mg) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₆H₃₁N₃O₂ 297,2; encontrado 298,2.

Paso 3. A una mezcla de (2S)-2-[(clorocarbonil)(metil)amino]-3-metilbutanoato de metilo (314 mg, 1,5 mmol) en DCM (5 ml) a 0 °C se le añadió TEA (458 mg, 4,5 mmol) y 1-propil-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (450 mg, 1,5 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregó H₂O (20 mL), y la mezcla se extrajo con DCM (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron.

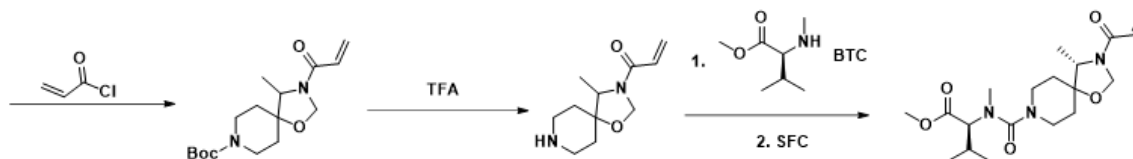
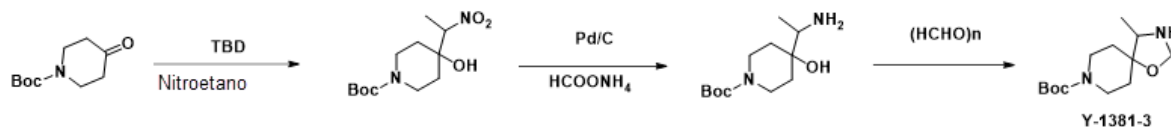
El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 9-[[[(2S)-1-metoxi-3-metil-1-oxobutan-2-il](metil) carbamoil]-1-propil-1,4,9-triazaespiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (650 mg, 83 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₂₄H₄₄N₄O₅ 468,3; encontrado 469,3.

5 **Paso 4.** A una mezcla de 9-[[[(2S)-1-metoxi-3-metil-1-oxobutan-2-il](metil)carbamoil]-1-propil-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (550 mg, 1,17 mmol) en DCM (6 ml) a 0 °C se añadió TFA (2 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 15 min, luego se concentró a presión reducida para dar (2S)-3-metil-2-[metil({1-propil-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecan-9-il}carbonil)amino]butanoato de metilo (435 mg), que se usó directamente en el siguiente paso. LCMS
10 (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₉H₃₆N₄O₃ 368,3; encontrado 369,3.

Paso 5. A una mezcla de (2S)-3-metil-2-[metil({1-propil-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecan-9-il}carbonil)amino]butanoato de metilo (435 mg, 1,18 mmol) en DCM (5 ml) y H₂O (5 ml) a 0 °C se añadió NaHCO₃ (991 mg, 11,8 mmol) y cloruro de prop-2-enoilo (214 mg, 2,36 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregó H₂O (20 mL), y la mezcla se extrajo con DCM (20 mL x
15 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar (2S)-3-metil-2-{metil[4-(prop-2-enoil)-1-propil-1 4,9-triazaespiro[5.5]undecan-9-il]carbonilamino}butanoato de metilo (460 mg, 83 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₂₂H₃₈N₄O₄ 422,3; encontrado
20 423,3.

Paso 6. A una mezcla de (2S)-3-metil-2-{metil[4-(prop-2-enoil)-1-propil-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecan-9-il]carbonilamino}butanoato de metilo (100 mg, 0,24 mmol) en THF (1 ml) se añadió una mezcla de LiOH (11,3 mg, 0,47 mmol) en H₂O (1,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, después se liofilizó para proporcionar ácido (2S)-3-metil-2-
25 {metil[4-(prop-2-enoil)-1-propil-1,4,9-triazaspiro[5,5]undecan-9-il]carbonilamino}butanoico, sal de litio (96 mg) como un sólido, que se usó directamente en la siguiente etapa. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₂₁H₃₆N₄O₄ 408,3; encontrado 409,3.

30 **Intermedio 17. Síntesis de éster metílico de N-((S)-3-acrilolil-4-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)-N-metil-L-valina**



Paso 1. A una solución de nitroetano (1 l) se le añadió formiato de (4-oxopiperidin-1-il) de terc-butilo (200 g, 1 mol, 1 eq) y TBD (13,9 g, 0,1 mol, 0,1 eq) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 16 h. La mezcla resultante se concentró a presión reducida y el residuo restante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar 4-hidroxi-4-(1-nitroetil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (135 g, rendimiento 49 %) como un sólido blanco. ESI-MS $m/z = 299,2 [M+H]^+$, MW calculado: 274,15.

Paso 2. A una solución de 4-hidroxi-4-(1-nitroetil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (135 g, 0,49 mol, 1 equiv.) y $HCOONH_4$ (269 g, 4,3 mol, 8,7 equiv.) en MeOH (1350 ml) se añadió Pd/C (13,6 g, 0,13 mol, 0,26 equiv.) y AcOH (0,29 g, 4,9 mmol, 0,01 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 16 h, después de lo cual la mezcla se ajustó a un valor de pH de 8 con TEA (4,96 g, 0,1 equivalentes) y se filtró. La torta de filtración se lavó con DCM/MeOH (200 ml, 5/1). El filtrado se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice alcalina para proporcionar 4-(1-aminoetil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de terc-butilo (135 g, rendimiento del 89 %) como un sólido blanco. ESI-MS $m/z = 189,3 [M+H-tBu]^+$, MW calculado: 244,34.

Paso 3. A una solución de formiato de [4-(1-aminoetil)-4-hidroxipiperidin-1-il] de terc-butilo (40 g, 0,16 mol, 1 eq) en ACN (800 ml) se le añadió $MgSO_4$ (39,1 g, 0,33 mol, 2 eq), Cs_2CO_3 (79,7 g, 0,25 mol, 1,5 eq) y $(HCHO)_n$ (19,6 g, 0,65 mol, 4 eq). La mezcla se agitó a 50 °C durante 2 h bajo N_2 . La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar formiato de {4-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il} de terc-butilo (40 g, rendimiento del 97 %) como un aceite incoloro. ESI-MS $m/z = 257,3 [M+H]^+$, MW calculado: 256,35.

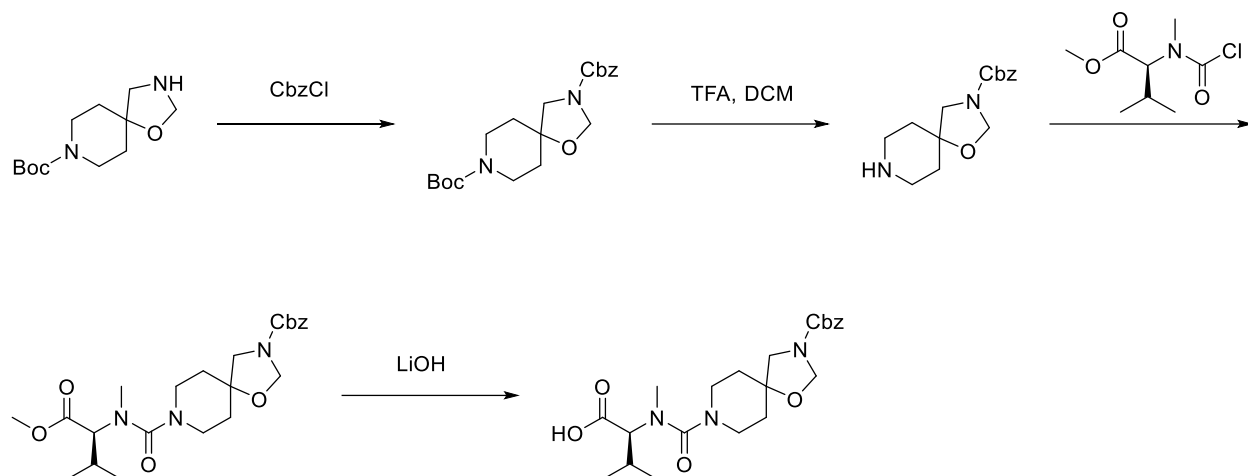
Paso 4. A una mezcla de formiato de {4-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il} de terc-butilo (40 g, 155,4 mmol, 1 eq) y $NaHCO_3$ (52,2 g, 621,6 mmol, 3 eq) en DCM (500 ml) y H_2O (500 ml) se añadieron cloruro de prop-2-enoilo (15,5 g, 170,9 mmol, 1 eq) gota a gota a 0 °C y se agitó a 0 °C durante 1 h. El resultado se filtró y el filtrado se extrajo con DCM (200 ml x 2). La fase orgánica se lavó con salmuera (100 mL) y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna para dar formiato [4-metil-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-

diazaspiro[4.5]decan-8-il] de terc-butilo (33 g, rendimiento del 68 %) como un aceite incoloro. ESI-MS $m/z = 311,1$ $[M+H]^+$, MW calculado: 310,39.

Paso 5. Una mezcla de formiato de [4-metil-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il] de terc-butilo (200 g, 0,64 mol, 1 equivalente) en TFA/DCM (700 ml, 1/3, 2 l) se agitó durante 1 h a 0 °C. La mezcla se concentró a presión reducida a 0~10 °C para dar 1-(4-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-3-il)prop-2-en-1-ona bruta (350 g de sal TFA, pureza 36 %). ESI-MS $m/z = 211,2$ $[M+H]^+$, MW calculado: 210,28.

Paso 6. A una solución de (2S)-3-metil-2-(metilamino)butanoato de metilo (63 g, 0,345 mol, 1 eq) y DIEA (360 g, 2,8 mol, 8 eq) en DCM (600 ml) se le añadió BTC (36,5 g, 0,14 mol, 0,4 eq) en porciones a 0 °C, y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Luego se enfrió la mezcla de reacción a -40 °C y se añadió una solución de 1-{4-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-3-il}prop-2-en-1-ona (sal de TFA 36 %, 175 g, 0,32 mol, 0,92 eq) en 300 ml de DCM gota a gota. Luego se dejó calentar la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente. Luego se concentró la mezcla de reacción a presión reducida y el residuo restante se diluyó con EA (0,5 l). La mezcla se lavó con salmuera (200 ml X 2), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida para dar un residuo bruto. El residuo se purificó por cromatografía para proporcionar N-(3-acriloil-4-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)-N-metil-L-valinato de metilo como una mezcla racémica (168 g, 64 % de rendimiento). Se separó una porción del producto racémico (85 g) usando SFC quiral para producir éster metílico de N-((S)-3-acriloil-4-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)-N-metil-L-valina ESI-MS $m/z = 382,2$ $[M+H]^+$, MW calculado: 381,2. 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 6,72 – 6,24 (m, 2H), 5,85 – 5,70 (m, 1H), 5,22 – 4,99 (m, 2H), 4,01 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 3,88 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,51 – 3,40 (m, 2H), 3,25 – 3,06 (m, 2H), 2,96 (s, 3H), 2,26 – 2,15 (m, 1H), 1,82 – 1,63 (m, 4H), 1,19 (dd, $J = 6,5, 2,3$ Hz, 3H), 0,95 (dd, $J = 12,3, 6,6$ Hz, 6H).

Intermedio 18. Síntesis de (2S)-2-[(3-{3-[(formiloxi)metil]fenil}-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il)carbonil(metil)amino]-3-metilbutanoato de metilo



Paso 1. A una solución de formiato {1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il} de terc-butilo (2 g, 8,2 mmol, 1 eq) y NaHCO_3 (2,1 g, 25 mmol, 3 eq) en $\text{DCM}/\text{H}_2\text{O} = 1/1$ (20 ml) se añadió CbzCl (1,7 g, 9,8 mmol, 1,2 eq). La mezcla se agitó a 0 °C durante 20 min. La mezcla de reacción se trató con H_2O (20 ml), se extrajo con DCM (30 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (20 ml) y salmuera (20 ml) y luego se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto. El producto bruto se purificó por cromatografía para proporcionar formiato de (3-{3-[(formiloxi)metil]fenil}-1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decan-8-ilo) de terc-butilo (2 g, 61 % de rendimiento) como un aceite incoloro. ESI-MS m/z : 399,3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; MW calculado: 376,2

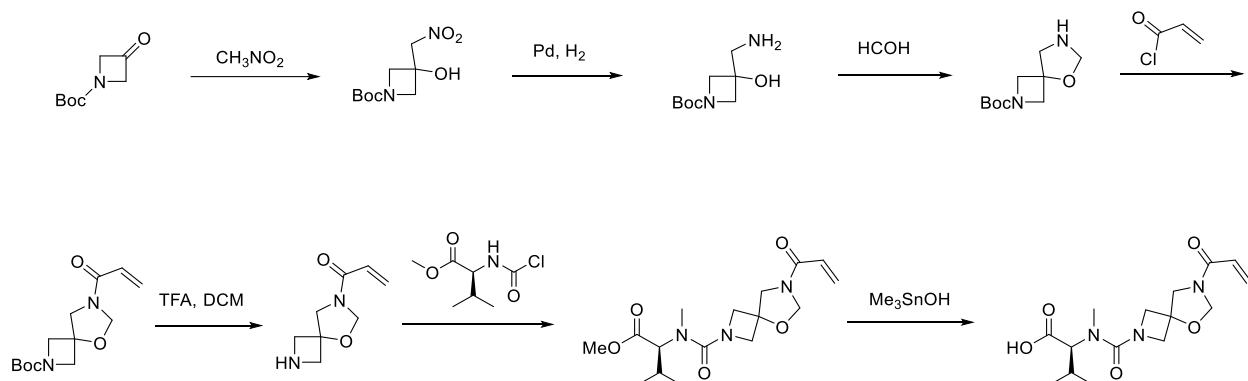
Paso 2. A una solución de formiato de (3-{3-[(formiloxi)metil]fenil}-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-ilo) de terc-butilo (2 g, 5,3 mmol, 1 eq.) en DCM (12 ml) se añadió TFA (6 g, 53 mmol, 10 eq) a 20 °C. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 40 min. Luego se concentró la mezcla de reacción para dar un aceite amarillo. El aceite amarillo se disolvió en DCM (30 ml) y se ajustó con NaHCO_3 acuoso saturado a $\text{pH}=8\text{--}9$. La mezcla resultante se extrajo con DCM (30 ml x 3) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (20 ml) y salmuera (20 ml). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida para producir formiato de (3-{1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-3-il}fenil)metilo (1,5 g, rendimiento del 98 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z : 277,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; MW calculado: 276,2

Paso 3. A una solución de (2S)-2-[(clorocarbonil)(metil)amino]-3-metilbutanoato de metilo (1,1 g, 5,1 mmol, 1 eq) y TEA (1,6 g, 15 mmol, 3 eq) en DCM (20 mL) se añadió formiato de (3-{1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-3-il}fenil)metilo (1,4 g, 5,1 mmol, 1 eq). La mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 h. La mezcla se trató con H_2O (20 ml), se extrajo con DCM (30 ml x 3) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (20 ml) y salmuera (20 ml). La capa orgánica se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida para dar el producto bruto. El producto bruto

se purificó mediante cromatografía para proporcionar (2S)-2-[(3-{3-[(formiloxi)metil]fenil}-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il) carbonil(metil)amino]-3-metilbutanoato de metilo (1,7 g, rendimiento del 70 %) como un aceite amarillo. ESI-MS m/z: 448,3 [M+H]⁺; MW calculado: 447,2

Paso 4. A una solución de (2S)-2-[(3-{3-[(formiloxi)metil]fenil}-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il) carbonil(metil)amino]-3-metilbutanoato de metilo (400 mg, 0,89 mmol, 1 eq) en THF (1 ml) se añadió una solución de LiOH (64 mg, 2,7 mmol, 3 eq) en H₂O (1,5 ml). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h. La solución resultante se ajustó a pH = 6 con HCl 1 N y se extrajo con DCM (30 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (20 ml) y salmuera (20 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar ácido (2S)-2-[(3-{3-[(formiloxi)metil]fenil}-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il) carbonil(metil)amino]-3-metilbutanoico (380 mg, rendimiento 88 %) como un aceite amarillo. ESI-MS m/z: 434,3 [M+H]⁺; MW calculado: 433,2

Intermedio 19. Síntesis del ácido (2S)-3-metil-2-{metil[7-(prop-2-enil)-5-oxa-2,7-diazaspiro[3.4]octan-2-il]carbonilamino}butanoico



Paso 1. A una solución de 3-oxoazetidina-1-carboxilato de terc-butilo (10 g, 0,058 mol, 1 eq) en EtOH (30 ml) se le añadió CH₂NO₂ (12 ml) y trietilamina (0,59 g, 0,0058 mol, 0,1 eq). La mezcla resultante se agitó durante 16 h a 20 °C. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 3-hidroxi-3-(nitrometil)azetidina-1-carboxilato de terc-butilo (13,5 g, rendimiento del 95 %) como un sólido amarillo. ESI-MS m/z = 255,1 [M+Na]⁺; MW calculado: 232,11

Paso 2. A una solución de 3-hidroxi-3-(nitrometil)azetidina-1-carboxilato de terc-butilo (13,5 g, 0,058 mol, 1,0 equiv.) en MeOH (100 ml) se le añadió Pd/C (1 g). Después la mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 16 horas en hidrógeno (15 psi). La mezcla resultante se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar 3-(aminometil)-3-hidroxi-azetidina-1-carboxilato de terc-butilo (12 g, rendimiento del 97 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z = 103,2 [M-Boc+H]⁺; MW calculado: 202,13

Paso 3. A una solución de 3-(aminometil)-3-hidroxi-azetidina-1-carboxilato de terc-butilo (1,5

g, 7,4 mmol, 1,0 eq) en MeOH (3 ml) y NaOH (15 ml, 2 mol/l acuoso) se le añadió HCHO (3 ml) (37 % en peso en H₂O) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 h a 20 °C. La solución resultante se extrajo con DCM (3*10 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida para proporcionar 5-oxa-2,7-diazaespiro[3.4]octano-2-carboxilato de terc-butilo (1 g, bruto) como un sólido amarillo. El producto bruto se usó directamente en la siguiente etapa. ESI-MS m/z = 215,1 [M+H]⁺, MW calculado: 214,13

Paso 3. Se añadió cloruro de prop-2-enoilo (633 mg, 7,0 mmol, 1,5 equiv.) a la solución de (5-oxa-2,7-diazaspiro[3,4]octano-2-carboxilato de terc-butilo (1,0 g, 4,7 mmol, 1,0 equiv) y NaHCO₃ (1,2 g, 14 mmol, 3,0 equiv) en DCM (5 ml) y H₂O (5 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 1 h. Luego la mezcla se diluyó con DCM (20 ml) y se lavó con agua (20 ml) y salmuera (20 ml). Se recogió la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna, proporcionando 7-(prop-2-enoil)-5-oxa-2,7-diazaespiro[3.4]octano-2-carboxilato de terc-butilo (660 mg, 50 % de rendimiento) como un sólido blanco. ESI-MS m/z = 269,1 [M+H]⁺, MW calculado: 268,14

Paso 4. A una solución de 7-(prop-2-enoil)-5-oxa-2,7-diazaspiro[3.4]octano-2-carboxilato de terc-butilo (660 mg, 2,46 mmol, 1,0 equiv.) en DCM (6 ml) se añadió TFA (2 ml) a 20 °C. La solución resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar 1-{5-oxa-2,7-diazaspiro[3.4]octan-7-il}prop-2-en-1-ona (510 mg, bruto) como un sólido amarillo. Este producto en bruto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ESI-MS m/z = 169,2 [M+H]⁺; MW calculado: 168,09.

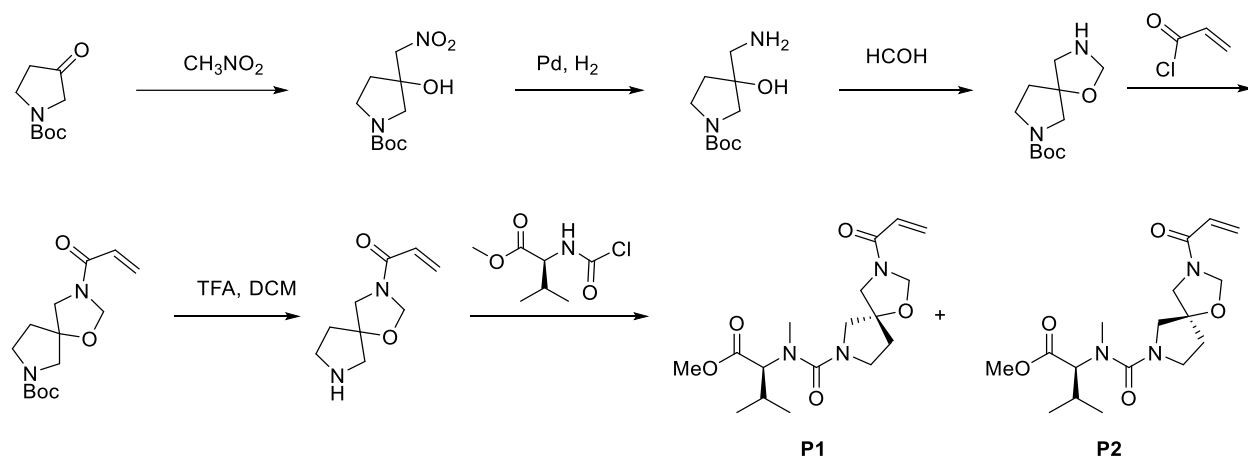
Paso 5. A una solución de (2S)-3-metil-2-(metilamino)butanoato de metilo (357 mg, 2,5 mmol, 1,0 equiv.) en DCM (5 ml) se le añadió trietilamina (1492 mg, 14,7 mmol, 6 equiv.) y trifosgeno (365 mg, 1,23 mmol, 0,5 equiv.) a 0 °C. La solución resultante se agitó a 0 °C durante 1 h. La mezcla se usó directamente en el siguiente paso.

Paso 6. A una solución de (2S)-2-[(clorocarbonil)(metil)amino]-3-metilbutanoato de metilo (509 mg, 2,46 mmol, 1 equiv.) y trietilamina (1492 mg, 14,7 mmol, 6 equiv.) en DCM (15 ml) se añadió 1-{5-oxa-2,7-diazaspiro[3.4]octan-7-il}prop-2-en-1-ona (413 mg, 2,46 mmol, 1 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 h. Luego la mezcla se diluyó con DCM (20 ml) y se lavó con H₂O (30*2 mL). Las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía para proporcionar (2S)-3-metil-2-{metil[7-(prop-2-enoil)-5-oxa-2,7-diazaspiro[3.4]octan-2-il]carbonilamino}butanoato de metilo (605 mg, rendimiento del 69 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z = 340,2 [M+H]⁺, MW calculado: 339,18

Paso 7. A una solución de (2S)-3-metil-2-{metil[7-(prop-2-enoil)-5-oxa-2,7-diazaspiro[3.4]octan-2-il]carbonilamino}butanoato de metilo (300 mg, 0,88 mmol, 1,0 equiv.) en DCE (10 ml) se añadieron hidróxido de trimetilestano (1,9 g, 10,6 mmol, 12 eq.). La mezcla de reacción

se agitó a 85 °C durante 16 h. Luego la mezcla de reacción se diluyó con DCM (10 ml). La mezcla resultante se lavó con HCl 1 N (10 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía para proporcionar ácido (2S)-3-metil-2-{metil[7-(prop-2-enoil)-5-oxa-2,7-diazaspiro[3.4]octan-2-il]carbonilamino}butanoico (200 mg, rendimiento del 66 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z = 326,1 [M+H]⁺, MW calculado: 325,16

Intermedio P1 y P2. Síntesis de (2S)-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoato (P1 + P2)



Paso 1. A una solución de 3-oxopirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo (10 g, 0,058 mol, 1 eq) en EtOH (30 ml) se le añadió CH₂NO₂ (12 ml) y trietilamina (0,59 g, 5,8 mol, 0,1 eq). La mezcla resultante se agitó durante 16 h a 20 °C. Después de lo cual la mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 3-hidroxi-3-(nitrometil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo (13,3g, rendimiento del 80 %) como un sólido amarillo. ESI-MS m/z = 269,1 [M+Na]⁺; MW calculado: 246,12

Paso 2. A una solución de 3-hidroxi-3-(nitrometil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo (9,7 g, 0,039 mol, 1,0 equiv.) en EtOH (100 ml) y THF (20 ml) se le añadió Raney Ni (2 g) y NH₃H₂O (3 ml, pureza: 28 ~30 %). La mezcla de reacción resultante se agitó a 20 °C durante 4 h en una atmósfera de hidrógeno (15 psi). La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar 3-(aminometil)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo (9,3 g, rendimiento del 87 %) como un aceite amarillo. ESI-MS m/z = 117,3 [M-Boc+H]⁺; MW calculado: 216,15

Paso 3. A una solución de 3-(aminometil)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo (9 g, 41,6 mmol, 1 eq) en MeOH (20 ml) y NaOH 3 N (100 ml) se le añadió HCHO (20 ml), 37 % en peso en H₂O). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h a 20 °C. Después de lo cual la solución resultante se extrajo con DCM (3*100 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar 1-oxa-3,7-

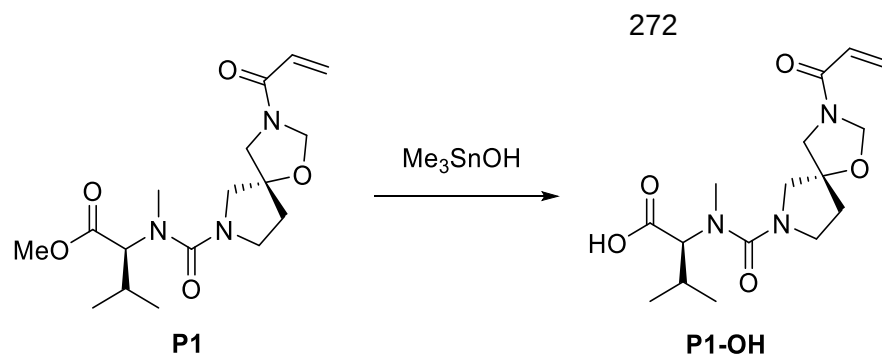
diazaspiro[4.4]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (6,1 g, bruto) como un aceite incoloro El producto bruto se usó directamente en la siguiente etapa. ESI-MS m/z = 129,3 $[M-Boc+H]^+$; MW calculado: 228,15

Paso 4. Se añadió cloruro de prop-2-enoilo (3,6 g, 40 mmol, 1,5 equiv.) a la solución de 1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (6,1 g, 26,7 mmol, 1,0 equiv) y $NaHCO_3$ (6,7 g, 80 mmol, 3 equiv) en DCM (60 ml) y H_2O (60 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó 0°C durante 1 h. Luego, la mezcla se diluyó con DCM (100 mL) y se lavó con agua (100 mL) y salmuera (100 mL). Se recogió la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía para proporcionar 3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (2,4 g, rendimiento del 30 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z = 305,1 $[M+Na]^+$; MW calculado: 282,16

Paso 5. A una solución de 3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (2,4 g, 8,5 mmol, 1,0 equiv.) en DCM (30 ml) se añadió TFA (10 ml) a 20 °C. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1 h. El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar 1-{1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-3-il}prop-2-en-1-ona (1,6 g, bruto) como un sólido amarillo. El producto en bruto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ESI-MS m/z = 183,1 $[M+H]^+$; MW calculado:182,22.

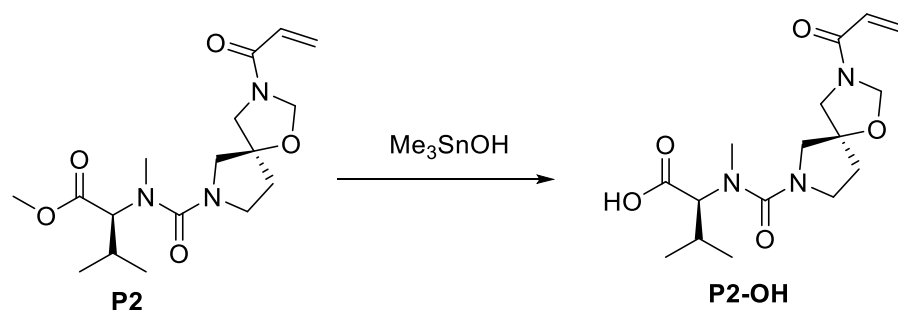
Paso 6. A una solución de (2S)-2-[(clorocarbonil)(metil)amino]-3-metilbutanoato de metilo (1,75 g, 8,5 mmol, 1,0 equiv.) y trietilamina (5131 mg, 51 mmol, 6,0 equiv.) en DCM (20 ml) se añadió 1-{1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-3-il}prop-2-en-1-ona (1540 mg, 8,5 mmol, 1,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 h. La mezcla se diluyó con DCM (100 ml) y se lavó con H_2O (100 * 2 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía para proporcionar (2S)-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoato de metilo (1,78 g, rendimiento del 56 %) como un sólido blanco. El producto deseado se separó mediante resolución quiral (columnas cromatográficas: chiralpak-AD Fase móvil: CO_2 -MeOH (0,1 % DEA)) para dar (2S)-3-metil-2-{metil[(5S)-3-(prop -2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoato de metilo (P1, 800 mg; P2, 780 mg). ESI-MS m/z = 354,2 $[M+H]^+$, MW calculado: 353,20

Intermedio P1-OH. Síntesis del ácido (2S)-3-metil-2-{metil[(5R)-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoico



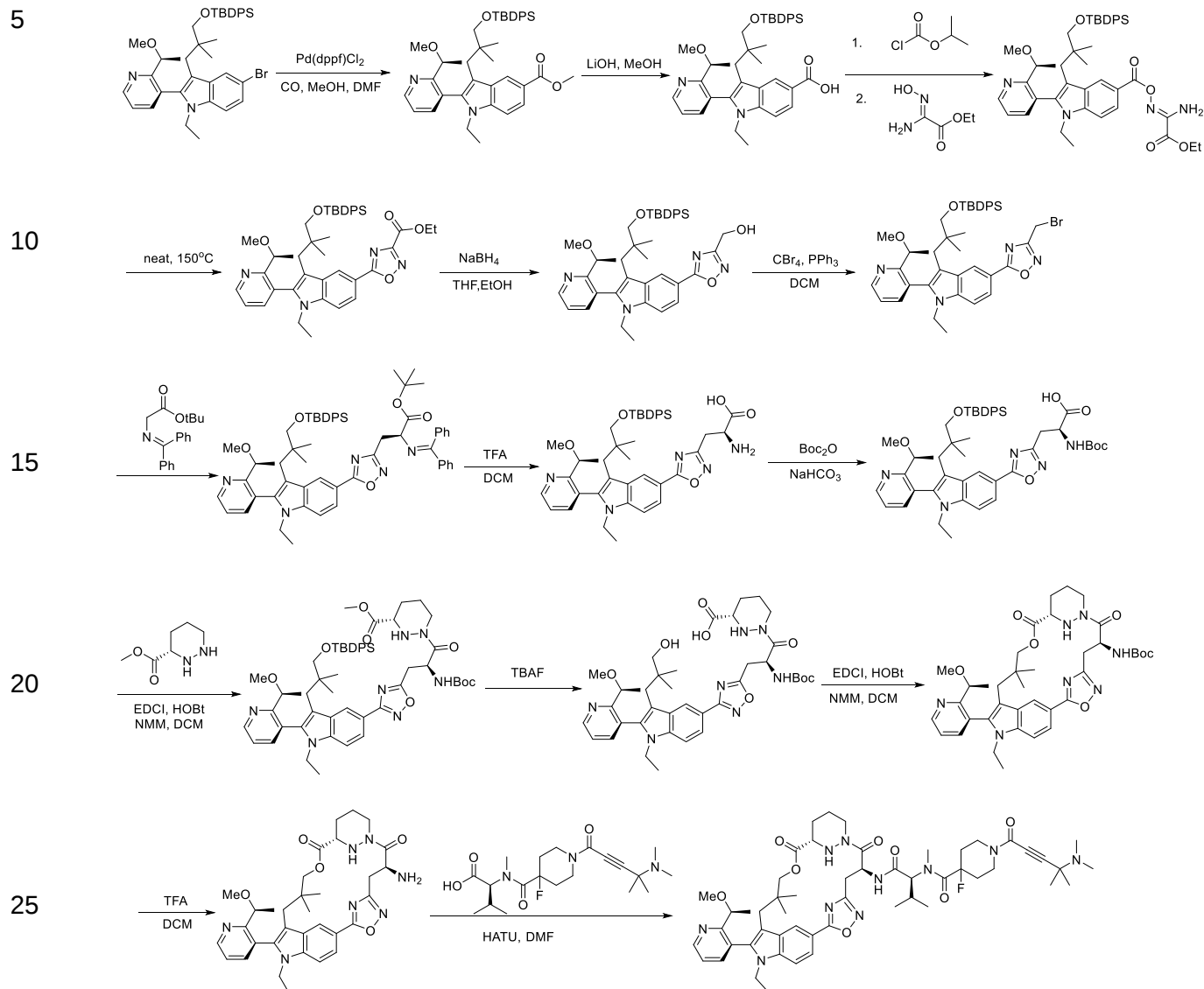
Paso 1. A una solución de (P1) (2S)-3-metil-2-{metil[(5S)-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoato de metilo (330 mg, 0,93 mmol, 1,0 equiv.) en DCE (10 ml) se añadieron hidróxido de trimetilestaño (2,5g, 14 mmol, 15 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 16 h. Después, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (10 ml) y la mezcla resultante se lavó con HCl 1 N (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía para proporcionar ácido (2S)-3-metil-2-{metil[(5R)-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoico (150 mg, rendimiento del 45 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z = 340,2 [M+H]⁺, MW calculado: 339,18

Intermedio P2-OH. Síntesis del ácido (2S)-3-metil-2-{metil[(5S)-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoico



Una mezcla de (P2) (2S)-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoato de metilo (165 mg, 0,47 mmol, 1,0 equiv.) y (Me)₃SnOH (1,7 g, 9,3 mmol, 20 equiv.) en DCE (2 ml) se agitó a 85 °C durante 24 h. La mezcla se diluyó con DCM (20 ml) y luego se lavó con HCl 1 N (20 ml), agua (15 ml) y salmuera (15 ml). Se recogió la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía para proporcionar ácido (2S)-3-metil-2-{metil[(5S)-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoico (100 mg, rendimiento del 60 %) como un sólido blanquecino. ESI-MS m/z: 340,2 [M+H]⁺. MW calculado: 339,18

Ejemplo 1. Síntesis de 1-(4-(dimetilamino)-4-metilpent-2-inoil)-N-((2S)-1-(((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(5,3)-oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-4-fluoro-N-metilpiperidina-4-carboxamida



Paso 1. Una mezcla de (2M)-5-bromo-3-[3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil] piridin-3-il]indol (10,0 g, 14,6 mmol), Pd(dppf)Cl₂.DCM (1,19 g, 1,46 mmol) y TEA (2,66 g, 26,3 mmol) en DMF (50 ml) y MeOH (1 ml) bajo una atmósfera de CO se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Se añadió H₂O (100 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar (2M)-3-[3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-carboxilato (8,0 g, 74 % rendimiento) como una espuma. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado

para $C_{41}H_{50}N_2O_4Si$ 662,4; encontrado 663,4.

Paso 2. A una mezcla de (2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-yl]indol-5-carboxilato (3,90 g, 5,9 mmol) en THF (10 mL) y MeOH (30 mL) a 0 °C se añadió gota a gota LiOH (0,70 g, 29,2 mmol) en H₂O (30 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h, luego se acidificó a pH ~7 con HCl acuoso y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido (2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-carboxílico (2,89 g) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para $C_{40}H_{48}N_2O_4Si$ 648,3; encontrado 649,3.

Paso 3. A una mezcla de ácido (2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-carboxílico (2,00 g, 3,1 mmol) y K₂CO₃ (0,85 g, 6,2 mmol) en DCM (20 ml) a 0 °C se añadió gota a gota clorofornio de isopropilo (0,76 g, 6,2 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 min, luego se añadió H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en DCM (20 ml) y se añadieron [(Z)-N-hidroxicarbamimidoil]formiato de etilo (0,81 g, 6,2 mmol) y K₂CO₃ (0,85 g, 6,2 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se añadió H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar [(Z)-N-[(Z)-(2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-carboniloxi]carbamimidoil]formiato de etilo (1,23 g, rendimiento del 45 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para $C_{44}H_{54}N_4O_6Si$ 762,4; encontrado 763,3.

Paso 4. [(Z)-N-[(Z)-(2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-carboniloxi]carbamimidoil] formiato de etilo (1,30 g, 1,7 mmol) se calentó a 150 °C y se agitó durante 4 h, luego se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 5-[(2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etilo (600 mg, 28 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para $C_{44}H_{52}N_4O_5Si$ 744,4; encontrado 745,3.

Paso 5. A una mezcla de 5-[(2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietilo]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etilo (1,1 g, 1,5 mmol) en EtOH (6 ml) y THF (6 ml) a 0 °C se añadió NaBH₄ (112 mg, 3,0 mmol) en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió NH₄Cl saturado y la mezcla se extrajo con EtOAc (30 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (20 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar [5-

[(2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-il] metanol (900 mg, rendimiento del 78 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₂H₅₀N₄O₄Si 702,4; encontrado 703,4.

Paso 6. A una mezcla de [5-[(2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-il]metanol (900 mg, 1,3 mmol) y Ph₃P (504 mg, 1,92 mmol) en DCM (9 ml) se añadió CBr₄ (637 mg, 1,92 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar (2M)-5-[3-(bromometil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol (700 mg, 36 % rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₂H₄₉BrN₄O₃Si 764,3; encontrado 765,2.

Paso 7. A una mezcla de (2M)-5-[3-(bromometil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol (1,0 g, 1,3 mmol) y 2-[(difenilmetiliden)amino]acetato de terc-butilo (579 mg, 2,0 mmol) en tolueno (4,2 ml) y DCM (1,8 ml) a 0 °C se añadió KOH (7,0 g, 124,8 mmol) en H₂O (2 ml) y cinconanio (158 mg, 0,26 mmol). La mezcla se calentó hasta ta y se agitó durante 3 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (5 mL), se secaron en Na₂SO₄ 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 3-[5-[(2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-2-[(difenilmetiliden)amino]propanoato de terc-butilo (350 mg, rendimiento del 25 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₆₁H₆₉N₅O₅Si 979,5; encontrado 980,4.

Paso 8. A una mezcla de 3-[5-[(2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-2-[(difenilmetiliden)amino]propanoato de terc-butilo (1,80 g, 1,8 mmol) en DCM (18 ml) a 0 °C se añadió gota a gota TFA (18 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, después se concentró a presión reducida para dar ácido 2-amino-3-[5-[(2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-il]propanoico (4 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₄H₅₃N₅O₅Si 759,4; encontrado 760,2.

Paso 9. A una mezcla de ácido 2-amino-3-[5-[(2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-il]propanoico (4,0 g, 5,3 mmol) y NaHCO₃ (2,65 g, 30 mmol) en THF (20 ml) y H₂O (20 ml) se añadió gota a gota Boc₂O (1,72 g, 7,9 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se agregó H₂O y

la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ 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 ácido 2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-[5-[(2M)-3-[3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-il]propanoico (1,2 g, rendimiento del 21 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₉H₆₁N₅O₇Si 859,4; encontrado 860,2.

Paso 10. A una mezcla de ácido 2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-[5-[(2M)-3-[3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-il]propanoico (1,00 g, 1,2 mmol), (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (0,34 g, 2,3 mmol), HOBT (0,08 g, 0,6 mmol) y DIPEA (1,50 g, 11,6 mmol) en DCM (10 ml) a 0 °C bajo atmósfera de N₂ se añadió EDCI (0,33 g, 1,7 mmol) en porciones. La mezcla se calentó hasta ta y se agitó durante 2 h, luego se agregó H₂O (50 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ 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 (3S)-1-[(2S)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-[5-(3-[3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (800 mg, 63 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₅H₇₁N₇O₈Si 985,5; encontrado 986,6.

Paso 11. A una mezcla de (3S)-1-[(2S)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-[5-(3-[3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (800 mg, 0,8 mmol) en THF (5 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió gota a gota TBAF 1 M en THF (5 ml). La mezcla se calentó a 60 °C y se agitó durante la noche, luego se añadió H₂O (100 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido (3S)-1-[(2S)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-[5-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-il]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico (680 mg) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₈H₅₁N₇O₈ 733,3; encontrado 734,3.

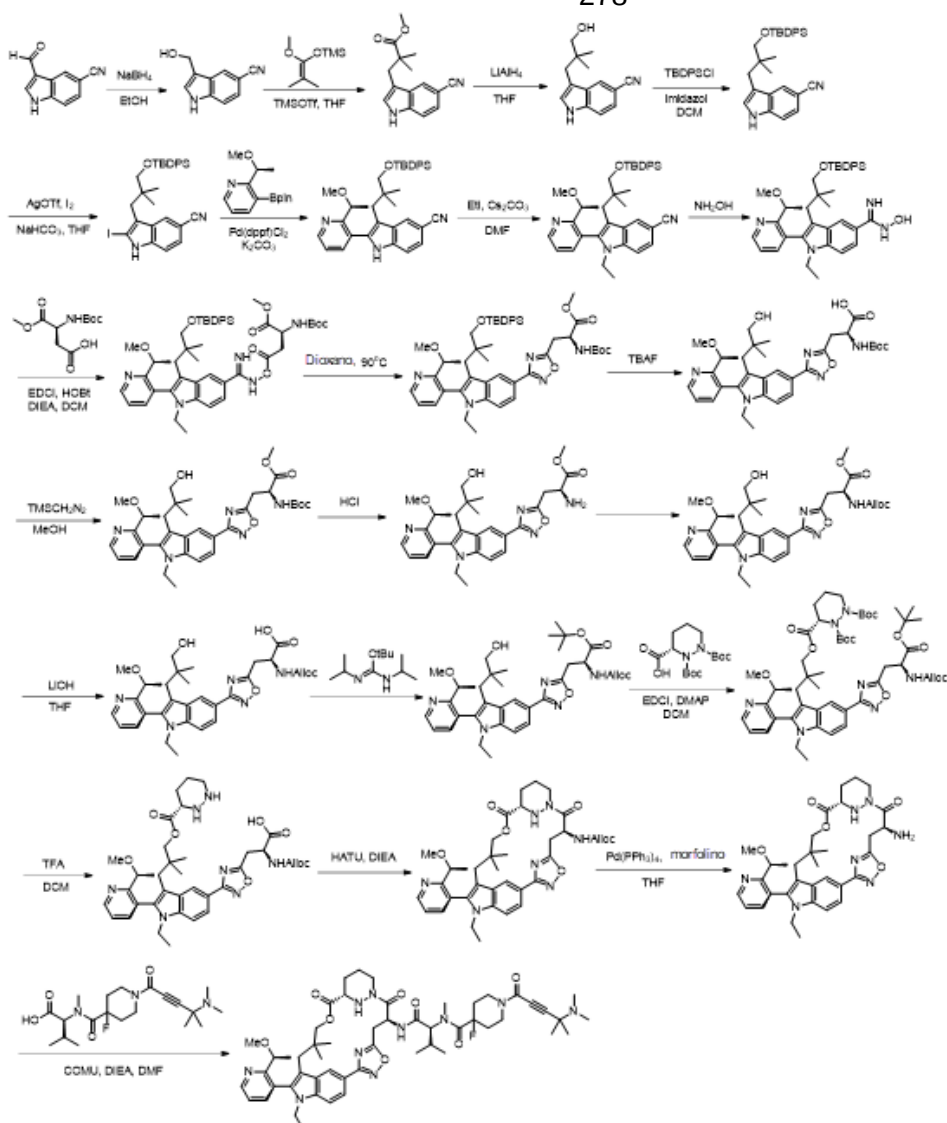
Paso 12. A una mezcla de ácido (3S)-1-[(2S)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-[5-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-3-il]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico (500 mg, 0,68 mmol), HOBT (460 mg, 3,4 mmol) y DIPEA (2,64 g, 20,4 mmol) en DCM (100 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió EDCI (2,61 g, 13,6 mmol) en porciones. La mezcla se calentó a ta y se agitó durante la noche, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante TLC preparativa para dar ((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(5,3)-

oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (22 mg, 18 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{38}H_{49}N_7O_7$ 715,4; encontrado 716,2.

Paso 13. A una mezcla de ((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(5,3)-oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (20 mg, 0,03 mmol) en DCM (0,30 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió gota a gota TFA (0,1 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h, luego se concentró a presión reducida para dar (6³S,4S,Z)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(5,3)-oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-5,7-diona (30 mg) como un aceite. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{33}H_{41}N_7O_5$ 615,3; encontrado 616,4.

Paso 14. A una mezcla de ácido (6³S,4S,Z)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(5,3)-oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-5,7-diona (20 mg, 0,03 mmol), DIPEA (42 mg, 0,33 mmol) y ácido (2S)-2-(1-[1-[4-(dimetilamino)-4-metilpent-2-inoil]-4-fluoropiperidin-4-il]-N-metilformamido)-3-metilbutanoico (19 mg, 0,05 mmol) en DMF (1 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió HATU (16 mg, 0,04 mmol) en porciones. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h, luego se purificó mediante HPLC preparativa para dar 1-(4-(dimetilamino)-4-metilpent-2-inoil)-N-((2S)-1-(((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(5,3)-oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-4-fluoro-N-metilpiperidin-4-carboxamida (2,4 mg, rendimiento del 7 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{53}H_{71}FN_{10}O_8$ 994,5; encontrado 995,4; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,78 (dd, *J* = 4,7, 1,7 Hz, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,95 - 7,68 (m, 3H), 7,55 (dd, *J* = 7,7, 4,7 Hz, 1H), 5,79 (s, 1H), 5,07 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 4,62 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 4,34 - 4,20 (m, 7H), 3,70 - 3,49 (m, 3H), 3,23 (s, 3H), 3,17 - 3,03 (m, 5H), 2,98 - 2,89 (m, 3H), 2,77 (t, *J* = 12,2 Hz, 1H), 2,46 - 2,41 (m, 1H), 2,20 (dd, *J* = 10,7, 6,6 Hz, 7H), 2,15 - 2,03 (m, 5H), 1,81 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 1,65 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H), 1,53 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 1,37 (t, *J* = 6,3 Hz, 9H), 1,03 - 0,86 (m, 10H), 0,88 - 0,80 (m, 2H), 0,80 - 0,74 (m, 3H).

Ejemplo 2. Síntesis de 1-(4-(dimetilamino)-4-metilpent-2-inoil)-N-((2S)-1-(((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(3,5,3)-oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-4-fluoro-N-metilpiperidina -4-carboxamida



Paso 1. A una mezcla de 3-formil-1H-indol-5-carbonitrilo (24,8 g, 145,7 mmol) en EtOH (248 ml) a 0 °C se le añadió NaBH₄ (8,05 g, 218,6 mmol) en porciones. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se añadió NH₄Cl saturado (500 ml) y los volátiles se eliminaron a presión reducida. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 200 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 200 mL) se secaron en Na₂SO₄ 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 3-(hidroximetil)-1H-indol-5-carbonitrilo (21 g, rendimiento del 84 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M-H]⁺ calculado para C₁₀H₈N₂O 172,1; encontrado 171,1.

Paso 2. A una mezcla de 3-(hidroximetil)-1H-indol-5-carbonitrilo (20,0 g, 116,2 mmol) en THF (200 ml) a -40 °C bajo una atmósfera de Ar se añadió [(1-metoxi-2- metilprop-1-en-1-il)oxi]trimetilsilano (50,62 g, 290,4 mmol) y TMSOTf (19,36 g, 87,1 mmol) gota a gota. La mezcla se

agitó a -40 °C durante 2 h, luego se añadió salmuera (200 ml) a 0 °C. Las capas acuosa y orgánica se repartieron y la capa orgánica se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-(5-ciano-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoato de metilo (22 g, rendimiento 74 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M-H]⁺ calculado para C₁₅H₁₆N₂O₂ 256,1; encontrado 255,1.

Paso 3. A una mezcla de 3-(5-ciano-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropanoato de metilo (22 g, 85,8 mmol) en THF (220 ml) a 0 °C se añadió LiAlH₄ 1 M en THF (171,7 ml, 171,7 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se añadió Na₂SO₄·10H₂O, la mezcla se filtró y la torta de filtración se lavó con DCM (3 x 300 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para dar 3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-carbonitrilo (12,8 g, rendimiento del 65 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M-H]⁺ calculado para C₁₄H₁₆N₂O 228,1; encontrado 255,1.

Paso 4. A una mezcla de 3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-1H-indol-5-carbonitrilo (15,0 g, 65,7 mmol) en DCM (150 ml) a 0 °C se añadió imidazol (11,18 g, 164,3 mmol) y TBDPSCI (23,48 g, 85,4 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1H-indol-5-carbonitrilo (30 g, rendimiento del 97 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M-H]⁺ calculado para C₃₀H₃₄N₂OSi 466,2; encontrado 465,2.

Paso 5. A una mezcla de 3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1H-indol-5-carbonitrilo (18,0 g, 38,6 mmol) en THF (180 ml) a 0 °C en una atmósfera de N₂ se le añadió NaHCO₃ (3,89 g, 46,3 mmol), AgOTf (10,9 g, 42,4 mmol) e I₂ (8,81 g, 34,7 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se añadió Na₂S₂O₃ acuoso al 5 % y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 200 mL), se secaron en Na₂SO₄ 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 3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-yodo-1H-indol-5-carbonitrilo (18,2 g, rendimiento del 80 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+Na]⁺ calculado para C₃₀H₃₃IN₂NaOSi 615,1; encontrado 615,0.

Paso 6. A una mezcla de 3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-yodo-1H-indol-5-carbonitrilo (18,2 g, 30,7 mmol) y 2-[(1S)-1-metoxietil]-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (32,33 g, 122,9 mmol) en 1,4-dioxano (150 ml) y A H₂O (30 ml) bajo una atmósfera de Ar se le añadió K₂CO₃ (10,60 g, 76,8 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (4,49 g, 6,1 mmol). La mezcla se calentó a 50 °C y se agitó durante 3 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1H-indol-5-carbonitrilo (20 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₈H₄₃N₃O₂Si 601,3; encontrado 602,3.

Paso 7. A una mezcla de 3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-[2-[(1S)-1-

metoxietil]piridin-3-il]-1H-indol-5-carbonitrilo (22,0 g, 36,6 mmol) en DMF (220 ml) a 0 °C, se añadió Cs₂CO₃ (35,73 g, 109,7 mmol) y Etl (34,21 g, 219,3 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (300 mL). La capa orgánica se lavó con H₂O (3 x 300 mL), se secó en Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-carbonitrilo (15,6 g, 63 % rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₀H₄₇N₃O₂Si 629,3; encontrado 630,0.

Paso 8. A una mezcla de 3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-carbonitrilo (15,60 g, 24,8 mmol) en MeOH (156 ml) se le añadió NH₂OH, 50 % en H₂O (9,81 g, 296,9 mmol). La mezcla se calentó a 50 °C y se agitó durante 3 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-N-hidroxi-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-carboximidamida (14,6 g, rendimiento del 89 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₀H₅₀N₄O₃Si 662,4; encontrado 663,2.

Paso 9. A una mezcla de 3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-N-hidroxi-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-carboximidamida (14,60 g, 22,0 mmol) en DCM (146 ml) a -5 °C se añadió DIPEA (14,23 g, 110,1 mmol), HOBt (0,60 g, 4,4 mmol), seguido de EDC.HCl (5,07 g, 26,4 mmol) en porciones durante 2 min. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 4-(3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il)metanimidamido 1-metil (2*S*)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]butanodioato (18,1 g, rendimiento del 92 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₀H₆₅N₅O₈Si 891,5; encontrado 892,3.

Paso 10. Una mezcla de 4-(3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il)metanimidamido 1-metilo (2*S*)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]butanodioato (18 g, 20,2 mmol) en 1,4-dioxano (900 ml) se calentó a 90 °C y se agitó durante 3 h. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-[3-(3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il]propanoato de metilo (16,5 g, rendimiento del 94 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₀H₆₃N₅O₇Si 873,4; encontrado 874,4.

Paso 11. A una mezcla de 2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-[3-(3-[3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil-2-[2-[(1*S*)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il]propanoato de metilo (18 g, 20,6 mmol) en THF (180 ml) se añadió gota a gota TBAF 1 M en THF (180 ml). La

mezcla se calentó a 60 °C y se agitó durante la noche, luego se añadió H₂O y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 300 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (6 x 300 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido 2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-{3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il}propanoico (14 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M-H]⁺ calculado para C₃₃H₄₃N₅O₇ 621,3; encontrado 620,3.

Paso 12. A una mezcla de ácido 2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-{3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il}propanoico (14 g, 22,5 mmol) en MeOH (140 ml) a 0 °C se añadió TMSCHN₂ (12,86 g, 112,6 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar (2R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-{3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il}propanoato de metilo (3,5 g, rendimiento del 25 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₄H₄₅N₅O₇ 635,3; encontrado 636,4.

Paso 13. A una mezcla de (2R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-{3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il}propanoato de metilo (2,0 g, 3,2 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml) se añadió HCl en 1,4-dioxano (20 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se concentró a presión reducida para dar (2R)-2-amino-3-{3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il}propanoato de metilo (1,5 g, 89 % rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₂₉H₃₇N₅O₅ 535,3; encontrado 536,4.

Paso 14. A una mezcla de (2R)-2-amino-3-{3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il}propanoato de metilo (3,0 g, 5,6 mmol) en THF (30 ml) y H₂O (6 ml) a 0 °C se añadió NaHCO₃ (1,18 g, 14,0 mmol) y clorocarbonato de alilo (1,01 g, 8,4 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-{3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il}-2-[[prop-2-en-1-iloxi]carbonil]amino}propanoato de metilo (1,5 g, rendimiento del 43 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₃H₄₁N₅O₇ 619,3; encontrado 620,4.

Paso 15. A una mezcla de 3-{3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il}-2-[[prop-2-en-1-iloxi]carbonil]amino}propanoato de metilo (1,5 g, 2,1 mmol) en THF (15 ml) a 0 °C se añadió LiOH (16 mg, 6,8 mmol) en H₂O (15 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se acidificó a pH ~4 con HCl acuoso y se extrajo con DCM (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a

presión reducida para dar ácido (2R)-3-[3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-[[prop-2-en-1-ilo]carbonil]amino]propanoico (1,46 g) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₂H₃₉N₅O₇ 605,3; encontrado 606,3.

5 **Paso 16.** A una mezcla de ácido (2R)-3-[3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-[[prop-2-en-1-ilo]carbonil]amino]propanoico (1,46 g, 2,4 mmol) en DCM (15 ml) a 0 °C se añadió (Z)-N,N'-diisopropilterc-butoximetanimidamida (2,41 g, 12,1 mmol). La mezcla se calentó a 40 °C y se agitó durante la noche, luego se añadió H₂O y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NH₄Cl acuoso (3 x 40 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar 3-[3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-[[prop-2-en-1-ilo]carbonil]amino]propanoato de terc-butilo (2,3 g) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₆H₄₇N₅O₇ 661,4; encontrado 662,4.

15 **Paso 17.** A una mezcla de 3-[3-[(2M)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridina-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-[[prop-2-en-1-ilo]carbonil]amino]propanoato de terc-butilo (2,30 g, 3,5 mmol) en DCM (23 ml) a -5 °C se añadió DMAP (85 mg, 0,7 mmol), ácido (3S)-1,2-bis(terc-butoxicarbonil)-1,2-diazinano-3-carboxílico (3,44 g, 10,4 mmol) y EDCI (0,87 g, 4,5 mmol) en porciones. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-(2-[[[(2M)-5-[5-[(2R)-3-(terc-butoxi)-3-oxo-2-[[prop-2-en-1-ilo]carbonil]amino]propil]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1-etil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-3-il]metil]-2-metilpropil)1,2-di-terc-butil (3S)-1,2-diazinano-1,2,3-tricarboxilato (2,29 g, rendimiento 68 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₁H₇₁N₇O₁₂ 973,5; encontrado 974,4.

25 **Paso 18.** A una mezcla de 3-(2-[[[(2M)-5-[5-[(2R)-3-(terc-butoxi)-3-oxo-2-[[prop-2-en-1-ilo]carbonil]amino]propil]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1-etil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-3-il]metil]-2-metilpropil)1,2-di-terc-butil (3S)-1,2-diazinano-1,2,3-tricarboxilato (2,29 g, 2,4 mmol) en DCM (30 ml) a 0 °C se añadió gota a gota TFA (10 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 5 h y luego se concentró a presión reducida. La mezcla se basificó a pH ~7 con NaHCO₃ saturado y se extrajo con DCM (3 x 300 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (3 x 60 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido 3-[3-[(2M)-3-[3-[(3S)-1,2-diazinano-3-carboniloxi]-2,2-dimetilpropil]-1-etil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-[[prop-2-en-1-ilo]carbonil]amino]propanoico (1,4 g, rendimiento del 83 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M-H]⁺ calculado para C₃₇H₄₇N₇O₈

717,4; encontrado 716,5.

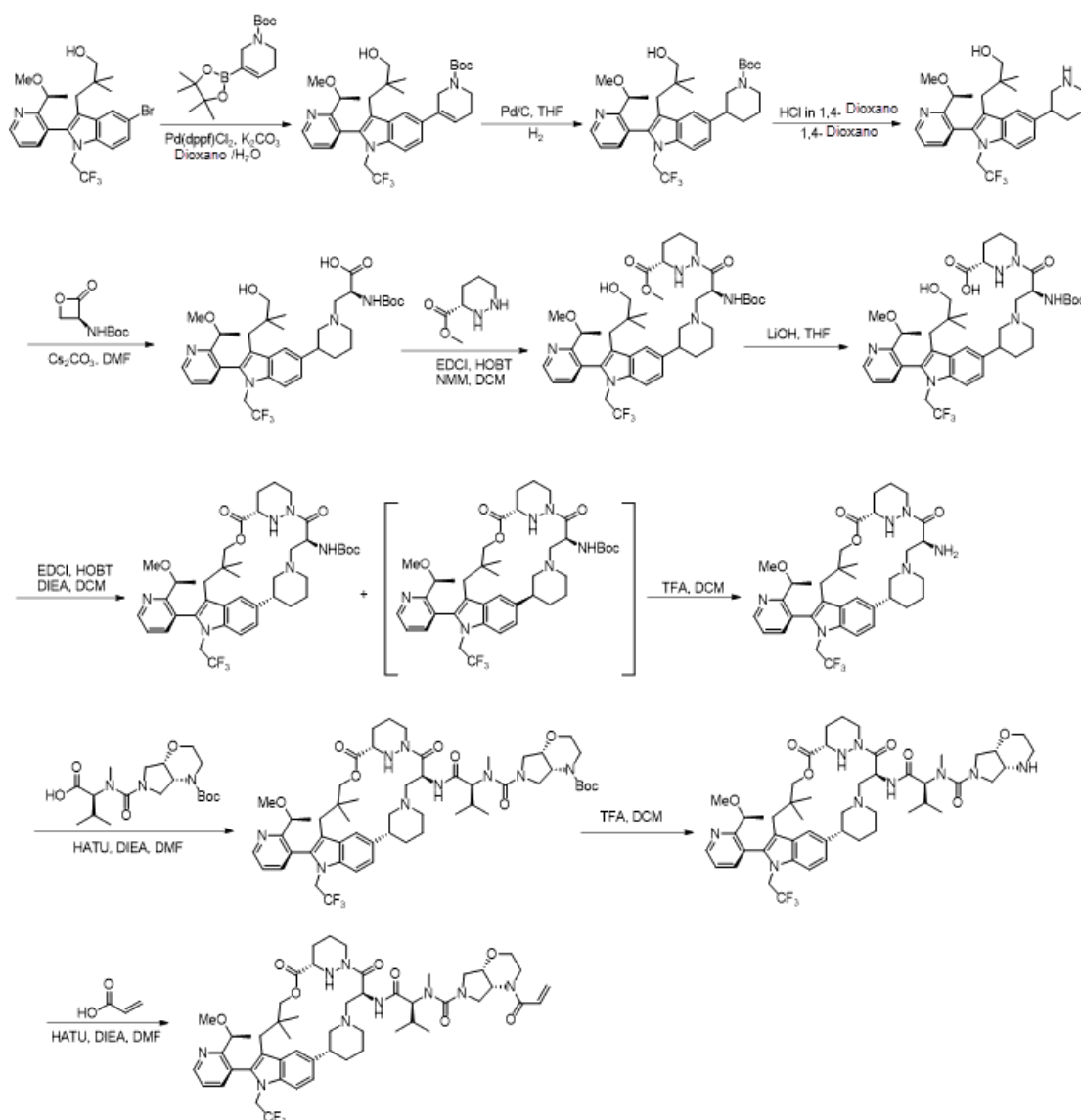
Paso 19. A una mezcla de ácido 3-{3-[(2M)-3-{3-[(3S)-1,2-diazinano-3-carboniloxi]-2,2-dimetilpropil}-1-etil-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}indol-5-il]-1,2,4-oxadiazol-5-il}-2-[(prop-2-en-1-iloxi)carbonil]amino}propanoico (720 mg, 1,0 mmol) en DCM (7,2 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (3,89 g, 30,1 mmol) y HATU (4,58 g, 12,0 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche, después se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar prop-2-en-1-il N-[(7S,13S,19M)-21-etil.-20-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-17,17-dimetil-8,14-dioxo-4,15-dioxa-3,9,21,27,28-pentaazapentaciclo[17.5.2.1[^][2,5].1[^][9,13].0[^][22,26]]octacosa-1(25),2,5(28),19,22(26),23-hexaen-7-il]carbamato (230 mg, rendimiento del 33 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M-H]⁺ calculado para C₃₇H₄₅N₇O₇ 699,3; encontrado 699,9.

Paso 20. A una mezcla de ((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(3,5)-oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-4-il)carbamato de alilo (135 mg, 0,19 mmol) en THF (1,35 ml) bajo una atmósfera de Ar se añadió morfolina (50 mg, 0,58 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (22,29 mg, 0,019 mmol). La mezcla se calentó a 35 °C y se agitó durante 4 h, luego se purificó directamente mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar (6³S,4S,Z)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(3,5)-oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-5,7-diona (120 mg) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₃H₄₁N₇O₅ 615,3; encontrado 616,4.

Paso 21. A una mezcla de (6³S,4S,Z)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(3,5)-oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-5,7-diona (100 mg, 0,16 mmol) en DMF (1 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (315 mg, 2,44 mmol), ácido (2S)-2-(1-[1-[4-(dimetilamino)-4-metilpent-2-inoil]-4-fluoropiperidin-4-il]-N-metilformamido)-3-metilbutanoico (129 mg, 0,32 mmol) y COMU (104 mg, 0,24 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C y se agitó durante 1 h, luego se purificó mediante HPLC preparativa 1-(4-(dimetilamino)-4-metilpent-2-inoil)-N-((2S)-1-(((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(3,5)-oxadiazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-4-fluoro-N-metilpiperidin-4-carboxamida (25 mg, rendimiento del 15 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M-H]⁺ calculado para C₅₃H₇₁FN₁₀O₈ 994,5; encontrado 995,8; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,78 (dd, *J* = 4,8, 1,8 Hz, 1H), 8,45 (d, *J* = 17,0 Hz, 2H), 7,86 - 7,75 (m, 2H), 7,71 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,54 (dd, *J* = 7,7, 4,7 Hz, 1H), 5,69 (s, 1H), 5,16 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 4,71 - 4,49 (m, 1H), 4,41 - 4,06 (m, 7H), 3,68 - 3,47 (m, 3H), 3,23 (s, 4H), 3,15 - 3,05 (m, 3H), 2,94 (d, *J* = 11,1 Hz, 2H), 2,79 - 2,61 (m, 1H), 2,45 - 2,37 (m, 1H), 2,26 - 1,95 (m, 12H), 1,85 - 1,63 (m, 2H), 1,57 - 1,42 (m, 1H), 1,39 - 1,24 (m, 9H), 1,03 - 0,71

(m, 12H), 0,34 (s, 3H).

Ejemplo 3. Síntesis de (4aR,7aS)-4-acrilil-N-((2S)-1-(((2³R,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5, 3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilhexahidropirrolo[3,4 -b][1,4]oxazina-6(2H)-carboxamida



Paso 1. A una mezcla de 3-[(2M)-5-bromo-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3 -il]-2,2-dimetilpropan-1-ol (10,0 g, 20,0 mmol) y 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5,6-dihidro-2H-piridin-1-carboxilato de terc-butilo (9,29 g, 30,0 mmol) en 1,4-dioxano (85 ml) y H₂O (17 ml) bajo una atmósfera de N₂ se añadió Pd(dppf)Cl₂ (0,73 g, 1,0 mmol) y K₂CO₃ (6,92 g, 50,1 mmol) en porciones. La mezcla se calentó a 80 °C y se agitó durante 3 h, luego la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con

salmuera (3 x 100 mL), se secaron en Na₂SO₄ 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 3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]-5,6-dihidro-2H-piridin-1-carboxilato de terc-butilo (9,0 g, 67 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₃H₄₂F₃N₃O₄ 601,3; encontrado 602,3.

Paso 2. Una mezcla de 3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]-5,6-dihidro-2H-piridin-1-carboxilato de terc-butilo (6,00 g, 10,0 mmol) y Pd/C (605 mg, 5,7 mmol) en THF (60 ml) se agitó bajo una atmósfera de H₂ durante la noche. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar 3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (5,8 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₃H₄₄F₃N₃O₄ 603,3; encontrado 604,3.

Paso 3. A una mezcla de 3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (5,70 g, 9,4 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió HCl en 1,4-dioxano (30 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se añadió NaHCO₃ acuoso y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar 3-[(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-5-(piperidin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetilpropan-1-ol (4,8 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₂₈H₃₆F₃N₃O₂ 503,3; encontrado 504,3.

Paso 4. A una mezcla de 3-[(2M)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-5-(piperidin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetilpropan-1-ol (4,6 g, 9,1 mmol) en DMF (46 ml) bajo una atmósfera de N₂ se añadió N-[(3S)-2-oxooxetan-3-il]carbamato de terc-butilo (3,46 g, 18,3 mmol) y Cs₂CO₃ (7,44 g, 22,8 mmol). La mezcla se calentó hasta 40 °C y se agitó durante 2 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 50 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar ácido (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]piperidin-1-ilo]propanoico (2,7 g, rendimiento del 39 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₆H₄₉F₃N₄O₆ 690,4; encontrado 691,1.

Paso 5. A una mezcla de (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (835 mg, 5,79 mmol) en DCM (20 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se le añadió NMM (2,93 g, 29,0 mmol), ácido (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]piperidin-1-il]propanoico (2,00 g, 2,9 mmol), EDCI (833 mg, 4,3 mmol) y HOBT (196 mg, 1,5 mmol) en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante

h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron en Na₂SO₄ 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 (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]piperidin-1-il]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato (2,0 g, rendimiento del 72 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₂H₅₉F₃N₆O₇ 816,4; encontrado 817,5.

Paso 6. A una mezcla de (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]piperidin-1-il]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo, (2,0 g, 2,5 mmol) en THF (20 mL) se añadió LiOH 1 M (12,24 mL, 12,24 mmol) bajo una atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente, luego se acidificó a pH ~6 con HCl 1 M y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonilo) amino]-3-[3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]piperidin-1-il]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico (1,8 g) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₁H₅₇F₃N₆O₇ 802,4; encontrado 803,5.

Paso 7. A una mezcla de ácido (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]piperidin-1-il]propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico (1,80 g, 2,2 mmol) en DCM (360 mL) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió DIPEA (8,69 g, 67,3 mmol), HOBt (1,51 g, 11,2 mmol) y EDCI (8,60 g, 44,8 mmol) en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante h, se añadió H₂O y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante TLC preparativa para dar dos diastereómeros de ((6³S, 4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (160 mg, 9 % de rendimiento) y (140 mg, 8 % de rendimiento), ambos en forma sólida. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₁H₅₅F₃N₆O₆ 784,4; encontrado 785,7.

Paso 8. A una mezcla de ((6³S, 4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (170 mg, 0,21 mmol) en DCM (2 mL) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió TFA (0,6 mL). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se acidificó a pH ~8 con NaHCO₃ acuoso saturado y se extrajo con DCM (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro,

se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (2³R,6³S,4S)-4-amino-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-5,7-diona (160 mg) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₆H₄₇F₃N₆O₄ 684,4; encontrado 685,4.

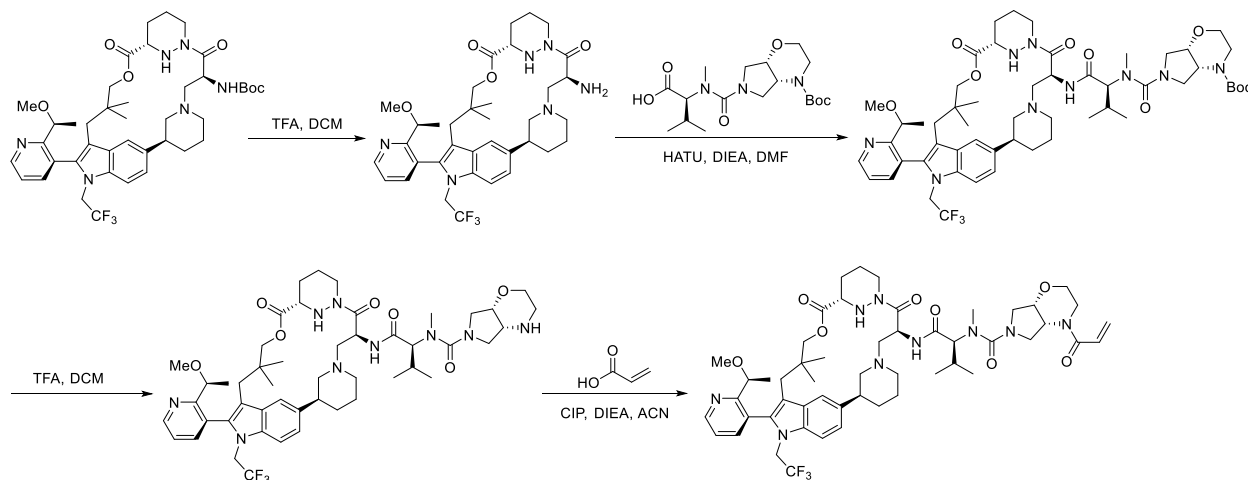
5 **Paso 9.** A una mezcla de (2³R,6³S,4S)-4-amino-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-5,7-diona (150 mg, 0,22 mmol) en DMF (2 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió DIPEA (283 mg, 2,2 mmol), ácido (2S)-2-[(4aR,7aS)-4-(terc-butoxicarbonil)-hexahidropirrol[3,4-b][1,4]oxazina-6-carbonil(metil)amino]-3-metilbutanoico (127
10 mg, 0,33 mmol) y HATU (100 mg, 0,26 mmol) en porciones. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante TLC preparativa para dar (4aR,7aS)-6-(((2S)-1-(((2³R,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-
15 il)(metil)carbamoil)hexahidropirrol[3,4-b][1,4]oxazina-4(4aH)-carboxilato de terc-butilo (150 mg, 52 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₄H₇₆F₃N₉O₉ 1051,6; encontrado 1052,5.

20 **Paso 10.** A una mezcla de 4aR,7aS)-6-(((2S)-1-(((2³R,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)hexahidropirrol[3,4-b][1,4]oxazina-4(4aH)-carboxilato de terc-butilo (150 mg, 0,14 mmol) en DCM (2 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió TFA (0,70 ml). La mezcla se
25 calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, luego se acidificó a pH ~8 con NaHCO₃ saturado y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (4aR,7aS)-N-((2S)-1-(((2³R,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-
30 metilhexahidropirrol[3,4-b][1,4]oxazina-6(2H)-carboxamida (130 mg) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₉H₆₈F₃N₉O₇ 951,5; encontrado 952,6.

Paso 11. A una mezcla de (4aR,7aS)-N-((2S)-1-(((2³R,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-
35

metilhexahidropirrollo[3,4-b][1,4]oxazina-6(2H)-carboxamida (120 mg, 0,13 mmol) en DMF (2 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió DIPEA (163 mg, 1,26 mmol), ácido acrílico (13,6 mg, 0,19 mmol) y HATU (57,5 mg, 0,15 mmol) en porciones. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, luego se añadió H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar (4aR,7aS)-4-acriloil-N-((2S)-1-(((2³R,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilhexahidropirrollo[3,4-b][1,4]oxazina-6(2H)-carboxamida (16 mg, 12 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₂H₇₀F₃N₉O₈ 1005,5; encontrado 1006,9; ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,83 (dd, *J* = 4,7, 1,7 Hz, 1H), 7,84 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,71 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,60 (dd, *J* = 7,8, 4,7 Hz, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,24 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,94 - 6,79 (m, 1H), 6,25 (d, *J* = 16,7 Hz, 1H), 5,87 - 5,77 (m, 2H), 5,77 (s, 1H), 5,59 - 5,42 (m, 1H), 5,34 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,83 (s, 2H), 4,31 (d, *J* = 12,9 Hz, 1H), 4,22 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,10 - 4,01 (m, 2H), 3,93 (d, *J* = 11,3 Hz, 5H), 3,82 - 3,62 (m, 4H), 3,67 - 3,56 (m, 4H), 3,59 - 3,44 (m, 5H), 3,44 - 3,31 (m, 1H), 3,23 (d, *J* = 5,7 Hz, 4H), 3,09 (s, 1H), 2,88 - 2,69 (m, 7H), 2,73 - 2,59 (m, 3H), 2,35 (m, 2 H), 2,29 (s, 1H), 2,12 (s, 4H), 2,06 (s, 1H), 1,84 (s, 1H), 1,74 - 1,56 (m, 4H), 1,45 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H), 1,35 - 1,04 (m, 1H), 1,05 - 0,91 (m, 2H), 0,92 - 0,63 (m, 8H), 0,43 (s, 3H).

Ejemplo 4. Síntesis de (4aR,7aS)-4-acriloil-N-((2S)-1-(((2³S,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilhexahidropirrollo[3,4-b][1,4]oxazina-6(2H)-carboxamida



Paso 1. A una mezcla de ((2³S,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-

dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (200 mg, 0,26 mmol) en DCM (2 ml) a 0 °C se añadió TFA (0,7 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se acidificó a pH ~8 con NaHCO₃ saturado y se extrajo con DCM (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (2³S,6³S,4S)-4-amino-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-5,7-diona (200mg) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₆H₄₇F₃N₆O₄ 684,4; encontrado 985,4.

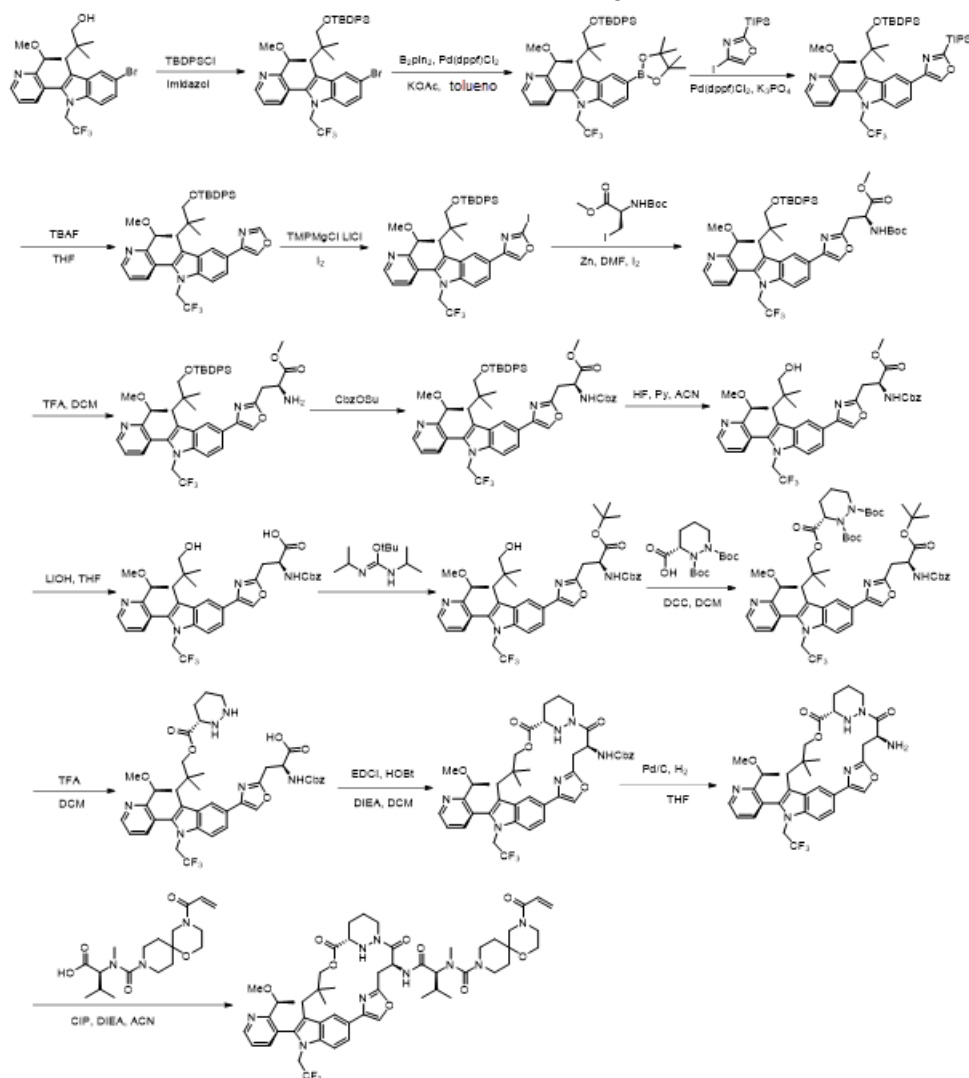
Paso 2. A una mezcla de (2³S,6³S,4S)-4-amino-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-5,7-diona (200 mg, 0,29 mmol) en DMF (2 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió DIPEA (378 mg, 2,9 mmol), ácido (2S)-2-[(4aR,7aS)-4-(terc-butoxicarbonil)-hexahidropirrol[3,4-b][1,4]oxazina-6-carbonil(metil)amino]-3-metilbutanoico (169 mg, 0,44 mmol) y HATU (133 mg, 0,35 mmol). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante TLC preparativa para dar (4aR,7aS)-6-(((2S)-1-(((2³S,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)hexahidropirrol[3,4-b][1,4]oxazina-4(4aH)-carboxilato de terc-butilo (230 mg, 67 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₄H₇₆F₃N₉O₉ 1051,6; encontrado 1052,6.

Paso 3. A una mezcla de 4aR,7aS)-6-(((2S)-1-(((2³S,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)hexahidropirrol[3,4-b][1,4]oxazina-4(4aH)-carboxilato de terc-butilo (230 mg, 0,22 mmol) en DCM (3 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió TFA. La mezcla se calentó hasta ta y se agitó durante 2 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (4aR,7aS)-N-(((2S)-1-(((2³S,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetilo)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilhexahidropirrol[3,4-

b][1,4]oxazina-6(2H)-carboxamida (220 mg) como un sólido. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{49}H_{68}F_3N_9O_7$ 951,5; encontrado 952,5.

Paso 4. A una mezcla de (4aR,7aS)-N-((2S)-1-(((2³S,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilhexahidropirrollo[3,4-b][1,4]oxazina-6(2H)-carboxamida (220 mg, 0,23 mmol) en ACN (3 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió DIPEA (299 mg, 2,3 mmol), ácido acrílico (25 mg, 0,35 mmol) y CIP (77 mg, 0,28 mmol). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa para dar (4aR,7aS)-4-acrilolil-N-((2S)-1-(((2³S,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-piperidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilhexahidropirrollo[3,4-b][1,4]oxazina-6(2H)-carboxamida (20 mg, 8 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{52}H_{70}F_3N_9O_8$ 1005,5; encontrado 1006,9; ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,75 (dd, J = 4,7, 1,8 Hz, 1H), 7,77 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,67 (t, J = 9,2 Hz, 2H), 7,58 - 7,48 (m, 2H), 7,17 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 6,86 (dd, J = 17,2, 10,6 Hz, 1H), 6,20 (d, J = 16,5 Hz, 1H), 5,80 - 5,59 (m, 2H), 5,48 (s, 1H), 5,11 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 4,73 (d, J = 15,3 Hz, 2H), 4,35 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 4,21 - 4,04 (m, 2H), 3,99 - 3,71 (m, 6H), 3,67 - 3,49 (m, 3H), 3,30 - 3,05 (m, 7H), 3,04 - 2,91 (m, 3H), 2,77 - 2,60 (m, 9H), 2,09 (d, J = 42,2 Hz, 5H), 1,81 (d, J = 28,6 Hz, 2H), 1,64 - 1,56 (m, 5H), 1,40 (d, J = 6,1 Hz, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,82 (t, J = 6,4 Hz, 6H), 0,21 (s, 3H).

Ejemplo 5. Síntesis de 4-acrilolil-N-((2S)-1-(((6³S,4S,Z)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-oxazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-4,9-diazaspiro [5.5]undecano-9-carboxamida



Paso 1. A una mezcla de (S)-3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(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 (6,3 g, 8,0 mmol) y 4-yodo-2-(triisopropilsilil)-1,3-oxazol (8,46 g, 24,1 mmol) en 1,4-dioxano (60 ml) y H₂O (12 ml) bajo una atmósfera de Ar se añadió K₃PO₄ (4,26 g, 20,1 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (0,59 g, 0,80 mmol). La mezcla se calentó a 70 °C y se agitó durante 2 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar (S)-4-(3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)-2-(triisopropilsilil)oxazol (8,84 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₁H₆₆F₃N₃O₃Si₂ 881,5; encontrado 882,5.

Paso 2. A una mezcla de (2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-1-(2,2,2-trifluoroetil)-5-[2-(triisopropilsilil)-1,3-oxazol-4-il]indol (8,84 g, 10,0 mmol) en THF (90 ml) a 0 °C se añadió TBAF 1 M en THF (10,0 ml, 10,0 mmol). La mezcla se agitó

a 0 °C durante 1 h y luego se lavó con NH₄Cl saturado (3 x 100 ml). Las capas acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc (3 x 100 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida para dar (2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-5-(1,3-oxazol-4-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol (8,4 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₂H₄₆F₃N₃O₃Si 725,3; encontrado 726,4.

Paso 3. A una mezcla de (2M)-3-[3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil]-2-[2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-5-(1,3-oxazol-4-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol (4,5 g, 6,2 mmol) en THF (45 ml) a 0 °C en una atmósfera de N₂ se añadió TMPMgCl.LiCl 1 M (12,2 ml, 12,2 mmol) gota a gota. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h, después se añadió gota a gota una mezcla de I₂ (1,89 g, 7,4 mmol) en THF (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se volvió a enfriar a 0 °C y se añadió NH₄Cl saturado y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 10 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante TLC preparativa para dar (S)-4-(3-(3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)-2-yodooxazol (3,0 g, rendimiento del 57 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₂H₄₅F₃IN₃O₃Si 851,2; encontrado 852,3.

Paso 4. A una mezcla de Zn (645 mg, 9,9 mmol) en DMF (10 ml) en una atmósfera de Ar se le añadió I₂ (125 mg, 0,49 mmol). La mezcla se calentó a 45 °C y se agitó durante 30 min, después se añadió gota a gota (2R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-yodopropanoato de metilo (1,22 g, 3,7 mmol) en DMF (5 ml) a 45°C. La mezcla se agitó a 45 °C durante 2 h y luego se enfrió a 0 °C y (S)-4-(3-(3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)-2-yodooxazol (2,1 g, 2,5 mmol), luego Pd(PPh₃)₂Cl₂ se añadieron gota a gota (173 mg, 0,25 mmol) en DMF (20 ml). La mezcla se calentó hasta 75 °C y se agitó durante 2 h, luego se agregó salmuera (20 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron en Na₂SO₄ 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 (S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-(4-(3-(3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoato de metilo (1,6 g, rendimiento del 70 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₁H₆₁F₃N₄O₇Si 926,4; encontrado 927,5.

Paso 5. A una mezcla de (S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-(4-(3-(3-[(terc-butildifenilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoato (2,4 g, 2,6 mmol en DCM (1,8 ml) a 0 °C se añadió TFA (0,6 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se añadió NaHCO₃ saturado y la mezcla se extrajo con

DCM/MeOH (10:1; 3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (S)-2-amino-3-(4-(3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoato de metilo (2,1 g, rendimiento del 98 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₆H₅₃F₃N₄O₅Si 826,4; encontrado 827,5.

Paso 6. A una mezcla de (S)-2-amino-3-(4-(3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoato (2,1 g, 2,5 mmol) en THF (15 ml) y se añadió H₂O (5 ml) a 0 °C, NaHCO₃ (0,64 g, 7,6 mmol) y carbonato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo de bencilo (0,95 g, 3,8 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, después se añadió EtOAc (20 ml) y la mezcla se lavó con salmuera (3 x 10 ml). La capa orgánica se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(4-(3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoato de metilo (2,2 g, rendimiento del 90 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₄H₅₉F₃N₄O₇Si 960,4; encontrado 961,4.

Paso 7. A una mezcla de (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(4-(3-(3-((terc-butildifenilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoato de metilo (2,2 g, 2,3 mmol) en ACN (11 ml) a 0 °C se añadió HF-piridina (11 ml, 122 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h, luego se basificó a pH ~7 con NaHCO₃ saturado. Las capas acuosa y orgánica se repartieron y la capa orgánica se concentró a presión reducida para dar (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(4-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoato de metilo (1,7 g) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₈H₄₁F₃N₄O₇ 722,3; encontrado 723,3.

Paso 8. A una mezcla de (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(4-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoato de metilo (1,7 g, 2,4 mmol) en THF (1,2 ml) y H₂O (0,4 ml) a 0 °C se añadió LiOH (0,08 g, 3,5 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante la noche y luego se acidificó a pH ~4 con HCl acuoso. La mezcla se extrajo con DCM / MeOH (10:1; 3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido (2S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-{4-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]-1,3-oxazol-2-il}propanoico (1,5 g, rendimiento del 90 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₇H₃₉F₃N₄O₇ 708,3; encontrado 709,3.

Paso 9. A una mezcla de ácido (2S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-{4-[(2M)-3-(3-hidroxi-

2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]-1,3-oxazol-2-il}propanoico (1,5 g, 2,1 mmol) en DCM (15 ml) y (Z)-N,N'-diisopropil terc-butoximetanimidamida (2,12 ml, 10,6 mmol). La mezcla se calentó a 40 °C y se agitó durante 3 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(4-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoato de terc-butilo (1,6 g, rendimiento del 99 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₁H₄₇F₃N₄O₇ 764,3; encontrado 765,3.

Paso 10. A una mezcla de (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(4-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoato de terc-butilo (1,8 g, 2,4 mmol) en DCM (16 ml) a 0 °C se añadió ácido (3S)-1,2-bis(terc-butoxicarbonil)-1,2-diazinano-3-carboxílico (1,04 g, 3,1 mmol) y DCC (0,65 g, 3,1 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-(3-(5-(2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(terc-butoxi)-3-oxopropil)oxazol-4-il)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropil) 1,2-di-terc-butil (S)-tetrahidropiridazina-1,2,3-tricarboxilato (1,8 g, 80 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₆H₇₁F₃N₆O₁₂ 1076,5; encontrado 1077,4.

Paso 11. A una mezcla de 3-(3-(5-(2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(terc-butoxi)-3-oxopropil)oxazol-4-il)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropil) 1,2-di-terc-butilo (S)-tetrahidropiridazina-1,2,3-tricarboxilato (1,8 g, 1,7 mmol) en DCM (15 ml) a 0 °C se añadió TFA (5 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se añadió NaHCO₃ saturado y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(4-(3-(3-((S)-hexahidropiridazina-3-carbonil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoico (1,27 g, rendimiento del 93 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₂H₄₇F₃N₆O₈ 820,3; encontrado 821,4.

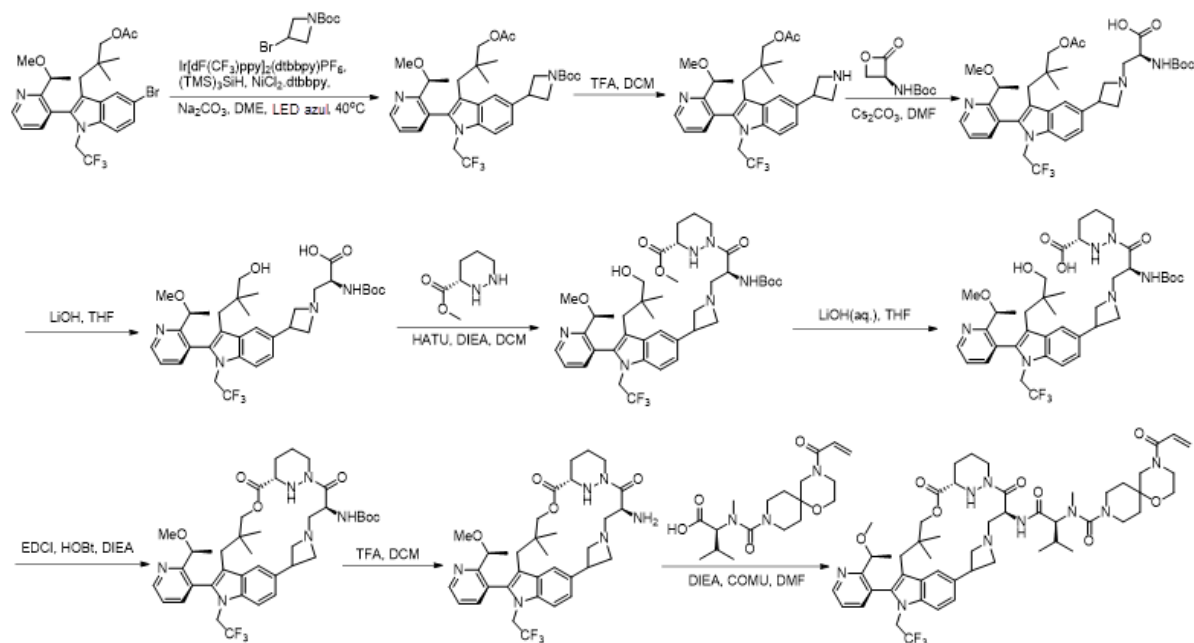
Paso 12. A una mezcla de ácido (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(4-(3-(3-((S)-hexahidropiridazina-3-carbonil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)oxazol-2-il)propanoico (870 mg, 1,1 mmol) y DIPEA (4,1 g, 31,8 mmol) en DCM (175 ml) a 0 °C se añadió HOBt (1,15 g, 8,5 mmol) y EDCI (8,13 g, 42,4 mmol) en porciones durante 15 minutos. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar ((6³S,4S,Z)-1²(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-

(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-oxazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)carbamato de bencilo (180 mg, rendimiento 21 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₂H₄₅F₃N₆O₇ 802,3; encontrado 803,4.

Paso 13. Una mezcla de ((6³S,4S,Z)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-oxazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)carbamato de bencilo (150 mg, 0,19 mmol) y Pd/C al 10 % (0,1 g) en THF (2 ml) se agitó a 35 °C en una atmósfera de H₂ (globo) durante 1 h. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (6³S,4S,Z)-4-amino-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-oxazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-5,7-diona (112 mg, 90 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₄H₃₉F₃N₆O₅ 668,3; encontrado 669,3.

Paso 14. A una mezcla de (6³S,4S,Z)-4-amino-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-oxazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-5,7-diona (91 mg, 0,14 mmol) en ACN (1 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (352 mg, 2,7 mmol) y ácido (2S)-3-metil-2-[metil(4-(prop-2-enil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carbonil)amino]butanoico (75 mg, 0,20 mmol) y 2-cloro-1,3-dimetil-4,5-dihidro-1H-imidazol-3-io; hexafluorofosfato (V) (46 mg, 0,16 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar 4-acrilolil-N-((2S)-1-(((6³S,4S,Z)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-oxazola-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carboxamida (29,6 mg, rendimiento del 21 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₂H₆₆F₃N₉O₉ 1017,5; encontrado 1018,7; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,77 (dd, J = 4,7, 1,8 Hz, 1H), 8,45 - 8,21 (m, 3H), 7,94 - 7,70 (m, 2H), 7,63 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,54 (m, 1H), 6,84 (t, J = 13,8 Hz, 1H), 6,16 (d, J = 16,5 Hz, 1H), 5,70 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 5,62 - 5,50 (m, 2H), 5,08 (d, J = 11,9 Hz, 1H), 4,94 - 4,75 (m, 1H), 4,35 (td, J = 12,1, 3,2 Hz, 1H), 4,34 - 4,15 (m, 2H), 3,94 - 3,80 (m, 1H), 3,65 (d, J = 5,0 Hz, 2H), 3,57 - 3,48 (m, 6H), 3,28 (s, 4H), 3,19 - 2,93 (m, 4H), 2,93 - 2,62 (m, 5H), 2,40 (d, J = 14,4 Hz, 1H), 2,20 - 2,04 (m, 2H), 1,86 - 1,57 (m, 5H), 1,58 - 1,40 (m, 2H), 1,37 (d, J = 6,1 Hz, 3H), 0,98 - 0,77 (m, 9H), 0,28 (s, 3H).

Ejemplo 6. Síntesis de 4-acrilolil-N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-acetidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-4,9-diazaspiro [5.5]undecano-9-carboxamida



Paso 1. A un vial de 40 ml equipado con una barra agitadora se le añadió fotocatalizador $\text{Ir}[\text{dF}(\text{CF}_3)\text{ppy}]_2(\text{dtbbpy})\text{PF}_6$ (62 mg, 0,055 mmol), 4-bromobenzoato de metilo (1,5 g, 2,8 mmol), 4-bromotetrahidropirano (981 mg, 4,2 mmol) tris(trimetilsilil)silano (689 mg, 2,8 mmol) y carbonato de sodio anhidro (587 mg, 5,54 mmol). El vial se selló y se colocó bajo una atmósfera de N_2 y luego se añadió DME (15 ml). A un vial separado se le añadió $\text{NiCl}_2 \cdot \text{glim}$ (6,1 mg, 0,028 mmol) y 4,4'-di-terc-butil-2,2'-bipiridina (7,4 mg, 0,028 mmol). El vial del catalizador se selló, se purgó con N_2 y se añadió DME (2 ml), luego esta mezcla se sonicó durante 5 minutos, después de lo cual, la mezcla se añadió al fotocatalista. La mezcla se desgasificó con N_2 durante 10 min, luego la mezcla se selló y se agitó bajo irradiación de una lámpara LED azul de 34 W (a 7 cm de distancia, con un ventilador de enfriamiento para mantener la temperatura de reacción a ta. La mezcla se agitó a ta durante 6 h, luego se agregó H_2O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 3-[(2M)-3-[3-(acetiloxi)-2,2-dimetilpropil]-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]azetidina-1-carboxilato de terc-butilo (700 mg, 41 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_5$ 617,3; encontrado 618,4.

Paso 2. A una mezcla de 3-[(2M)-3-[3-(acetiloxi)-2,2-dimetilpropil]-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]azetidina-1-carboxilato de terc-butilo (800 mg, 1,3 mmol) en DCM (8 ml) a 0 °C se añadió TFA (2,95 g, 25,9 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, luego se concentró a presión reducida y el residuo se basificó a pH ~8 con NaHCO_3 saturado y se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró

a presión reducida para dar acetato 3-[(2M)-5-(azetidin-3-il)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetilpropilo (650 mg, 97 %) como sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₂₈H₃₄F₃N₃O₃ 517,3; encontrado 518,3.

Paso 3. A una mezcla de acetato 3-[(2M)-5-(azetidin-3-il)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-3-il]-2,2-dimetilpropilo (900 mg, 1,7 mmol) en DMF (9 ml) se añadió N-[(3S)-2-oxooxetan-3-il]carbamato de terc-butilo (488 mg, 2,6 mmol) y Cs₂CO₃ (567 mg, 1,7 mmol). La mezcla se calentó hasta 40 °C y se agitó durante 2 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa para dar ácido (2S)-3-{3-[(2M)-3-[3-(acetiloxi)-2,2-dimetilpropil]-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]azetidin-1-il}-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoico (400 mg, rendimiento del 33 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₆H₄₇F₃N₄O₇ 704,3; encontrado 705,4.

Paso 4. A una mezcla de ácido (2S)-3-{3-[(2M)-3-[3-(acetiloxi)-2,2-dimetilpropil]-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]azetidin-1-il}-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]propanoico (400 mg, 0,57 mmol) en THF (2,8 ml) a 0 °C se añadió LiOH 1 M (2,84 ml, 2,84 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se diluyó con DCM (30 mL). La capa orgánica se lavó con H₂O (3 x 30 ml) y las capas acuosas combinadas se acidificaron a pH ~5 con HCl 1 M, luego se extrajeron con EtOAc (3 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (40 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-{3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetilo)indol-5-il]azetidin-1-il}propanoico (300 mg, 80 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₄H₄₅F₃N₄O₆ 662,3; encontrado 663,4.

Paso 5. A una mezcla de ácido (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-{3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]azetidin-1-il}propanoico (300 mg, 0,45 mmol) en DCM (3 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (351 mg, 2,7 mmol), (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (131 mg, 0,91 mmol) y HATU (258 mg, 0,68 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 3 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante TLC preparativa para dar (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-{3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]azetidin-1-il}propanoilo]-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (290 mg, 81 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₀H₅₅F₃N₆O₇ 788,4; encontrado

789,5.

Paso 6. A una mezcla de (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-{3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]azetidin-1-il}propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (290 mg, 0,37 mmol) en THF (1,8 ml) a 0 °C se añadió LiOH 1 M (1,84 ml, 1,84 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se añadió DCM (20 ml) y la mezcla se lavó con H₂O (3 x 30 ml). Las capas acuosas combinadas se acidificaron a pH ~5 con HCl 1 M y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 60 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-{3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]azetidin-1-il}propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico (230 mg, 81 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₉H₅₃F₃N₆O₇ 774,4; encontrado 775,5.

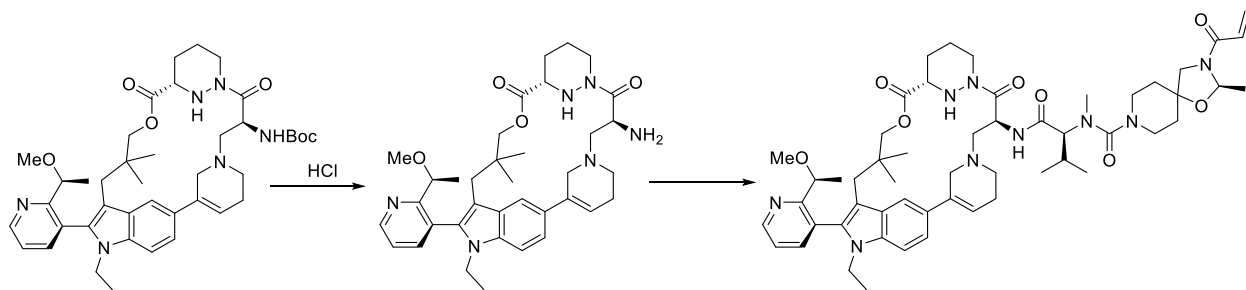
Paso 7. A una mezcla de ácido (3S)-1-[(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-{3-[(2M)-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-1-(2,2,2-trifluoroetil)indol-5-il]azetidin-1-il}propanoil]-1,2-diazinano-3-carboxílico (280 mg, 0,36 mmol) en DCM (56 ml) se añadió DIPEA (1,4 g, 10,8 mmol), HOBT (293 mg, 2,2 mmol) y EDCI (2,1 g, 10,8 mmol). La mezcla se calentó a 30 °C y se agitó durante la noche, se añadió H₂O y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante TLC preparativa para dar ((6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-azetidinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (100 mg, 37 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₉H₅₁F₃N₆O₆ 756,4; encontrado 757,4.

Paso 8. A una mezcla de ((6³S, 4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-azetidinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (100 mg, 0,13 mmol) en DCM (2 ml) a 0 °C se añadió TFA (301 mg, 2,64 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 4 h, luego se concentró a presión reducida para dar (6³S,4S)-4-amino-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-azetidinacicloundecafano-5,7-diona (80 mg, rendimiento del 92 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₄H₄₃F₃N₆O₄ 656,3; encontrado 657,5.

Paso 9. A una mezcla de (6³S,4S)-4-amino-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-azetidinacicloundecafano-5,7-diona (90 mg, 0,14 mmol) en DMF (2 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (106 mg, 0,82 mmol), ácido (2S)-3-metil-2-[metil(4-(prop-2-enoil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-

carbonil)amino]butanoico (76 mg, 0,21 mmol) y COMU (88 mg, 0,21 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar 4-acriloil-N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-azetidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carboxamida (37 mg, 27 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₂H₇₀F₃N₉O₈ 1005,5; encontrado 1006,8; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,73 (dd, *J* = 4,7, 1,8 Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,71 - 7,69 (m, 2H), 7,58 - 7,46 (m, 2H), 7,10 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,86 - 6,71 (m, 1H), 6,11 (dd, *J* = 16,3, 9,7 Hz, 1H), 5,65 (t, *J* = 8,3 Hz, 1H), 5,46 (dq, *J* = 17,2, 8,8 Hz, 1H), 5,29 - 5,15 (m, 2H), 4,87 - 4,74 (m, 1H), 4,23 (d, *J* = 12,3 Hz, 1H), 4,11 (q, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,07 - 3,97 (m, 1H), 3,86 - 3,71 (m, 2H), 3,61 - 3,47 (m, 12H), 3,23 (m, 5H), 3,07 - 2,87 (m, 5H), 2,78 (s, 3H), 2,76 - 2,66 (m, 1H), 2,32 (d, *J* = 14,4 Hz, 1H), 2,18 - 2,05 (m, 1H), 2,04 - 1,94 (m, 1H), 1,78 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 1,71 (d, *J* = 13,3 Hz, 1H), 1,58 (dd, *J* = 16,6, 6,9 Hz, 4H), 1,48 - 1,38 (m, 1H), 1,32 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H), 0,88 - 0,75 (m, 9H), 0,24 (s, 3H).

Ejemplo 7. Síntesis de (2R)-3-acriloil-N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-ilo)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N,2-dimetil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carboxamida

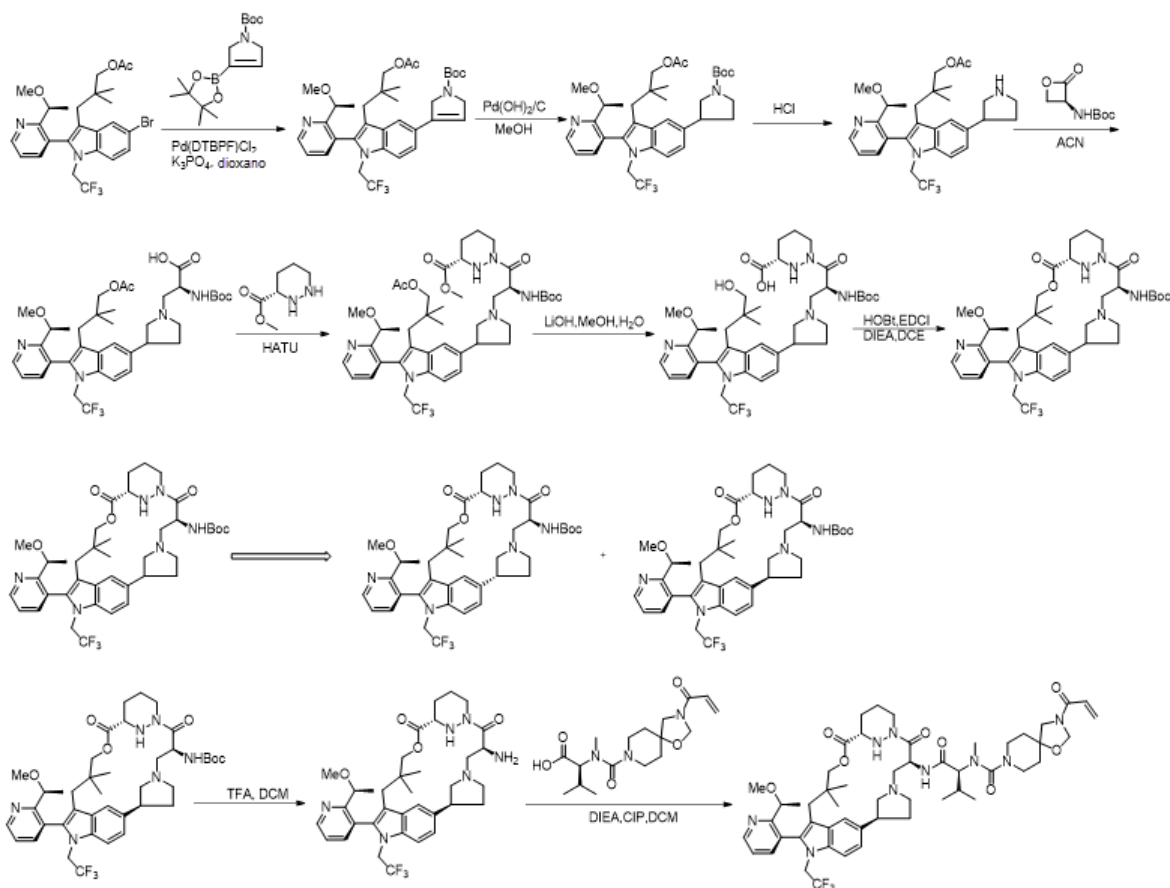


Paso 1. A una mezcla de N-((R)-3-acriloil-2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)-N-metil-L-valinato de metilo (430 mg, 1,127 mmol, 1,00 equiv) en THF (4 ml) y H₂O (4 ml) se añadió NaOH (225 mg, 5,6 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas a temperatura ambiente, luego se acidificó a pH ~5 con HCl 1 M y la mezcla se extrajo con EtOAc (4 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar N-((R)-3-acriloil-2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)-N-metil-L-valina (300 mg) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₈H₂₉N₃O₅ 367,2; encontrado 368,3.

Paso 2. A una mezcla de ((6³S,4S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (1,0 g, 1,4 mmol) en DCM (10 ml) a 0 °C se añadió HCl en 1,4-dioxano (5 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se concentró a presión reducida para dar ((6³S,4S)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-5,7-diona HCl (1,0 g) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₆H₄₈N₆O₄ 628,4; encontrado 629,6.

Paso 3. A una mezcla de ((6³S,4S)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-5,7-diona HCl (460 mg, 0,73 mmol) y N-((R)-3-acriloil-2-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)-N-metil-L-valina (269 mg, 0,73 mmol) en DMF (5 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (2,84 g, 22,0 mmol) y COMU (282 mg, 0,66 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (5 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 6 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar ((2R)-3-acriloil-N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N,2-dimetil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carboxamida (50 mg, rendimiento del 7 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₄H₇₅N₉O₈ 977,6; encontrado 978,6; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,83-8,67 (m, 1H), 7,89 (dd, *J* = 18,7, 8,2 Hz, 2H), 7,62 - 7,33 (m, 4H), 6,57 (dd, *J* = 16,7, 10,3 Hz, 1H), 6,38 - 6,11 (m, 2H), 5,75 (d, *J* = 9,8 Hz, 2H), 5,61 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 5,35 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H), 4,30 (d, *J* = 12,7 Hz, 1H), 4,16 (q, *J* = 6,2 Hz, 1H), 4,04 (s, 2H), 3,92 - 3,68 (m, 4H), 3,63 (s, 2H), 3,18 (d, *J* = 61,5 Hz, 6H), 2,95 (d, *J* = 33,8 Hz, 5H), 2,78 (t, *J* = 11,8 Hz, 1H), 2,64 (d, *J* = 24,7 Hz, 7H), 2,42 - 1,83 (m, 7H), 1,89 - 1,45 (m, 7H), 1,40 (dd, *J* = 11,9, 5,7 Hz, 6H), 1,10 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 0,94 - 0,64 (m, 9H), 0,52 (s, 3H).

Ejemplo 8. Síntesis de 3-acriloil-N-((2S)-1-(((2³S,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-pirrolidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carboxamida



Paso 1. A una mezcla de acetato (S)-3-(5-bromo-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (10 g, 18,5 mmol) y 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-carboxilato de terc-butilo (8,18 g, 27,7 mmol) en dioxano (100 ml) y H₂O (20 ml) en una atmósfera de Ar se añadió Pd(DTBPF)Cl₂ (1,20 g, 1,85 mmol) y K₃PO₄ (9,80 g, 46,2 mmol). La mezcla se calentó a 85 °C y se agitó durante 1 h, luego se extrajo con EtOAc (10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (8 x 5 mL), se secaron en Na₂SO₄ 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 (S)-3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-carboxilato de terc-butilo (13 g, 89 % rendimiento) como aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₄H₄₂F₃N₃O₅ 629,3; encontrado 630,4.

Paso 2. Una mezcla de (S)-3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-(1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-carboxilato de terc-butilo (10,75 g, 17,1 mmol) y Pd(OH)₂/C (3,2 g, 22,8 mmol) en MeOH (100 ml) se calentó a 40 °C y bajo una atmósfera de H₂ durante 2 h. La mezcla se filtró y la torta de filtración se lavó con DCM (10 x 10 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar 3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-

il)pirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo (6,4 g, rendimiento del 56 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{34}H_{44}F_3N_3O_5$ 631,3; encontrado 632,4.

Paso 3. A una mezcla de 3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2, 2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo (7,0 g, 11,1 mmol) en dioxano (70 ml) se añadió HCl en 1,4-dioxano (17,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se concentró a presión reducida para dar acetato 3-(2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(pirrolidin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (7,6 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{29}H_{36}F_3N_3O_3$ 531,3; encontrado 532,5.

Paso 4. A una mezcla de acetato 3-(2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-5-(pirrolidin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (7,7 g, 14,5 mmol) en ACN (80 ml) se añadió (S)-(2-oxooxetan-3-il)carbamato de terc-butilo (4,07 g, 21,7 mmol) y CS_2CO_3 (11,80 g, 36,2 mmol). La mezcla se calentó a 40 °C y se agitó durante 2 h, luego se acidificó a pH ~7 con HCl concentrado y la mezcla se extrajo con EtOAc (500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar ácido (2S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)pirrolidin-1-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoico (2,3 g, rendimiento del 19 %) como aceite. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{37}H_{49}F_3N_4O_7$ 718,4; encontrado 719,5.

Paso 5. A una mezcla de (S)-hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (0,69 g, 4,8 mmol), DIPEA (16,54 g, 128 mmol) y ácido (2S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)pirrolidin-1-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoico (2,3 g, 3,2 mmol) en DCM (60 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N_2 se añadió HATU (1,46 g, 3,84 mmol) en porciones. La mezcla resultante se calentó hasta t_a y se agitó durante 1 h, se agregó H_2O y la mezcla se extrajo con EtOAc (200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 400 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar (3S)-1-((2S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)pirrolidin-1-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (2 g, 70 % de rendimiento) como un aceite. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{43}H_{59}F_3N_6O_8$ 844,4; encontrado 845,6.

Paso 6. Una mezcla de (3S)-1-((2S)-3-(3-(3-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)pirrolidin-1-il)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de metilo (2,0 g, 2,4 mmol) y LiOH (0,28 g, 11,8 mmol) en H_2O (10 ml) y MeOH (20 ml) se agitó a t_a. La mezcla se acidificó a pH ~6 con HCl acuoso y la mezcla se extrajo con DCM (4 x ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron

con salmuera (6 x 4 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido (3S)-1-((2S)-2-((terc-butoxicarbonilo)amino)-3-(3-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)pirrolidin-1-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (1,9 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₀H₅₅F₃N₆O₇ 788,4; encontrado 789,4.

Paso 7. A una mezcla de ácido (3S)-1-((2S)-2-((terc-butoxicarbonilo)amino)-3-(3-(3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-indol-5-il)pirrolidin-1-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (1,87 g, 2,4 mmol) en DCM (340 ml) bajo una atmósfera de N₂ se añadió DIPEA (9,19 g, 71,1 mmol), HOBt (1,60 g, 11,9 mmol) y EDCI (9,09 g, 47,4 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con DCM (2 x mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 3 mL), se secaron en Na₂SO₄ 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 ((6³S,4S)-12-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-pirrolidinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (410 mg, rendimiento 21 %) como un sólido.

Paso 8. Los diastereómeros se separaron mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar cada isómero respectivo.

Datos para el isómero 1 (R_f = 0,4 en éter de petróleo/EtOAc 1:1): LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₀H₅₃F₃N₆O₆ 770,4; encontrado 771,4.

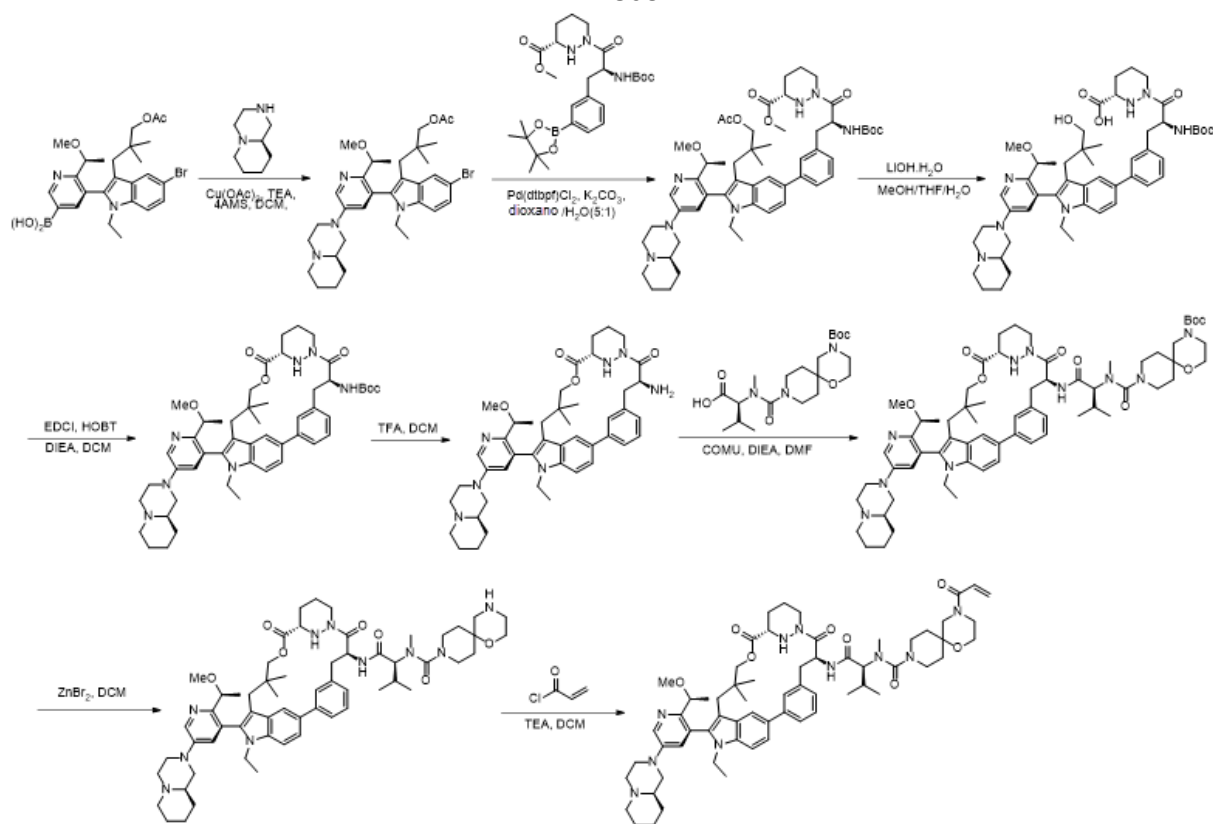
Datos para el isómero 2 (R_f = 0,7 en éter de petróleo/EtOAc 1:1): LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₀H₅₃F₃N₆O₆ 770,4; encontrado 771,4.

Paso 9. A una mezcla de ((6³S, 4S)-12-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-pirrolidinacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (410 mg, 0,53 mmol) en DCM (5 ml) a 0 °C se añadió TFA (1,7 mL, 22,9 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h, luego se basificó a pH ~6 con NaHCO₃ saturado y la mezcla se extrajo con EtOAc (6 x 3 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (5 x 3 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (2³S,6³S,4S)-4-amino-12-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-pirrolidinacicloundecafane-5,7-diona (390 mg) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₅H₄₅F₃N₆O₄ 670,4; encontrado 671,7.

Paso 10. A una mezcla de (2³S,6³S,4S)-4-amino-12-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-

2(3,1)-pirrolidinacicloundecafano-5,7-diona (270 mg, 0,4 mmol) y DIPEA (2,1 g, 16,1 mmol) en DCM (3 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de N₂ se añadió ácido (2S)-3-metil-2-[metil(3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil)amino]butanoico (142 mg, 0,4 mmol) y CIP (227 mg, 0,81 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 30 min, luego se agregó H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (4 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (5 x 30 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar 3-acriloil-N-((2S)-1-(((2³S,6³S,4S)-1²-(2-((S)-1)-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-1¹-(2,2,2-trifluoroetil)-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(3,1)-pirrolidinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il) -N-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carboxamida (45 mg, 10% de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₂H₇₀F₃N₉O₈ 1005,5; encontrado 1006,9; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,76 (dd, *J* = 4,7, 1,8 Hz, 1H), 7,81 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,74 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,60 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,58 - 7,50 (m, 2H), 7,13 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,54 (dd, *J* = 16,8, 10,3 Hz, 1H), 6,24 - 6,14 (m, 1H), 5,74 (td, *J* = 10,2, 2,3 Hz, 1H), 5,58 (q, *J* = 6,9 Hz, 1H), 5,46 (dt, *J* = 17,2, 8,7 Hz, 1H), 5,13 (d, *J* = 13,2 Hz, 2H), 5,01 (s, 1H), 4,81 (dt, *J* = 18,2, 9,0 Hz, 1H), 4,31 (d, *J* = 12,4 Hz, 1H), 4,20 (q, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,87 (s, 1H), 3,80 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 3,67 (s, 2H), 3,60 - 3,55 (m, 1H), 3,45 (s, 1H), 3,12 (dt, *J* = 17,2, 9,6 Hz, 3H), 2,76 (d, *J* = 13,0 Hz, 5H), 2,61 (q, *J* = 7,8, 6,9 Hz, 2H), 2,42 (d, *J* = 14,4 Hz, 1H), 2,29 - 1,87 (m, 4H), 1,80 (t, *J* = 12,5 Hz, 3H), 1,65 (dt, *J* = 22,2, 8,9 Hz, 3H), 1,58 - 1,48 (m, 2H), 1,38 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H), 0,98 - 0,83 (m, 6H), 0,81 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,26 (s, 3H).

Ejemplo 9. Síntesis de 4-acriloil-N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-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-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carboxamida



Paso 1. A una mezcla 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 (7,7 g, 14,5 mmol) y (R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazina (3,9 g, 27,8 mmol) en DCM (230 ml) en una atmósfera de O₂ se añadió TEA (14,7 g, 145,3 mmol) y tamices moleculares de 4 Å (26 g). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, luego se añadió Cu(OAc)₂ (2,4 g, 13,2 mmol), la mezcla se calentó a 40 °C y se agitó durante la noche. Se añadió hielo/H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (5 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó para dar 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 (3,5 g, rendimiento del 27 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₃₃H₄₅BrN₄O₃ 624,3; encontrado 625,5.

Paso 2. A una mezcla de acetato 3-(5-bromo-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazina -2-il)piridin-3-il)-1H-indol-3-il)-2,2-dimetilpropilo (1,9 g, 3,0 mmol) y (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 (1,89 g, 3,6 mmol) en dioxano (19 ml) y H₂O (3,8 ml) se añadió K₂CO₃ (1,05 g, 7,6 mmol) y Pd(dtbpf)Cl₂ (395 mg, 0,61 mmol). La mezcla se calentó a 70 °C y se agitó durante 3 h, después se diluyó con EtOAc (40 ml), se añadió hielo/H₂O y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se

secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó para dar (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 de metilo (1,1 g, rendimiento del 29 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₃H₇₃N₇O₈ 935,6; encontrado 936,8.

Paso 3. A una mezcla de (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 de metilo (900 mg, 0,92 mmol) en THF (4,5 ml), MeOH (4,5 ml) y H₂O (4,5 ml) a 0 °C se añadió LiOH·H₂O (89 mg, 3,7 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h, luego se añadió hielo/H₂O (10 ml), la mezcla se acidificó a pH ~5 con ácido cítrico y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar 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 (900 mg) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₀H₆₉N₇O₇ 879,5; encontrado 880,6.

Paso 4. A una mezcla 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 (670 mg, 0,76 mmol) en DCM (67 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (3,94 g, 30,4 mmol), EDCI (4,4 g, 22,8 mmol) y HOBT (514 mg, 3,8 mmol). La mezcla se calentó hasta t_a y se agitó durante la noche, luego se agregó hielo/H₂O (100 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NH₄Cl saturado (3 x 100 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó para dar ((6³S,4S)-1¹-etil-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-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (450 mg, 62 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₀H₆₇N₇O₆ 861,5; encontrado 862,7.

Paso 5. A una mezcla de ((6³S,4S)-1¹-etil-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-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)carbamato de terc-butilo (230 mg, 0,27 mmol) en DCM (2 mL) a 0 °C se añadió TFA (1 mL) gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se basificó a pH ~8 con NaHCO₃ saturado a 0 °C y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (6³S,4S)-4-amino-

11-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)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 (300 mg) como un sólido, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₅H₅₉N₇O₄ 761,5; encontrado 762,8.

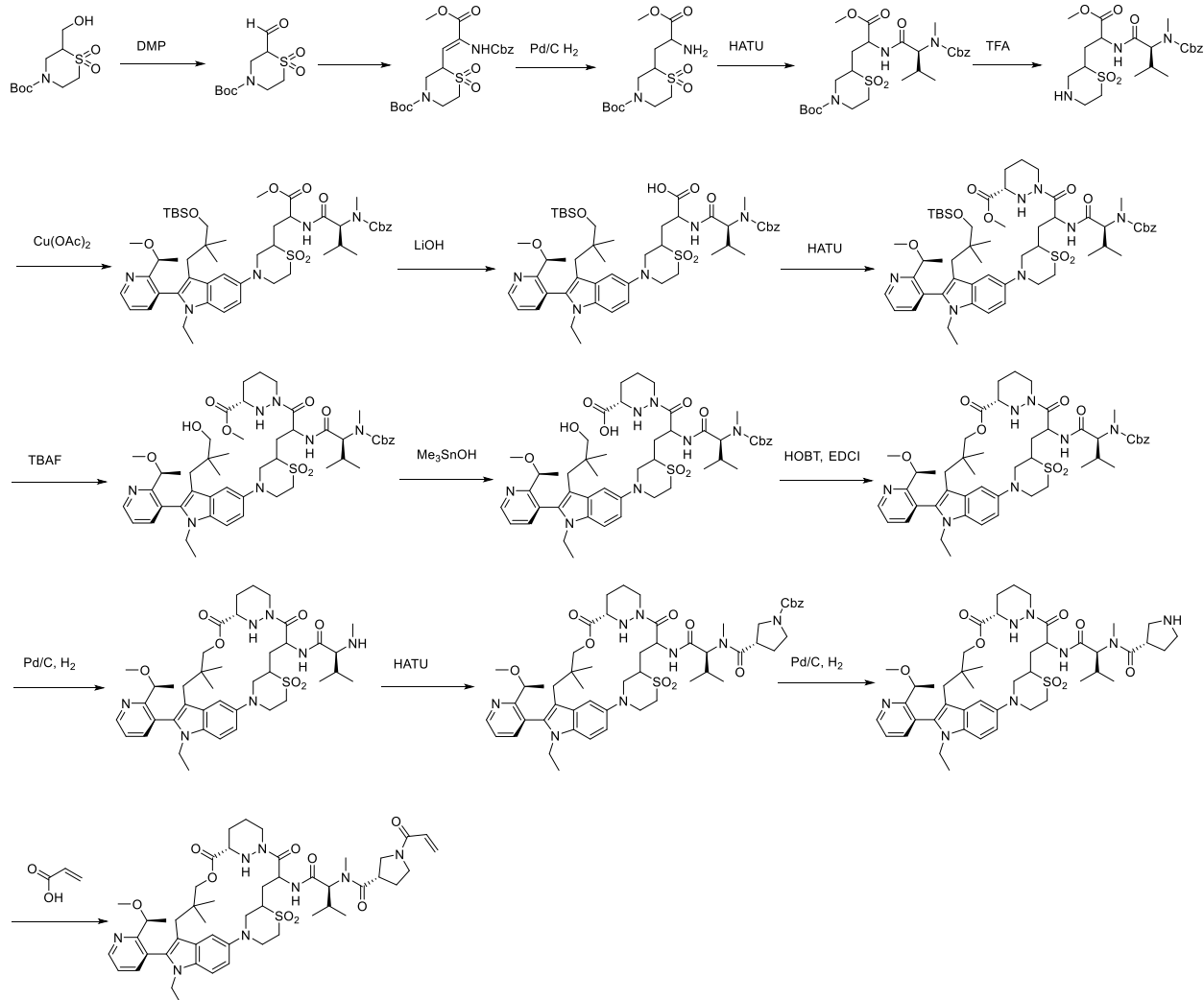
5 **Paso 6.** A una mezcla de (6³S,4S)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-5,7-diona (300 mg, 0,39 mmol) y ácido (2S)-2-[4-(terc-butoxicarbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carbonil(metil)amino]-3-metilbutanoico (211 mg, 0,51 mmol) en DMF (3 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de Ar se añadió DIPEA 10 (1,53 g, 11,8 mmol) y COMU (168 mg, 0,39 mmol) en DMF (0,1 ml) gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregó hielo/H₂O (3 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó para dar 9-(((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-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-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (200 mg, rendimiento del 59 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₆₅H₉₂N₁₀O₉ 1156,7; encontrado 1158,2.

20 **Paso 7.** Una mezcla de 9-(((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-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-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-4-carboxilato de terc-butilo (200 mg, 0,17 mmol) y ZnBr₂ (195 mg, 0,87 mmol) en DCM (4 ml) se calentó a 35 °C y se agitó durante la noche. Se añadió hielo/H₂O (5 ml) y la mezcla se basificó a pH ~8 con NaHCO₃ saturado a 0 °C, luego se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-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-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carboxamida (200 mg) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₆₀H₈₄N₁₀O₇ 1056,7; encontrado 1058,1.

30 **Paso 8.** A una mezcla de N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-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-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carboxamida (200 mg, 0,19 mmol) y 35

TEA (57 mg, 0,57 mmol) en DCM (2 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de Ar se añadió gota a gota cloruro de acrilóilo (12 mg, 0,13 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h más, luego se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa para dar 4-acrilóil-N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-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-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(1,3)-bencenacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecano-9-carboxamida (40 mg, rendimiento 19 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₆₃H₈₆N₁₀O₈ 1110,7; encontrado 1112,1; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,46 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 8,17 - 8,05 (m, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,74 - 7,54 (m, 3H), 7,27 - 7,19 (m, 2H), 7,01 - 6,81 (m, 2H), 6,28 - 6,11 (m, 1H), 5,73 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 5,43 (d, *J* = 9,4 Hz, 2H), 4,40 - 4,17 (m, 2H), 4,10 (dq, *J* = 21,9, 7,1, 6,5 Hz, 2H), 3,95 (t, *J* = 12,0 Hz, 1H), 3,77 (dt, *J* = 25,3, 13,0 Hz, 3H), 3,69 - 3,64 (m, 3H), 3,64 - 3,55 (m, 3H), 3,54 - 3,48 (m, 2H), 3,15 (d, *J* = 11,7 Hz, 2H), 3,07 (s, 3H), 2,97 - 2,89 (m, 1H), 2,79 (m, 4H), 2,66 (s, 1H), 2,56 (s, 3H), 2,42 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H), 2,23 (td, *J* = 11,6, 3,2 Hz, 1H), 2,07 - 1,89 (m, 4H), 1,82 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H), 1,77 - 1,63 (m, 4H), 1,59 (d, *J* = 12,6 Hz, 3H), 1,47 (d, *J* = 13,1 Hz, 2H), 1,36 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H), 1,19 (m, 3H), 1,00 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), 0,90 - 0,70 (m, 9H), 0,57 (s, 3H).

Ejemplo 10. Síntesis de (3S)-1-acrilóil-N-((2S)-1-(((6³S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2¹-dioxido-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiomorfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidina-3-carboxamida



Paso 1. A una mezcla de 2-(hidroximetil)tiomorfolin-4-carboxilato de terc-butilo, 1,1-dióxido (17,8 g, 60 mmol) en DCM (200 ml) se le añadió periodinano de Dess-Martin (56,6 g, 130 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar 2-formiltiomorfolin-4-carboxilato 1,1-dióxido de terc-butilo (30 g) como un jarabe, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI): m/z $[M-tBu+H]^+$ calculado para $C_6H_9NO_5S$ 207,2; encontrado 208,0; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,88 (s, 1H), 4,17 (d, $J = 39,4$, 33,7 Hz, 4H), 3,15 (d, $J = 34,2$ Hz, 3H), 1,48 (s, 10H).

Paso 2. A una mezcla de 2-formiltiomorfolin-4-carboxilato 1,1-dióxido de terc-butilo (58 g, 60 mmol) en ACN (400 ml) a 0 °C se añadió 1,1,3,3-tetrametilguanidina (30,5 g, 200 mmol) y 2-[[[(benciloxi)carbonil]amino]-2-(dimetoxifosforil)acetato de metilo (43,8 g, 130 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, luego se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc (200 ml) y se lavó con H_2O (150 ml x 3), después se secó y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 2-(2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)tiomorfolina-

4-carboxilato 1,1-dióxido de terc-butilo (8 g, rendimiento del 25 % en 2 pasos) como un jarabe. LCMS (ESI): m/z [M+Na]⁺ calculado para C₂₁H₂₈N₂NaO₈S 491,2; encontrado 491,2.

Paso 3. Una mezcla de 2-(2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)tiomorfolin-4-carboxilato de terc-butilo (8 g, 17,0 mmol), Pd al 10 %/C (4 g) y NH₄Cl (9,1 g, 170 mmol) en MeOH (200 ml) se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de H₂ durante 48 h. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar 2-(2-amino-3-metoxi-3-oxopropil)tiomorfolin-4-carboxilato 1,1-dióxido de terc-butilo (6,3 g) como un aceite, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₃H₂₄N₂O₆S 336,1; encontrado 337,1.

Paso 4. A una mezcla de 2-(2-amino-3-metoxi-3-oxopropil)tiomorfolina-4-carboxilato 1,1-dióxido de terc-butilo (6,3 g, 10 mmol) y ácido (2S)-2-({3-[(formiloxi)metil]fenil}(metil)amino)-3-metilbutanoico (5 g, 10 mmol) en DMF seca (20 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (49,2 g, 30 mmol) y HATU (7,2 g, 10 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con H₂O (50 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 2-(2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-(metilbutanamido)-3-metoxi-3-oxopropil)tiomorfolina-4-carboxilato 1,1-dióxido de terc-butilo (5 g, rendimiento del 57 % en 2 etapas) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₂₇H₄₁N₃O₉S 583,3; encontrado 584,3.

Paso 5. A una mezcla de 2-(2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-metoxi-3-oxopropil)tiomorfolina-4-carboxilato 1,1-dióxido de terc-butilo (12 g, 20 mmol) en DCM (80 ml) a 0 °C se añadió TFA (20 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1,5 h, luego se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc (50 ml) y se ajustó a pH ~9 con Na₂CO₃ saturado. La capa orgánica se concentró a presión reducida para dar 2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(1,1-dioxidotiomorfolin-2-il)propanoato de metilo (9,1 g, rendimiento 94 %) como un jarabe, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₂₂H₃₃N₃O₇S 483,2; encontrado 484,2.

Paso 6. A una mezcla de 2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(1,1-dioxidotiomorfolin-2-il)propanoato de metilo (5,9 g, 12 mmol) en DCM (50 ml) a ta se añadió (3-{3-[(terc-butildimetilsilil)oxi]-2,2-dimetilpropil}-1-etil-2-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}indol-5-il)boranodiol (6,4 g, 12 mmol), Cu(OAc)₂ (2,2 g, 12 mmol) y piridina (2,8 g, 36 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 h, luego la mezcla se filtró, el filtrado se diluyó con EtOAc (30 ml) y se lavó con H₂O (80 ml x 3). La capa orgánica se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(4-((R)-3-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2,2-

dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-1,1-dioxidotiormorfolin-2-il)propanoato de metilo (7,59 g, rendimiento del 66 %) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₁H₇₅N₅O₉SSi 961,5; encontrado 962,3.

Paso 7. A una mezcla de 2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(4-((R)-3-(3-((tert-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-1,1-dioxidotiormorfolin-2-il)propanoato de metilo (7,59 g, 7,9 mmol) en THF (40 ml) a 0 °C se añadió LiOH (0,38 g, 16 mmol) en H₂O (8 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1,5 h, luego el pH se ajustó a pH ~7 con HCl 3 M (5 ml), la mezcla se diluyó con salmuera (15 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para dar ácido 2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(4-((R)-3-(3-((tert-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-1,1-dioxidotiormorfolin-2-il)propanoico (7,4 g, rendimiento del 98 %) como un jarabe. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₀H₇₃N₅O₉SSi 947,5; encontrado 948,4.

Paso 8. A una mezcla de ácido 2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(4-((R)-3-(3-((tert-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-1,1-dioxidotiormorfolina-2-il)propanoico (7,4 g, 7,8 mmol) en DMF (50 ml) a 0 °C se añadió (3S)-1,2-diazinano-3-carboxilato de metilo (2,6 g, 12 mmol), DIPEA (20 g, 160 mmol) y HATU (4,6 g, 12 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se diluyó con EtOAc (300 ml) y se lavó con H₂O (100 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 1-2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(4-((R)-3-(3-((tert-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-1,1-dioxidotiormorfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de (3S)-metilo (8,08 g, rendimiento del 96 %) como un jarabe. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₆H₈₃N₇O₁₀SSi 1073,6; encontrado 1074,5.

Paso 9. A una mezcla de TBAF 1 M en THF (38 ml, 38 mmol) y AcOH (2,3 g, 38 mmol) se le añadió 1-2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(4-((R)-3-(3-((tert-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilpropil)-1-etil-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-1,1-dioxidotiormorfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de (3S)-metilo (8,08 g, 7,5 mmol). La mezcla se calentó a 55 °C y se agitó durante 16 h, luego se diluyó con EtOAc (200 ml) y se lavó con H₂O (150 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para dar 1-2-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(4-((R)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-1,1-dioxidotiormorfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de (3S)-metilo (7,2 g, rendimiento del 99 %) como un jarabe. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₀H₆₉N₇O₁₀S 959,5; encontrado 960,3.

Paso 10. A una mezcla de 1-(2-(((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(4-((R)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-1,1-dioxidotiormorfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxilato de (3S)-metilo (7,2 g, 7,5 mol) en DCE (30 ml) se añadió Me₃SnOH (6,7 g, 38 mmol). La mezcla se calentó a 65 °C y se agitó durante 16 h, luego se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar ácido (3S)-1-(2-(((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(4-((R)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-1,1-dioxidotiormorfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (13 g) como un aceite. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₉H₆₇N₇O₁₀S 945,5; encontrado 946,4.

Paso 11. A una mezcla de ácido (3S)-1-(2-(((S)-2-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-3-(4-((R)-1-etil-3-(3-hidroxi-2,2-dimetilpropil)-2-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-1H-indol-5-il)-1,1-dioxidotiormorfolin-2-il)propanoil)hexahidropiridazina-3-carboxílico (13 g, 7,4 mmol; aprox. 55 % de pureza) en DCM (400 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (38 g, 300 mmol), HOBT (10 g, 74 mmol) y EDCI (42 g, 220 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 48 h, luego se concentró a presión reducida, el residuo se diluyó con EtOAc (200 ml) y se lavó con H₂O (100 ml x 2). La capa orgánica se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice para dar ((2S)-1-(((6³S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2¹-dióxido-5,7-dióxido-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiormorfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de bencilo [cuatro isómeros; una mezcla de Isómero 1 e Isómero 2, 1,6 g; Isómero 3 (651 mg, rendimiento del 9,5 %); Isómero 4 (332 mg, rendimiento del 4,8%)]. La mezcla del Isómero 1 y el Isómero 2 se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa para dar el Isómero 1 (470 mg, 6,8 % de rendimiento) y el Isómero 2 (797 mg, 12 % de rendimiento).

Datos para el Isómero 1: LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₉H₆₅N₇O₉S 927,5; encontrado 928,4; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,74 (dd, J = 4,8, 1,6 Hz, 1H), 8,36 - 8,13 (m, 1H), 7,91 (dd, J = 7,8, 1,7 Hz, 1H), 7,52 (dd, J = 7,8, 4,8 Hz, 1H), 7,45 - 7,25 (m, 6H), 7,21 - 7,07 (m, J = 8,8 Hz, 1H), 5,59 - 5,40 (m, 2H), 5,28 - 5,05 (m, 2H), 4,45 (d, 1H), 4,17 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 4,13 - 3,97 (m, 2H), 3,97 - 3,62 (m, 6H), 3,50 - 3,34 (m, 2H), 3,27 - 3,04 (m, 4H), 3,01 - 2,83 (m, 4H), 2,78 (s, 2H), 2,64 - 2,32 (m, 2H), 2,24 - 1,90 (m, 5H), 1,84 - 1,65 (m, 2H), 1,46 (dd, J = 16,6, 6,6 Hz, 3H), 1,36 - 1,17 (m, 4H), 1,02 (s, 2H), 0,94 - 0,70 (m, 6H), 0,58 (s, 3H).

Datos para el Isómero 2: LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₉H₆₅N₇O₉S 927,5; encontrado 928,4; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,71 (dd, J = 4,8, 1,6 Hz, 1H), 8,18 - 8,01 (m, 1H), 7,83 (dd, J = 7,7, 1,6 Hz, 1H), 7,52 (dd, J = 7,7, 4,9 Hz, 1H), 7,45 - 7,23 (m, 6H), 7,20 (s, 1H), 7,06 (dd, J = 8,9, 2,1 Hz, 1H), 5,66 - 5,50 (m, 1H), 5,29 - 5,05 (m, 2H), 4,36 - 4,18 (m, 3H), 4,17 - 4,09 (m, 2H), 4,05 - 3,86 (m, 5H), 3,75 (d, J = 16,6 Hz, 1H), 3,54 - 3,36 (m, 2H), 3,27 (s, 1H), 3,21 - 3,06 (m,

4H), 3,03 - 2,91 (m, 1H), 2,88 (s, 3H), 2,81 - 2,63 (m, 2H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,34 - 2,09 (m, 3H), 2,00 - 1,93 (m, 1H), 1,86 (d, $J = 10,2$ Hz, 1H), 1,79 - 1,63 (m, 2H), 1,43 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 1,28 (s, 1H), 1,01 (d, $J = 5,7$ Hz, 3H), 0,91 - 0,77 (m, 10H), 0,57 (s, 3H).

Datos para el Isómero 3: LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{49}H_{65}N_7O_9S$ 927,5; encontrado 928,4; 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,79 - 8,66 (m, 1H), 8,17 - 8,04 (m, 1H), 7,88 (dd, $J = 19,8, 5,4$ Hz, 1H), 7,52 (dd, $J = 7,7, 4,8$ Hz, 1H), 7,45 - 7,16 (m, 7H), 7,15 - 6,98 (m, 1H), 5,50 - 5,38 (m, 1H), 5,16 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 4,32 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 4,24 - 4,16 (m, 1H), 4,14 - 4,02 (m, 2H), 4,00 - 3,72 (m, 5H), 3,62 (dd, $J = 30,7, 6,5$ Hz, 2H), 3,28 - 3,14 (m, 2H), 3,11 - 2,92 (m, 5H), 2,88 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 2,74 - 2,54 (m, 1H), 2,52 - 2,12 (m, 4H), 1,94 - 1,65 (m, 2H), 1,61 - 1,47 (m, 1H), 1,43 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 1,38 - 1,25 (m, 2H), 1,18 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,98 - 0,73 (m, 9H), 0,68 (s, 3H).

Datos para el Isómero 4: LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{49}H_{65}N_7O_9S$ 927,5; encontrado 928,4; 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,79 - 8,61 (m, 1H), 8,21 (d, $J = 47,9$ Hz, 1H), 7,92 (dd, $J = 7,7, 1,6$ Hz, 1H), 7,64 - 7,46 (m, 2H), 7,44 - 7,20 (m, 5H), 7,07 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 5,84 - 5,45 (m, 1H), 5,26 - 5,02 (m, 2H), 4,42 - 3,38 (m, 11H), 3,27 - 3,06 (m, 4H), 3,05 - 2,94 (m, 3H), 2,93 - 2,70 (m, 4H), 2,53 (t, 1H), 2,27 - 2,09 (m, 2H), 2,01 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 1,87 - 1,54 (m, 3H), 1,52 - 1,26 (m, 3H), 1,26 - 0,98 (m, 4H), 0,97 - 0,40 (m, 12H).

Paso 12. Una mezcla de ((2S)-1-(((6³S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2¹-dioxido-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiomorfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de bencilo (Isómero 1; 380 mg, 0,41 mmol), Pd/C, 50 % en peso con H_2O (100 mg) y NH_4Cl (220 mg, 4,1 mmol) en MeOH (10 ml) se agitó a 15 °C durante 10 h. La mezcla se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida, el residuo se diluyó con solución sat. de $NaHCO_3$ (20 mL) y se extrajo con DCM (20 mL x 5). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (2S)-N-(((6³S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2¹-dioxido-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiomorfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-4-il)-3-metil-2-(metilamino)butanamida (300 mg, rendimiento 92 %) como un sólido, y se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{41}H_{59}N_7O_7S$ 793,4; encontrado 794,4.

Se llevó a cabo una reacción similar utilizando los isómeros 2, 3 y 4 como material de partida para dar los productos respectivos.

Datos para el Isómero 2: Partiendo de (170 mg, 0,18 mmol) para dar (140 mg, 98 % de rendimiento). LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{41}H_{59}N_7O_7S$ 793,4; encontrado 794,4.

Datos para el Isómero 3: Partiendo de (390 mg, 0,42 mmol) para dar (300 mg, 90% de rendimiento). LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{41}H_{59}N_7O_7S$ 793,4; encontrado 794,3.

Datos para el Isómero 4: Partiendo de (240 mg, 0,26 mmol) para dar (200 mg, 96% de rendimiento). LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₁H₅₉N₇O₇S 793,4; encontrado 794,3.

Paso 13. A una mezcla de (2S)-N-((6³S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2¹-dióxido-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiomorfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-4-il)-3-metil-2-(metilamino)butanamida (Isómero 1; 120 mg, 0,15 mmol) y ácido (3S)-1-{3-[(formiloxi)metil]fenil}pirrolidina-3-carboxílico (56 mg, 0,23 mmol) en DMF (5 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (390 mg, 3 mmol) y HATU (87 mg, 0,23 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con H₂O (20 ml x 2). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice para dar (3S)-3-(((2S)-1-(((6³S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2¹-dióxido-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiomorfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de bencilo (111 mg, rendimiento 72 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₄H₇₂N₈O₁₀S 1024,5; encontrado 1025,3.

Se llevó a cabo una reacción similar utilizando los isómeros 2, 3 y 4 como material de partida para dar los productos respectivos.

Datos para el Isómero 2: Partiendo de (150 mg, 0,19 mmol) para dar (120 mg, 62% de rendimiento). LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₄H₇₂N₈O₁₀S 1024,5; encontrado 1025,4.

Datos para el Isómero 3: Partiendo de (300 mg, 0,38 mmol) para dar (300 mg, 77% de rendimiento). LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₄H₇₂N₈O₁₀S 1024,5; encontrado 1025,5.

Datos para el Isómero 4: Partiendo de (199 mg, 0,25 mmol) para dar (220 mg, 85% de rendimiento). LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₄H₇₂N₈O₁₀S 1024,5; encontrado 1025,4.

Paso 14. Una mezcla de (3S)-3-(((2S)-1-(((6³S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2¹-dióxido-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiomorfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de bencilo (Isómero 1; 111 mg, 0,11 mmol), Pd/C, 50 % en peso con H₂O (30 mg) y NH₄Cl (60 mg, 1,1 mmol) en MeOH (20 ml) se agitó a 15 °C durante 10 h. La mezcla se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida, el residuo se diluyó con DCM (20 mL) y se lavó con solución sat. de NaHCO₃. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida para dar (3S)-N-((2S)-1-(((6³S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridina-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2¹-dióxido-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiomorfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicoundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidina-3-carboxamida (77 mg, 79 % de rendimiento) como un sólido, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₆H₆₆N₈O₈S 890,5; encontrado 891,4.

Se llevó a cabo una reacción similar utilizando los isómeros 2, 3 y 4 como material de partida para dar los productos respectivos.

Datos para el Isómero 2: Partiendo de (120 mg, 0,12 mmol) para dar (85 mg, 89% de rendimiento). LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₆H₆₆N₈O₈S 890,5; encontrado 891,4.

Datos para el Isómero 3: Partiendo de (300 mg, 0,34 mmol) para dar (220 mg, 73% de rendimiento). LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₆H₆₆N₈O₈S 890,5; encontrado 891,5.

Datos para el Isómero 4: Partiendo de (220 mg, 0,21 mmol) para dar (147 mg, 71% de rendimiento). LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₆H₆₆N₈O₈S 890,5; encontrado 891,4.

Paso 15. A una mezcla de (3S)-N-((2S)-1-(((6³S)-1¹-ethi-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2¹-dióxido-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiomorfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidina-3-carboxamida (Isómero 1; 77 mg, 0,086 mmol) en DCM (2 ml) a 0 °C se añadió NaHCO₃ sat. (2 ml) y cloruro de prop-2-enoilo (7 mg, 0,077 mmol) en DCM (1 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min, luego se añadió H₂O y la mezcla se extrajo con DCM (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante TLC preparativa para dar (3S)-1-acrilolil-N-((2S)-1-(((6³S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2¹-dióxido-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-tiomorfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metilpirrolidina-3-carboxamida (23 mg, rendimiento del 28 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₉H₆₈N₈O₉S 944,5; encontrado 945,4; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,75 - 8,74 (m, 1H), 7,92 - 7,90 (m, 1H), 7,54 - 7,51 (m, 1H), 7,43 (dd, J = 8,8, 2,2 Hz, 1H), 7,34 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 7,25 - 7,15 (m, 1H), 6,71 - 6,60 (m, 1H), 6,32 - 6,25 (m, 1H), 5,77 (dd, J = 10,5, 1,9 Hz, 1H), 5,53 - 5,48 (m, 1H), 4,62 (dd, J = 24,9, 11,1 Hz, 1H), 4,45 (s, 1H), 4,13 - 4,03 (m, 3H), 3,89 - 3,76 (m, 6H), 3,69 - 3,63 (m, 2H), 3,60 - 3,35 (m, 3H), 3,25 - 3,21 (m, 3H), 3,13 - 3,11 (m, 1H), 3,00 (d, J = 2,3 Hz, 5H), 2,90 (d, J = 3,5 Hz, 2H), 2,25 - 2,20 (m, 2H), 2,16 - 2,09 (m, 3H), 2,04 - 1,94 (m, 2H), 1,80 - 1,72 (m, 2H), 1,46 - 1,43 (m, 3H), 1,29 (m, 3H), 1,26 - 1,22 (m, 3H), 1,01 - 0,98 (m, 3H), 0,95 - 0,88 (m, 3H), 0,84 - 0,81 (m, 3H), 0,62 - 0,59 (m, 2H).

Se llevó a cabo una reacción similar utilizando los isómeros 2, 3 y 4 como material de partida para dar los productos respectivos.

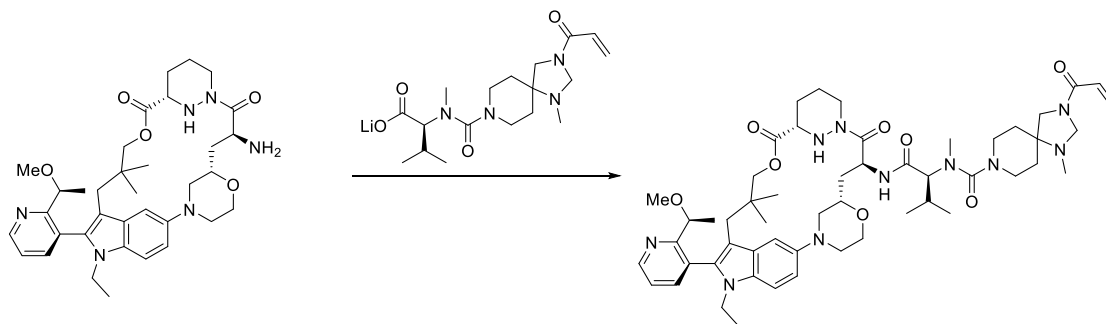
Datos para el Isómero 2: Partiendo de (110 mg, 0,12 mmol) para dar (24,5 mg, 21 % de rendimiento). LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₄₉H₆₈N₈O₉S 944,5; encontrado 945,3; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,71 (dd, J = 4,8, 1,7 Hz, 1H), 7,91 - 7,78 (m, 1H), 7,52 (dd, J = 7,7, 4,9 Hz, 1H), 7,45 - 7,36 (m, 1H), 7,25 - 7,03 (m, 2H), 6,65 - 6,56 (m, 1H), 6,30 - 6,22 (m, 1H), 5,76-5,70 (m, 1H), 5,67 - 5,48 (m, 1H), 5,27 (dd, J = 11,7, 8,2 Hz, 1H), 4,69 (dd, J = 10,9, 3,3 Hz, 1H), 4,37 - 4,28 (m, 1H), 4,26 - 4,18 (m, 1H), 4,18 - 3,98 (m, 3H), 3,97 - 3,83 (m, 4H), 3,82 - 3,62 (m, 4H), 3,60

- 3,41 (m, 3H), 3,28 - 3,20 (m, 2H), 3,14 (d, $J = 10,4$ Hz, 3H), 3,06 (d, $J = 4,8$ Hz, 3H), 2,96 (s, 1H), 2,89 - 2,77 (m, 1H), 2,73 - 2,55 (m, 1H), 2,48 - 2,34 (m, 1H), 2,33 - 2,18 (m, 3H), 2,13 - 1,95 (m, 2H), 1,90 - 1,84 (m, 1H), 1,80 - 1,67 (m, 2H), 1,43 (m, 3H), 1,27 (s, 1H), 1,14 - 0,95 (m, 4H), 0,94 - 0,85 (m, 4H), 0,82 (d, $J = 6,2$ Hz, 5H), 0,56 (d, $J = 8,7$ Hz, 3H).

5 Datos para el Isómero 3: Partiendo de (120 mg, 0,13 mmol) para dar (32 mg, 11% de rendimiento). LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{49}H_{68}N_8O_9S$ 944,5; encontrado 945,5; 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,73 (dt, $J = 3,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,93 - 7,86 (m, 1H), 7,53 (dd, $J = 7,7, 4,9$ Hz, 1H), 7,40 (dd, $J = 8,8, 2,3$ Hz, 1H), 7,28 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 7,13 - 6,99 (m, 1H), 6,65 (ddd, $J = 35,6, 16,8, 10,5$ Hz, 1H), 6,28 (ddd, $J = 16,8, 4,9, 1,9$ Hz, 1H), 5,75 (td, $J = 10,4, 1,9$ Hz, 1H), 5,53 - 5,34 (m, 1H), 4,63 (dd, $J = 13,4, 11,3$ Hz, 1H), 4,26 (d, $J = 11,1$ Hz, 1H), 4,12 - 4,01 (m, 2H), 4,00 - 3,82 (m, 5H), 3,82 - 3,45 (m, 7H), 3,41 - 3,33 (m, 1H), 3,14 - 3,02 (m, 4H), 3,02 - 2,87 (m, 5H), 2,62 - 2,34 (m, 3H), 2,33 - 2,17 (m, 3H), 2,10 - 1,94 (m, 1H), 1,69 - 1,52 (m, 1H), 1,46 - 1,39 (m, 3H), 1,27 (s, 2H), 1,23 - 1,16 (m, 3H), 1,16 - 1,01 (m, 2H), 0,96 - 0,90 (m, 3H), 0,88 - 0,74 (m, 6H), 0,73 - 0,63 (m, 3H).

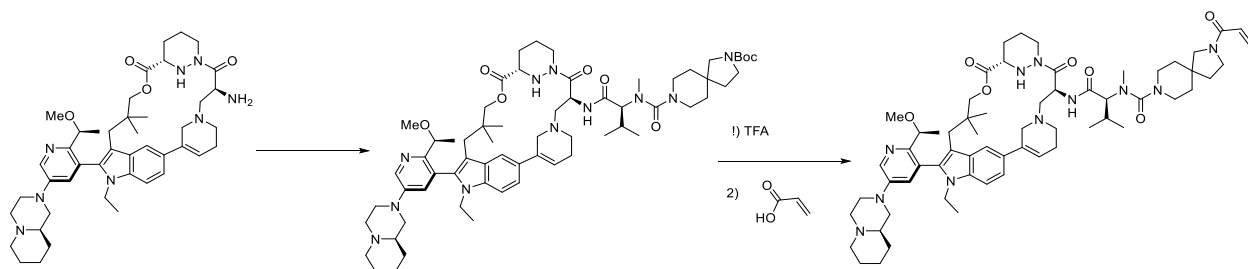
15 Datos para el Isómero 4: Partiendo de (147 mg, 0,16 mmol) para dar (47.2 mg, 31% de rendimiento). LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{49}H_{68}N_8O_9S$ 944,5; encontrado 945,3; 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,73 - 8,72 (m, 1H), 7,92 (dd, $J = 7,8, 1,6$ Hz, 1H), 7,53 - 7,50 (m, 1H), 7,49 - 7,46 (m, 1H), 7,41 - 7,38 (m, 1H), 7,07 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,65 - 6,56 (m, 1H), 6,28 - 6,23 (m, 1H), 5,76 - 5,71 (m, 2H), 4,59 - 4,55 (m, 1H), 4,34 - 4,30 (m, 1H), 4,13 - 4,03 (m, 4H), 3,88 - 3,72 (m, 6H), 3,68 - 3,48 (m, 5H), 3,30 - 3,20 (m, 4H), 3,08 - 3,07 (m, 3H), 3,02 (d, $J = 4,1$ Hz, 4H), 2,55 - 2,53 (m, 1H), 2,34 - 2,19 (m, 3H), 2,11 - 2,00 (m, 3H), 1,90 - 1,88 (m, 1H), 1,76 - 1,74 (m, 2H), 1,44 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 1,29 (s, 1H), 1,23 - 1,20 (m, 3H), 0,91 - 0,86 (m, 3H), 0,78 - 0,75 (m, 5H), 0,69 - 0,66 (m, 3H).

25 **Ejemplo 11. Síntesis de 3-acriloil-*N*-((2*S*)-1-(((2³*S*,6³*S*,4*S*)-1¹-etil-1²-(2-((*S*)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹*H*-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloudenafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-*N*,1-dimetil-1,38-triazaspiro[4.5]decano-8-carboxamida**



A una mezcla de (2²S,6³S,4S)-4-amino-1¹-etil-1²-(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)-piridazinacicloundecafano-5,7-diona (150 mg, 0,24 mmol) y (2S)-3-metil-2-{metil[1-metil-3-(prop-2-enil)-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-8-il]carbonilamino}butanoato, sal de litio (132 mg, 0,36 mmol) en DMF (5 ml) a 0 °C se añadió HATU (108 mg, 0,28 mmol) y DIPEA (459 mg, 3,5 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se diluyó con EtOAc (30 ml), se lavó con H₂O (10 ml x 2) y salmuera (10 ml). La capa orgánica se secó en Na₂SO₄ y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice y HPLC preparativa para dar 3-acriloil-N-((2S)-1-(((2²S,6³S,4S)-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)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N,1-dimetil-1,3,8-triazaespiro[4,5]decano-8-carboxamida (6,9 mg, rendimiento del 3 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₃H₇₆N₁₀O₈ 980,6; encontrado 367,2; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,71 (dd, J = 4,8, 1,6 Hz, 1H), 7,86 (dd, J = 7,8, 1,6 Hz, 1H), 7,51 (dd, J = 7,8, 4,8 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,14 - 7,04 (m, 2H), 6,67 - 6,44 (m, 1H), 6,31 (d, J = 16,8 Hz, 1H), 5,81 - 5,75 (m, 1H), 5,65 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 4,51 - 4,13 (m, 2H), 4,33 (s, 1H), 4,27 - 4,18 (m, 1H), 4,17 - 4,08 (m, 1H), 3,96 - 3,87 (m, 3H), 3,87 - 3,77 (m, 3H), 3,76 - 3,65 (m, 4H), 3,64 - 3,51 (m, 3H), 3,28 - 3,24 (m, 1H), 3,16 (s, 3H), 3,10 - 3,02 (m, 1H), 2,99 - 2,90 (m, 2H), 2,87 - 2,74 (m, 5H), 2,70 - 2,53 (m, 2H), 2,40 - 2,30 (m, 3H), 2,27 - 2,18 (m, 1H), 2,14 - 2,05 (m, 2H), 1,98 - 1,88 (m, 3H), 1,79 - 1,68 (m, 2H), 1,65 - 1,47 (m, 3H), 1,44 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,04 (t, J = 6,8 Hz, 3H), 0,95 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,80 - 0,60 (m, 6H).

Ejemplo 12. Síntesis de 2-acriloil-N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-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-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metilo-1-oxobutan-2-il)-N-metil-2,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carboxamida



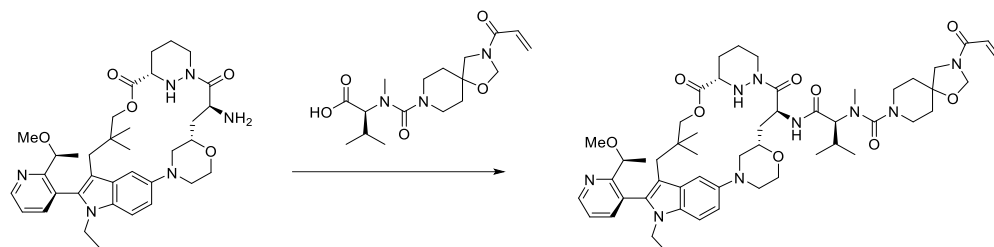
Paso 1. A una mezcla de (6³S,4S)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)-5-((R)-octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazin-2-il)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-

oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-5,7-diona (150 mg, 0,23 mmol) en DMF (2 ml) a 0 °C se añadió ácido (2S)-2-({2-[(terc-butoxi)carbonil]-2,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il}carbonil(metil)amino)-3-metilbutanoico (125 mg, 0,30 mmol), DIPEA (310 mg, 2,34 mmol) y HATU (134 mg, 0,35 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego H₂O (150 mL) y se extrajo con EtOAc (150 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (50 mL), salmuera (50 mL), se secaron en anhídrido Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante TLC preparativa para dar 8-(((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-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-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)-2,8-diazaspiro[4.5]decano-2-carboxilato de terc-butilo (130 mg, 40 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₆₄H₉₅N₁₁O₈ 1145,7; encontrado 1146,7.

Paso 2. A una mezcla de 8-(((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-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-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamoil)-2,8-diazaspiro[4.5]decano-2-carboxilato de terc-butilo (130 mg, 0,12 mmol) en DCM (1,0 ml) a 0 °C se añadió TFA (0,5 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se diluyó con DCM (5 ml) y se añadió NaHCO₃ saturado para ajustar el pH ~9. Se añadió cloruro de prop-2-enoilo (10 mg, 0,11 mmol) en DCM a 0 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 15 min. La mezcla se vertió en H₂O (50 ml) y se extrajo con DCM (150 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (50 mL), salmuera (50 mL), se secaron en anhídrido Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante TLC preparativa para dar 2-acriloil-N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-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-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-2,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carboxamida como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₆₂H₈₉N₁₁O₇ 1099,7; encontrado 1100,6; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,45 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,54 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 7,42 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,65 (m, 1H), 6,41 - 6,21 (m, 2H), 5,93 (dd, J = 7,6, 3,8 Hz, 1H), 5,81 - 5,75 (m, 1H), 4,50 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 4,20 - 4,04 (m, 3H), 3,98 - 3,71 (m, 8H), 3,63 - 3,48 (m, 2H), 3,46 - 3,36 (m, 2H), 3,30 - 3,15 (m, 3H), 3,12 - 2,97 (m, 6H), 2,93 - 2,76 (m, 6H), 2,64 (t, J = 11,2 Hz, 2H), 2,55 (d, J = 11,6 Hz, 9H), 2,45 - 2,12 (m, 4H), 1,99 - 1,83 (m, 2H), 1,80 - 1,55 (m, 10H), 1,48 - 1,29 (m, 6H), 1,22 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 0,93 (dd, J = 22,8, 6,4 Hz, 9H), 0,72 (s, 3H).

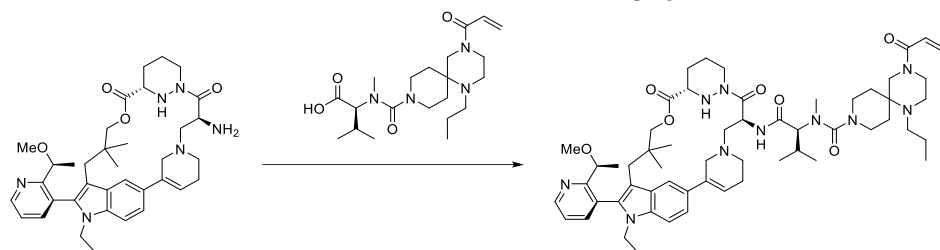
Ejemplo 13. Síntesis de 3-acriloil-N-((2S)-1-(((2²S,6³S,4S)-1¹-etil-1²-(2-(S)-1-metoxietil)piridin-

3-il)- 10,10-dimetil-5,7-dioxo-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carboxamida



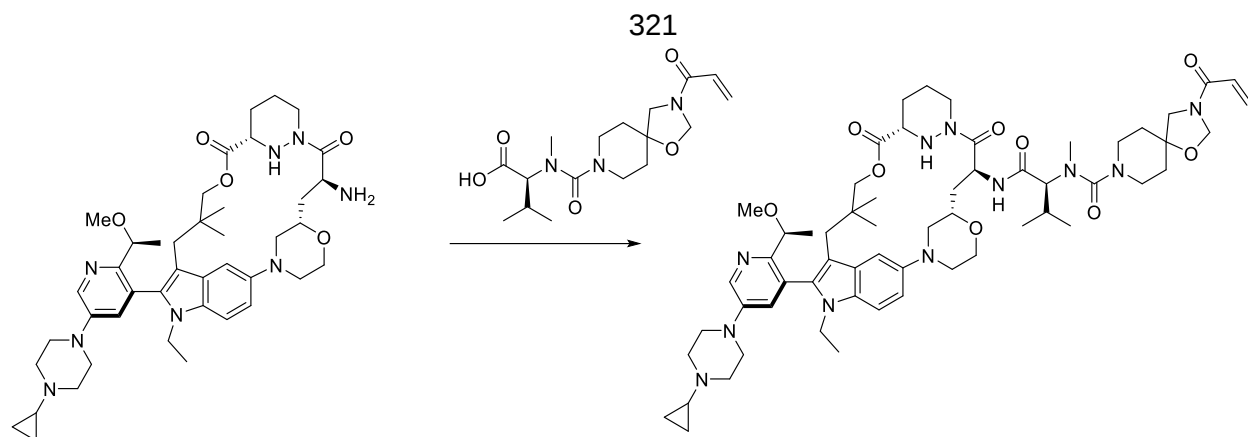
A una mezcla de (2²S,6³S,4S)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-hexahidro-1¹H-8-oxa-2(4,2)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-5,7-diona (450 mg, 0,7 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregó H₂O (20 mL), y la mezcla se extrajo con EtOAc (30 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice y HPLC preparativa para dar 3-acrilolil-N-((2S)-1-(((2²S,6³S,4S)-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)-morfolina-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carboxamida (297 mg, rendimiento del 40 %) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₂H₇₃N₉O₉ 967,6; encontrado 968,6; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,72 - 8,69 (m, 1H), 8,10 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 7,89 - 7,80 (m, 1H), 7,56 - 7,47 (m, 1H), 7,45 - 7,35 (m, 1H), 7,17 - 7,01 (m, 2H), 6,62 - 6,45 (m, 1H), 6,32 (s, 1H), 5,85 - 5,71 (m, 1H), 5,64 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 5,19 (s, 1H), 5,10 (s, 1H), 4,46 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 4,25 - 4,03 (m, 2H), 3,99 - 3,61 (m, 8H), 3,61 - 3,33 (m, 6H), 3,29 - 3,18 (m, 2H), 3,15 (s, 3H), 2,99 - 2,71 (m, 6H), 2,68 - 2,46 (m, 2H), 2,30 - 2,17 (m, 1H), 2,12 - 2,02 (m, 2H), 1,96 - 1,54 (m, 8H), 1,43 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,15 - 0,97 (m, 3H), 0,96 - 0,79 (m, 6H), 0,77 - 0,53 (m, 6H).

Ejemplo 14. Síntesis de 4-acrilolil-N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10, 10-dimetil-5,7-dioxo-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-propil-1,4,9-triazaspiro [5.5]undecano-9-carboxamida



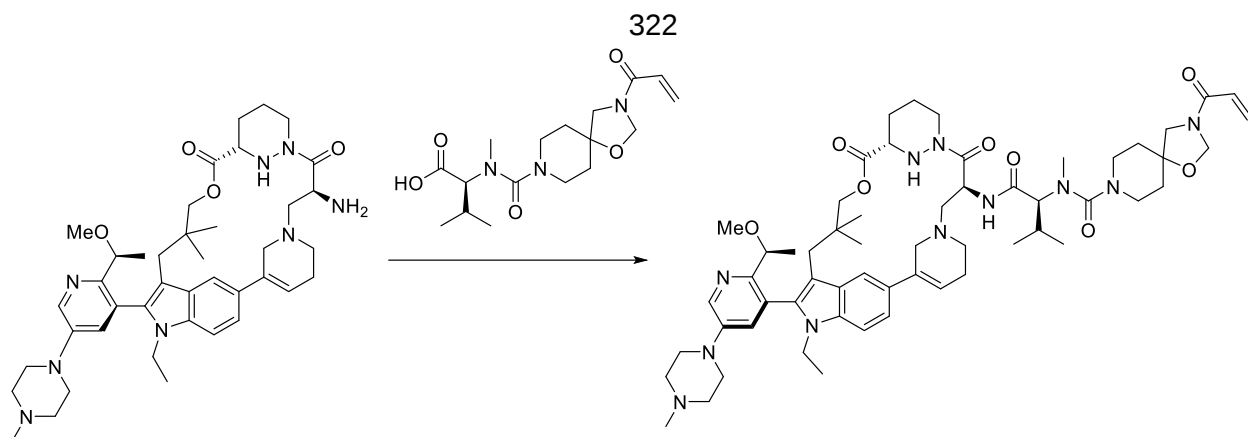
A una mezcla de ácido (6³S,4S)-4-amino-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-5,7-diona (113 mg, 0,18 mmol) y (2S)-3-metil-2-{metil[4-(prop-2-enoil)-1-propil-1,4,9-triazaspiro[5.5]undecan-9-il]carbonilamino}butanoico, sal de litio (88 mg, 0,22 mmol) en DMF (2 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (464 mg, 3,6 mmol) y HATU (82 mg, 0,23 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se agregó H₂O (20 mL), y la mezcla se extrajo con DCM (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa para dar 4-acriolil-N-((2S)-1-(((6³S,4S)-1¹-etil-1²-(2-((S)-1-metoxietil)piridin-3-il)-10,10-dimetil-5,7-dioxo-2¹,2²,2³,2⁶,6¹,6²,6³,6⁴,6⁵,6⁶-decahidro-1¹H-8-oxa-1(5,3)-indola-6(1,3)-piridazina-2(5,1)-piridinacicloundecafano-4-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-N-metil-1-propil-1,4,9-triazaespiro[5.5]undecano-9-carboxamida (26 mg, 14 % de rendimiento) como un sólido. LCMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calculado para C₅₇H₈₂N₁₀O₇ 1018,6; encontrado 1019,6; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,73 (dd, J = 8,0, 4,0 Hz, 1H), 7,90 (dd, J = 8,0, 4,0 Hz, 1H), 7,54 - 7,51 (m, 3H), 7,41 - 7,38 (m, 1H), 6,90 - 6,74 (m, 1H), 6,30 - 6,18 (m, 2H), 5,91 - 5,88 (m, 1H), 5,80 - 5,75 (m, 1H), 4,59 - 4,46 (m, 1H), 4,10 - 3,47 (m, 15H), 3,19 - 2,72 (m, 17H), 2,42 - 2,15 (m, 8H), 2,08 - 1,63 (m, 7H), 1,48 - 1,44 (m, 6H), 1,16 (t, J = 6,4 Hz, 3H), 0,93 - 0,86 (m, 9H), 0,66 (s, 3H).

Ejemplo 15. Síntesis de (2S)-N-[(6S,8S,14S,20M)-21-[5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-22-etil-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1²,⁶.1¹⁰,¹⁴.0²³,²⁷]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaespiro[4.5]decano-8-carbonil]amino}butanamida



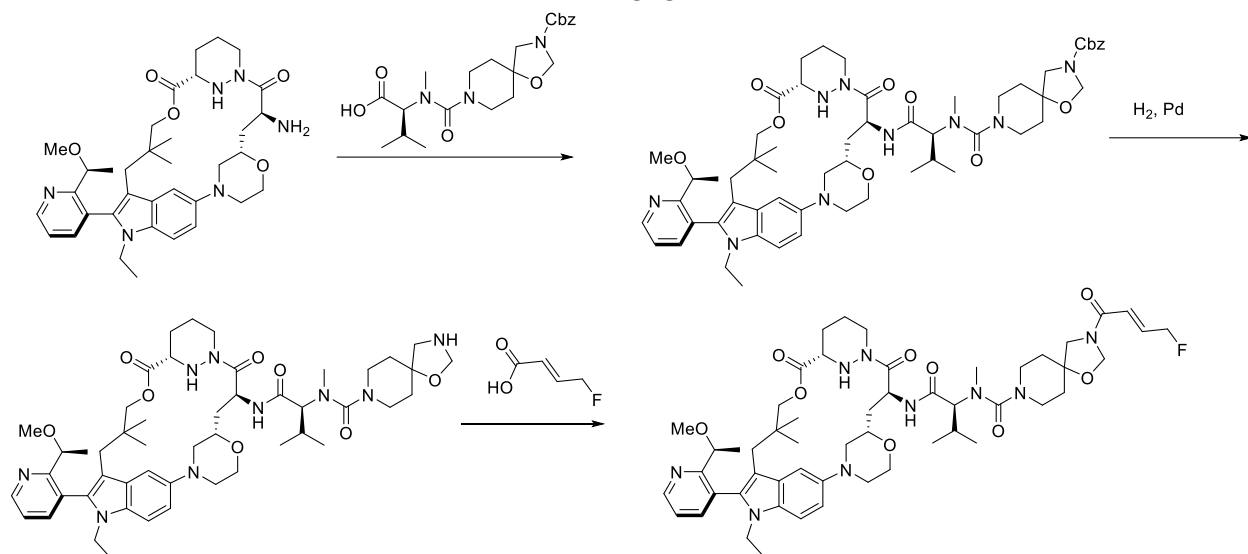
A una solución de ((6S,8S,14S)-8-amino-21-[5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-22-etil-18,18-dimetil-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraeno-9,15-diona (60 mg, 0,08 mmol, 1 equiv.) y ácido (2S)-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il]carbonilamino}butanoico (42 mg, 0,119 mmol, 1,5 equiv.) en DMF (3 ml) se añadió N,N-Diisopropiletilamina (205 mg, 1,59 mmol, 20 equiv.) seguido de HATU (60 mg, 0,159 mmol, 2 equiv.) a -5~0 °C. Se agitó esta reacción a -5~0 °C durante 1hr. La mezcla de reacción se inactivó con agua (5 mL) y se extrajo con EA (10 mL x 3). La fase orgánica combinada se lavó con agua (10 mL x 1) y salmuera (10 mL x 1). La fase orgánica se concentró hasta sequedad y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía para proporcionar (2S)-N-[(6S,8S,14S,20M)-21-[5-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)-2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il]-22-etil-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil]amino}butanamida (16 mg, 18 % de rendimiento) como un sólido blanco. ESI-MS m/z = 1092,6 [M+H]⁺, MW calculado: 1091,7; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,29 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 7,25 (dd, J = 22,5, 5,9 Hz, 2H), 7,06 – 6,91 (m, 2H), 6,51 – 6,16 (m, 2H), 5,75 – 5,63 (m, 1H), 5,55 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 5,09 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 5,00 (s, 1H), 4,57 – 4,32 (m, 2H), 4,09 – 3,95 (m, 2H), 3,98 – 3,50 (m, 9H), 3,52 – 3,21 (m, 7H), 3,23 – 3,03 (m, 8H), 3,03 (s, 3H), 2,85 (dd, J = 26,6, 15,7 Hz, 2H), 2,69 (d, J = 14,8 Hz, 2H), 2,61 – 2,41 (m, 2H), 2,22 – 2,07 (m, 1H), 1,99 (dd, J = 18,3, 12,0 Hz, 2H), 1,94 – 1,09 (m, 13H), 0,98 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 0,81 (dd, J = 27,0, 6,5 Hz, 6H), 0,64 (d, J = 28,9 Hz, 6H), 0,50 – 0,32 (m, 4H).

Ejemplo 16. Síntesis de (2S)-N-[(8S,14S,20M)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-16-oxa-6,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),2,20,23(27),24-pentaen-8-il]-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil]amino}butanamida



A una solución de (8S)-8-amino-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il}-18,18-dimetil-16-oxa-6,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),2,20,23(27),24-pentaeno-9,15-diona (70 mg, 0,10 mmol, 1,0 equiv.) y ácido (2S)-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decano-8-il]carbonilamino}butanoico (40 mg, 0,12 mmol, 1,2 equiv.) en DMF (2 ml) se añadió HATU (44 mg, 0,12 mmol, 1,2 equiv) y DIEA (187 mg, 1,44 mmol, 15,0 equiv) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó 0°C durante 1 h. La solución se purificó por cromatografía para proporcionar (2S)-N-[(8S,14S,20M)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]-5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-16-oxa-6,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),2,20,23(27),24-pentaen-8-il]-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decano-8-carbonil]amino}butanamida (20,5 mg, rendimiento del 18 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z = 1062,5 [M+H]⁺, MW calculado: 1061,64. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,43 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,58 – 7,49 (m, 2H), 7,45– 7,35(m, 2H), 6,65 – 6,41 (m, 1H), 6,38 – 6,32 (m, 1H), 6,29 (s, 1H), 5,91 (dd, J = 8,8, 2,6 Hz, 1H), 5,84 – 5,78 (m, 1H), 5,21 (dd, J = 7,6, 4,0 Hz, 1H), 5,12 (q, J = 6,0 Hz, 1H), 4,50 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 4,18 – 3,02 (m, 3H), 3,00 – 3,81 (m, 4H), 3,76 – 3,70 (m, 1H), 3,59 (s, 1H), 3,52 – 3,42 (m, 2H), 3,42– 3,34 (m, 6H), 3,28– 3,20 (m, 2H), 3,14– 3,07 (m, 1H), 3,06 – 2,98 (m, 3H), 2,90– 2,74 (m, 7H), 2,70 – 2,62 (m, 4H), 2,62 – 2,56 (m, 1H), 2,44– 2,29 (m, 6H), 2,26– 2,17 (m, 1H), 2,16 – 2,09 (m, 1H), 2,00 – 1,90 (m, 1H), 1,89– 1,78 (m, 3H), 1,76– 1,64 (m, 3H), 1,44 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,21 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 0,95 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,92 – 0,82(m, 6H), 0,71 (s, 3H).

Ejemplo 17. Síntesis de (2S)-N-[(6S,8S,14S,20P)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-2-({3-[(2E)-4-fluorobut-2-enoil]-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil}(metilo)amino)-3-metilbutanamida



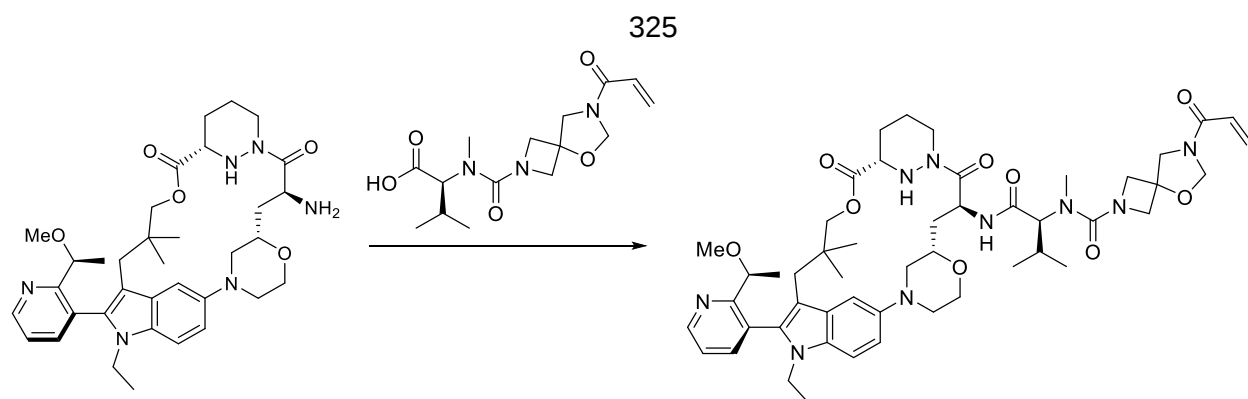
Paso 1. A una solución de ácido (2S)-2-[(3-{3-[(formiloxi)metil]fenil}-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il)carbonil(metil)amino]-3-metilbutanoico (308 mg, 0,71 mmol, 1,5 eq) y (6S,8S,14S)-8-amino-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-5,16-dioxo-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]}nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraeno-9,15-diona (300 mg, 0,47 mmol, 1 eq) en DMF (3 ml) se añadió DIEA (184 mg, 1,4 mmol, 3 eq) y HATU (216 mg, 0,57 mmol, 1,2 eq) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 h. La mezcla de reacción se inactivó con H₂O (30 ml), se extrajo con EtOAc (20 ml x 3) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (20 ml), salmuera (20 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄. La mezcla se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía para proporcionar formiato de [3-(8-{[(1S)-1-{[(6S,8S,14S)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxo-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]}nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]carbamoil}-2-metilpropil](metil)carbamoil}-1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decan-3-il)fenil]metilo (300 mg, rendimiento del 60 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z: 1048,5 [M+H]⁺; MW calculado: 1047,6

Paso 2. A una solución de formiato de [3-(8-{[(1S)-1-{[(6S,8S,14S)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxo-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]}nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]carbamoil}-2-metilpropil](metil)carbamoil}-1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decan-3-il)fenil]metilo (300 mg, 0,29 mmol, 1 eq) en i-PrOH (10 ml) se añadió Pd(OH)₂/C al 20 % (30 mg, 60 % de agua). La mezcla se agitó a 20 °C durante 20 min en una atmósfera de H₂ (15 psi). La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar (2S)-N-[(6S,8S,14S)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxo-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]}nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-3-metil-2-[metil({1-oxa-3,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)carbonil)amino]butanamida (200 mg, 61 % de

rendimiento) como un aceite marrón. ESI-MS m/z: 914,4 [M+H]⁺; MW calculado: 913,5

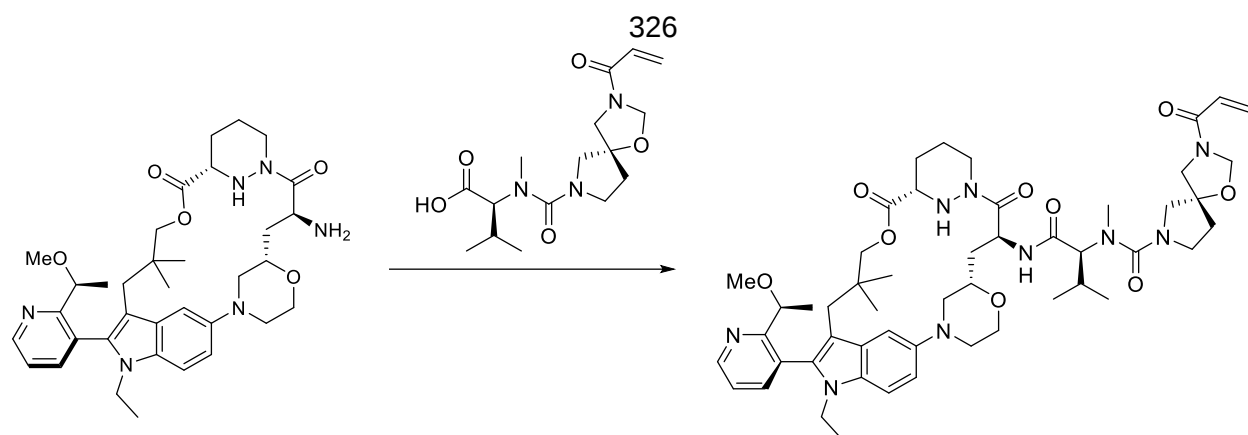
Paso 3. A una solución de (2S)-N-[(6S,8S,14S)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-3-metil-2-[metil({1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decan-8-il}carbonilo)amino]butanamida (200 mg, 0,22 mmol, 1 eq), ácido (2E)-4-fluorobut-2-enoico (23 mg, 0,22 mmol, 1 eq) y TEA (111 mg, 0,11 mmol, 5 eq) en DMF (3 ml) se añadió T₃P (278 mg, 0,44 mmol, 2 eq, EtOAc al 50 %) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 0,5 h. Después la mezcla de reacción se inactivó con agua (20 ml) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (15 ml x 4). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL x 4), se secaron en sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía para proporcionar (2S)-N-[(6S,8S,14S,20P)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-2-({3-[(2E)-4-fluorobut-2-enoil]-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]decano-8-carbonil}(metil)amino)-3-metilbutanamida (56,7 mg, rendimiento del 26 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z: 1000,6 [M+H]⁺; MW calculado: 999,6. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,74 (dd, J = 4,8, 1,6 Hz, 1H), 8,15 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 7,89 (dd, J = 8,0, 1,6 Hz, 1H), 7,54 (dd, J = 8,0, 4,8 Hz, 1H), 7,41 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,13 – 7,09 (m, 2H), 7,02 – 6,88 (m, 1H), 6,51 – 6,26 (m, 1H), 5,73 – 5,60 (m, 1H), 5,29 – 5,01 (m, 4H), 4,49 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 4,30 – 4,21 (m, 1H), 4,17 – 4,11 (m, 1H), 4,02 – 3,78 (m, 6H), 3,72 – 3,67 (m, 2H), 3,64 – 3,56 (m, 2H), 3,54 – 3,45 (m, 2H), 3,44 – 3,36 (m, 2H), 3,31 – 3,24 (m, 2H), 3,19 (s, 3H), 3,00 – 2,91 (m, 1H), 2,90 – 2,74 (m, 5H), 2,71 – 2,54 (m, 2H), 2,29 – 2,21 (m, 1H), 2,17 – 2,05 (m, 2H), 1,98 – 1,85 (m, 4H), 1,77 – 1,72 (m, 3H), 1,69 – 1,60 (m, 1H), 1,46 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 1,07 (t, J = 6,4 Hz, 3H), 0,96 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,91 (d, J = 7,6 Hz, 3H), 0,83 – 0,58 (m, 6H).

Ejemplo 18. Síntesis de (2S)-N-[(6S,8S,14S,20M)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-3-metil-2-{metil[7-(prop-2-enoil)-5-oxa-2,7-diazaspiro[3.4]octano-2-carbonil]amino}butanamida



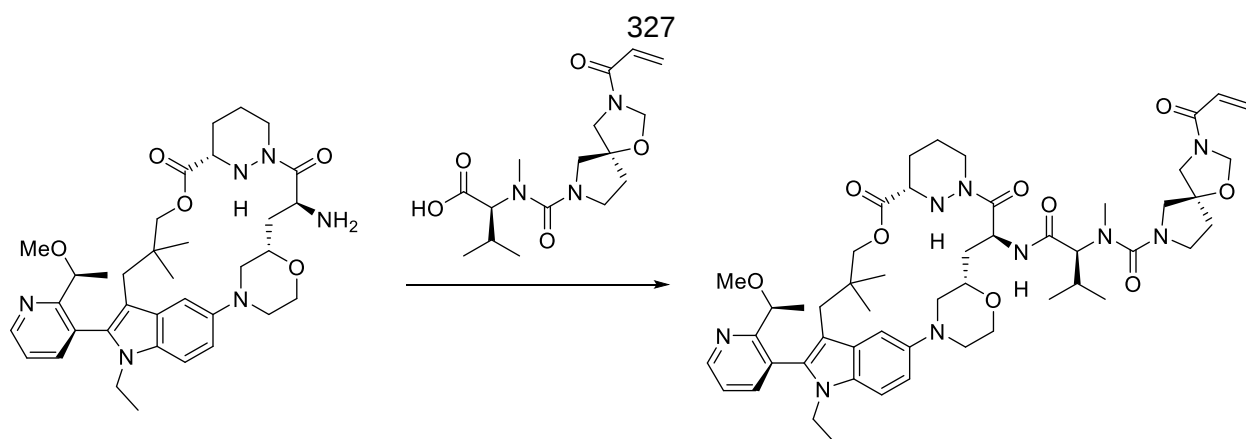
A una solución de (6S,8S,14S)-8-amino-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-5, 16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{4,10}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraeno-9,15-diona (250 mg, 0,40 mmol, 1,0 equiv.) y ácido (2S)-3-metil-2-{metil[7-(prop-2-enoil)-5-oxa-2,7-diazaspiro[3,4]octan-2-il]carbonilamino}butanoico (200 mg, 0,60 mmol, 1,5 equiv.) en DMF (4 ml) se añadió HATU (180 mg, 0,47 mmol, 1,2 equiv.) y DIEA (766 mg, 5,2 mmol, 15 equiv.) gota a gota a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó 0°C durante 1 h. La solución se purificó mediante cromatografía para proporcionar (2S)-N-[(6S,8S,14S,20M)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-3-metil-2-{metil[7-(prop-2-enoil)-5-oxa-2,7-diazaspiro[3,4]octano-2-carbonil]amino}butanamida (124,3 mg, rendimiento: 33 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z = 940,5 [M+H]⁺, MW calculado: 939,52 ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,71 (dd, J = 4,8, 1,6 Hz, 1H), 7,86 (dd, J = 7,6, 1,6 Hz, 1H), 7,51 (dd, J = 7,6, 4,8 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,16 – 7,05 (m, 2H), 6,61 – 6,27 (m, 2H), 5,86 – 5,76 (m, 1H), 5,67 – 5,58 (m, 1H), 5,18 (s, 1H), 5,09 (s, 1H), 4,46 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 4,29 – 4,19 (m, 3H), 4,18 – 4,10 (m, 3H), 4,07 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,99 – 3,90 (m, 3H), 3,89 – 3,82 (m, 1H), 3,82 – 3,78 (m, 2H), 3,77 – 3,66 (m, 2H), 3,54 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 3,16 (s, 3H), 2,94 (t, J = 10,8 Hz, 1H), 2,85 – 2,74 (m, 5H), 2,71 – 2,64 (m, 1H), 2,63 – 2,49 (m, 1H), 2,26 – 2,16 (m, 1H), 2,15 – 2,05 (m, 2H), 1,92 (d, J = 14,8 Hz, 2H), 1,81 – 1,69 (m, 1H), 1,68 – 1,56 (m, 1H), 1,44 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,33 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 1,04 (t, J = 6,8 Hz, 3H), 0,95 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,76 (s, 3H), 0,68 (s, 3H).

Ejemplo 19. Síntesis de (2S)-N-[(6S,8S,14S,20M)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-3-metil-2-{metil[(5S)-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonano-7-carbonil]amino}butanamida



A una solución de (6S,8S,14S)-8-amino-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraeno-9,15-diona (160 mg, 0,25 mmol, 1,0 equiv.) y ácido (2S)-3-metil-2-{metil[(5S)-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoico (137 mg, 0,4 mmol, 1,6 equiv.) en DMF (4 ml) se añadió HATU (115 mg, 0,3 mmol, 1,2 equiv.) y DIEA (490 mg, 3,7 mmol, 15,0 equiv.) gota a gota a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó 0°C durante 1 h. La solución se purificó mediante cromatografía para proporcionar (2S)-N-[(6S,8S,14S,20M)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-3-metil-2-{metil[(5S)-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonano-7-carbonil]amino}butanamida (65,5 mg, rendimiento: 27 %) como un sólido blanco. ESI-MS m/z = 954,5 [M+H]⁺, MW calculado: 953,54. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD δ 8,71 (dd, J = 4,8, 1,6 Hz, 1H), 7,86 (dd, J = 7,6, 1,6 Hz, 1H), 7,51 (dd, J = 7,6, 4,8 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,16 – 7,02 (m, 2H), 6,61 – 6,36 (m, 1H), 6,36 – 6,27 (m, 1H), 5,83 – 5,76 (m, 1H), 5,64 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,21 (dd, J = 11,2, 4,0 Hz, 1H), 5,11 (q, J = 6,0 Hz, 1H), 4,47 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 4,25 – 4,18(m, 1H), 4,17 – 4,12 (m, 1H), 4,04 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 3,97 – 3,64 (m, 11H), 3,55 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 3,50 – 3,40 (m, 2H), 3,26 (s, 1H), 3,15 (s, 3H), 2,98 – 2,75 (m, 6H), 2,68 – 2,49 (m, 2H), 2,25 – 2,15 (m, 2H), 2,15 – 2,01 (m, 3H), 1,92 (d, J = 14,8 Hz, 2H), 1,81 – 1,59 (m, 2H), 1,44 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 1,05 (t, J = 6,4 Hz, 3H), 1,00 – 0,85 (m, 6H), 0,80 – 0,60 (m, 6H).

Ejemplo 20. Síntesis de (2S)-N-[(6S,8S,14S,20M)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-3-metil-2-{metil[(5R)-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonano-7-carbonil]amino}butanamida



A una solución de (6S,8S,14S)-8-amino-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23,27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraeno-9,15-diona (160 mg, 0,25 mmol, 1,0 equiv.) y ácido (2S)-3-metil-2-{metil[3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanoico (103 mg, 0,30 mmol, 1,2 equiv) y DIPEA (653 mg, 5,1 mmol, 20 equiv) en DMF (1 mL) se añadió HATU (96 mg, 0,25 mmol, 1,0 equiv) a 0 °C, luego la mezcla se agitó a 0-5 °C durante 1 h. La mezcla se diluyó con EA (20 ml), después se lavó con agua (20 ml * 2) y salmuera (20 ml). Se recogió la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía para proporcionar (2S)-N-[(6S,8S,14S)-22-etil-21-{2-[(1S)-1-metoxietil]piridin-3-il}-18,18-dimetil-9,15-dioxo-5,16-dioxa-2,10,22,28-tetraazapentaciclo[18.5.2.1^{2,6}.1^{10,14}.0^{23, 27}]nonacosa-1(26),20,23(27),24-tetraen-8-il]-3-metil-2-{metil[(5R)-3-(prop-2-enoil)-1-oxa-3,7-diazaspiro[4.4]nonan-7-il]carbonilamino}butanamida (92 mg, rendimiento del 38 %) como un sólido blanquecino. ESI-MS m/z: 954,4 [M+H]⁺. MW calculado: 953,54. ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ 8,72 – 8,70 (m, 1H), 7,85 – 7,82 (m, 1H), 7,51 – 7,51 (m, 1H), 7,38 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,15 – 7,01 (m, 2H), 6,59 – 6,41 (m, 1H), 6,35 – 6,27 (m, 1H), 5,85 – 5,73 (m, 1H), 5,64 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 5,19 – 5,10 (m, 1H), 5,10 (s, 1H), 4,46 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 4,23 – 4,11 (m, 2H), 3,92 – 3,82 (m, 7H), 3,76 – 3,63 (m, 4H), 3,50 – 3,49 (m, 4H), 3,26 (s, 1H), 3,15 (s, 3H), 2,95 – 2,74 (m, 1H), 2,88 – 2,73 (m, 5H), 2,65 – 2,54 (m, 2H), 2,29 – 2,18 (m, 1H), 2,23 – 2,02 (m, 4H), 1,92 (d, J = 14,8 Hz, 2H), 1,73 – 1,62 (m, 2H), 1,43 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,10 – 1,02 (m, 3H), 0,94 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,60 – 0,50 (m, 6H).

Tabla 3: Ejemplos de compuestos preparados por métodos de la presente invención

Ej. n.º	Peso molecular (g/mol)	LCMS (ESI) m/z encontrado	Ej. n.º	Peso molecular (g/mol)	LCMS (ESI) m/z encontrado
A1	938,2	938,7	A106	1002,219	1002,5

Ej. n.º	Peso molecular (g/mol)	LCMS (ESI) m/z encontrado	Ej. n.º	Peso molecular (g/mol)	LCMS (ESI) m/z encontrado
A2	1080,38	1081,1	A107	1029,192	1029,6
A3	1078,39	1078,7	A108	954,183	954,4
A4	1071,378	1071,5	A109	1004,166	1004,8
A5	1109,35	1109,8	A110	1062,342	1062,9
A6	1087,396	1087,9	A111	1030,325	1030,9
A7	1031,164	1031,9	A112	1104,452	1104,5
A8	1055,379	1056,7	A113	888,083	888,4
A9	1040,31	1040,9	A114	954,183	954,5
A10	966,21	966,2	A115	1081,321	1081,9
A11	1000,29	1000,7	A116	992,155	992,7
A12	1006,182	1006,9	A117	1061,28	1062,7
A13	991,219	991,9	A118	995,211	995,4
A14	1087,396	1087,8	A119	979,26	979,9
A15	1073,369	1073,4	A120	1080,333	1080,8
A16	954,18	954,4	A121	952,211	952,4
A17	1047,25	1047,6	A122	1065,39	1065,8
A18	1014,161	1014,8	A123	938,115	938,8
A19	959,202	959,1	A124	974,217	974,7
A20	968,21	968,3	A125	1096,404	1097,0
A21	940,156	940,5	A126	1090,425	1090,7
A22	1066,306	1066,8	A127	995,211	995,8
A23	990,095	990,5	A128	984,228	984,5
A24	1010,198	1010,8	A129	1045,288	1045,6
A25	1000,134	1000,7	A130	996,264	996,5
A26	1006,182	1006,9	A131	1021,34	1021,3
A27	950,195	950,7	A132	955,16	955,4
A28	1033,35	1033,4	A133	986,272	986,8
A29	1018,149	1018,9	A134	1085,284	1085,8
A30	1100,315	1100,8	A135	935,155	935,5
A31	1016,298	1016,8	A136	954,183	954,7
A32	1069,285	1069,6	A137	1101,35	1101,9

Ej. n.º	Peso molecular (g/mol)	LCMS (ESI) m/z encontrado	Ej. n.º	Peso molecular (g/mol)	LCMS (ESI) m/z encontrado
A33	1018,149	1018,7	A138	1048,315	1048,9
A34	1064,334	1065,1	A139	994,227	994,7
A35	1014,326	1014,4	A140	992,155	992,7
A36	975,205	975,6	A141	1028,34	1029,5
A37	950,151	950,5	A142	977,192	977,7
A38	1009,307	1009,2	A143	1058,3	1058,7
A39	1065,322	1065,6	A144	1047,37	1047,9
A40	945,175	945,8	A145	1026,309	1026,5
A41	982,237	982,8	A146	938,2	938,4
A42	982,237	982,3	A147	1010,291	1010,5
A43	1092,397	1092,6	A148	1060,34	1060,4
A44	1066,359	1065,6	A149	934,123	934,7
A45	931,148	931,7	A150	1094,41	1095,0
A46	996,264	996,8	A151	976,25	976,5
A47	978,249	978,2	A152	1047,37	1047,8
A48	982,237	982,8	A153	938,2	938,4
A49	977,192	977,5	A154	997,24	997,5
A50	1083,389	1083,9	A155	1068,334	1068,9
A51	1031,357	1031,5	A156	1063,278	1063,5
A52	1062,371	1062,5	A157	1148,38	1148,5
A53	1097,416	1098,0	A158	1116,36	1116,6
A54	1019,346	1019,6	A159	992,276	992,5
A55	977,265	977,5	A160	950,21	950,5
A56	1019,346	1019,5	A161	1103,32	1104,0
A57	972,245	972,7	A162	1047,37	1047,6
A58	978,249	978,8	A163	1038,223	1038,8
A59	1049,251	1049,5	A164	938,2	938,5
A60	1111,443	1112,1	A165	1069,241	1069,6
A61	949,211	949,5	A166	1019,2	1019,7
A62	1097,416	1097,9	A167	1060,34	1060,4
A63	978,249	978,8	A168	950,21	950,9

Ej. n.º	Peso molecular (g/mol)	LCMS (ESI) m/z encontrado	Ej. n.º	Peso molecular (g/mol)	LCMS (ESI) m/z encontrado
A64	978,249	978,8	A169	931,192	931,5
A65	963,238	963,45	A170	950,21	950,8
A66	1006,182	1006,8	A171	955,27	955,5
A67	991,292	991,6	A172	1103,395	1103,6
A68	1000,227	1000,6	A173	1118,358	1118,4
A69	1021,318	1021,5	A174	1118,358	1118,4
A70	963,238	963,4	A175	955,27	955,5
A71	952,211	952,6	A176	1082,27	1082,4
A72	1023,309	1023,6	A177	964,222	964,4
A73	995,28	995,5	A178	964,222	964,4
A74	1017,33	1017,6	A179	1080,386	1080,4
A75	1060,399	1060,6	A180	1064,387	1064,4
A76	1041,3	1041,6	A181	1064,387	1064,4
A77	1035,345	1035,5	A182	979,184	979,5
A78	950,151	950,7	A183	1048,315	1048,8
A79	1018,149	1018,7	A184	950,21	950,7
A80	1023,334	1023,6	A185	986,272	986,9
A81	1005,319	1005,5	A186	996,264	996,3
A82	1023,334	1023,6	A187	1037,268	1037,7
A83	1100,464	1100,6	A188	1041,231	1041,7
A84	1009,307	1009,5	A189	995,28	995,9
A85	1114,37	1114,6	A190	1037,316	1037,8
A86	1032,316	1032,9	A191	975,205	975,8
A87	1027,297	1027,5	A192	1019,346	1019,8
A88	992,276	992,8	A193	978,249	978,7
A89	1057,323	1057,8	A194	1005,319	1005,6
A90	1008,275	1008,8	A195	977,265	977,6
A91	945,175	945,9	A196	978,249	978,7
A92	1037,34	1037,9	A197	991,292	991,4
A93	978,249	978,8	A198	1018,289	1018,9
A94	1006,182	1006,8	A199	981,253	981,5

Ej. n.º	Peso molecular (g/mol)	LCMS (ESI) m/z encontrado	Ej. n.º	Peso molecular (g/mol)	LCMS (ESI) m/z encontrado
A95	1034,288	1034,9	A200	1036,28	1036,9
A96	1059,29	1059,6	A201	1035,345	1035,5
A97	1063,38	1063,9	A202	1004,262	1004,5
A98	1012,263	1012,8	A203	981,253	981,5
A99	1064,36	1064,8	A204	1119,414	1119,9
A100	1050,33	1050,8	A205	980,265	980,5
A101	1062,39	1062,9	A206	1021,318	1021,6
A102	1064,36	1064,8	A207	1039,333	1039,5
A103	1034,34	1034,8	A208	993,28	993,8
A104	929,176	929,8	A209	1141,368	1141,8
A105	952,19	952,3			

Análisis de pares coincidentes

Las FIG. 1A-1B comparan la potencia en dos ensayos celulares diferentes de compuestos de Fórmula BB (puntos a la derecha) y compuestos correspondientes de Fórmula AA (puntos a la izquierda) en donde un hidrógeno (en la Fórmula AA) se reemplaza por (S)Me (en Fórmula BB). Los ejes y representan pERK EC50 (Figura 1A) o CTG IC50 (Figura 1B) según se mide en una línea celular H358. A continuación se encuentran los protocolos de ensayo. Los puntos unidos representan pares emparejados que difieren solamente entre H y la sustitución de (S)Me. De forma inesperada, cada compuesto de Fórmula BB demostró potencia incrementada en ensayos celulares en comparación con el correspondiente compuesto de Fórmula AA.

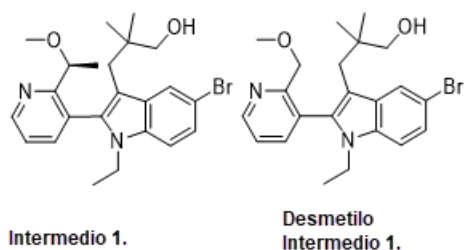
Estereoisómeros

Los compuestos de Fórmula I de la presente invención pueden formar estereoisómeros (por ejemplo, enantiómeros, diastereómeros o atropisómeros). Ciertos estereoisómeros de compuestos de la presente invención (por ejemplo, compuestos de Fórmula Ia) pueden tener actividad biológica mejorada (por ejemplo, una IC50 más baja en un ensayo de potencia pERK de K-Ras G12C o K-Ras G13C, una IC50 más baja en un ensayo de viabilidad celular, una IC50 más baja en un ensayo de unión de Raf-Ras, un mayor porcentaje de reticulación en un ensayo de reticulación de K-Ras G12C o K-Ras G13C, cualquier actividad mejorada medida mediante los ensayos biológicos descritos en el presente documento, o una combinación de tales propiedades) sobre otros isómeros. Por tanto, es deseable producir preparaciones que tengan una pureza estereoquímica aumentada.

Separación de atropisómeros

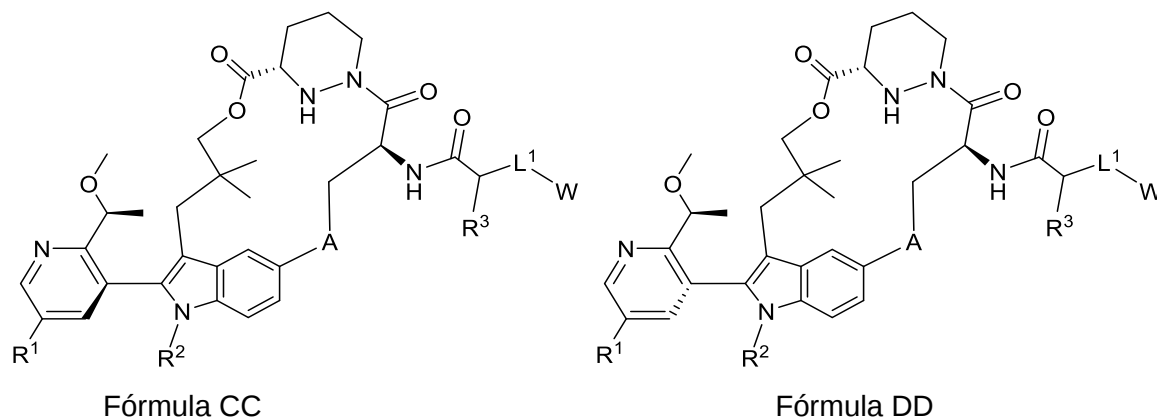
La adición de un grupo metilo (p. ej., un compuesto de Fórmula BB en la FIG. 1A o la FIG. 1B) produjo el beneficio inesperado de permitir la separación de atropisómeros. Como se muestra en la FIG. 2A, un compuesto de Fórmula AA (que contiene únicamente hidrógeno) muestra 2 atropisómeros inseparables y superpuestos. La adición de un grupo metilo para formar un compuesto de Fórmula BB permite que los atropisómeros se separen fácilmente mediante métodos de cromatografía convencionales (FIG. 2B). Dado que los compuestos ya eran diastereoméricos, fue inesperado que la adición de otro carbono estereogénico (mediante la adición del grupo metilo) permitiera una fácil separación.

Además, la presencia del grupo metilo en la Fórmula BB permitió la separación de atropisómeros del Intermedio 1. El Intermedio 1 contiene atropisómeros diastereoméricos, que se pueden separar por medios convencionales, mientras que el Intermedio desmetilo 1 requeriría una ardua separación de enantiómeros (por ejemplo, usando cromatografía quiral).



Actividad de esteroisómeros

Los compuestos de Fórmula I pueden formar atropisómeros que difieren en la estereoquímica del grupo piridilo, como se muestra en la Fórmula CC y la Fórmula DD.



Los atropisómeros de Fórmula CC y Fórmula DD exhiben diferentes potencias. En general, los atropisómeros que tienen la estereoquímica del piridilo de Fórmula CC demuestran una potencia aumentada sobre los compuestos correspondientes de Fórmula DD, como se muestra en la Tabla 4. Todos los ensayos de la Tabla 4 se realizan en una línea celular K-Ras G12C como se describe en el presente documento.

Tabla 4. Actividad del atropisómero

++ Cmp de Fórmula CC es más de 10 veces más potente que Cmp de Fórmula DD

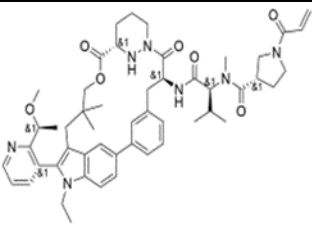
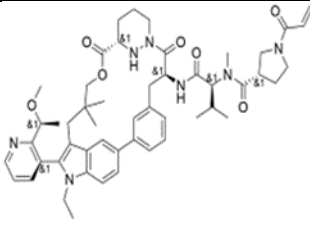
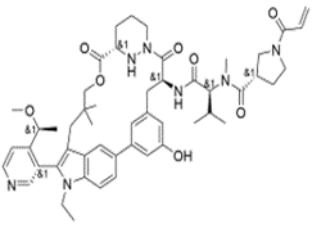
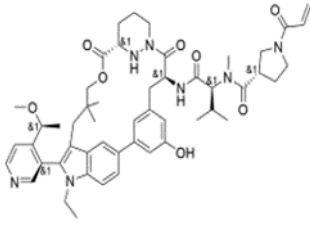
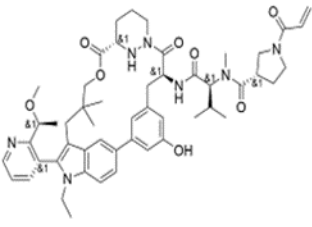
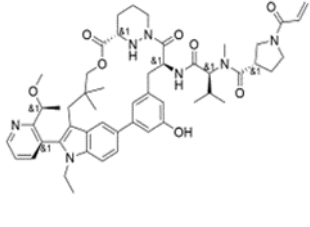
+ Cmp de Fórmula CC es de 1,1 a 10 veces más potente que Cmp de Fórmula DD

- Cmp de Fórmula DD es más potente que Cmp de Fórmula CC

Ej. n.º	Compuesto de Fórmula DD	Compuesto de Fórmula CC	MOA IC50	pERK IC50	Viabilidad celular 2D IC50
1			++	+	++
2			+	+	+
3			++	++	++
4			++	++	++

5			++	++	++
6			++	++	++
7			++	++	++
8			++	++	++
9			++	+	++
10			+	++	++
11			++	++	++

12			++	++	++
13			++	++	++
14			-	-	-
15			+	+	++
16			+	-	-
17			++	+	+
18			+	++	+

19			++	++	++
20			++	+	++
21			++	+	++

Ensayos biológicos

Todos menos 10 compuestos de la Tabla 1 en el presente documento exhibieron una IC_{50} de 1 μM o menos en el ensayo de potencia pERK H358 (K-Ras G12C) descrito a continuación. Diez compuestos excedieron 1 μM (A36, A37, A38, A121, A124, A128, A136, A189, A191, A192). El compuesto A130 tenía una IC_{50} superior a 0,89 μM . Los compuestos de la Tabla 1 en el presente documento exhibieron una IC_{50} de 3 μM o menos en el ensayo de potencia pERK MiaPaCa-2 (K-Ras G13C) descrito a continuación.

Todos menos 5 compuestos en la Tabla 1 exhibieron una IC_{50} inferior a 1 μM en un ensayo de viabilidad celular descrito a continuación (NCI-H358 (K-Ras G12C)). Cinco compuestos excedieron 1 μM (A38, A39, A128, A191, A192).

Todos los compuestos de la Tabla 1 mostraron una IC_{50} inferior a 3,5 μM en el ensayo de unión de Raf-Ras (FRET o MOA) que se describe a continuación con respecto a: K-Ras G12C. Todos menos 3 compuestos en la Tabla 1 exhibieron una IC_{50} inferior a 1,5 μM en el ensayo de unión de Raf-Ras (FRET o MOA) que se describe a continuación con respecto a: K-Ras G13C. Tres compuestos superaron los 1,5 μM (A169, A171, A175).

Todos los compuestos de la Tabla 1, excepto A168 y A170, mostraron un porcentaje de reticulación superior a 0 en un período de incubación de 4 horas en el ensayo de reticulación que se describe a continuación con respecto a K-Ras G12C o K-Ras G13C.

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 se puede aplicar 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 utilizando 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 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) utilizando configuraciones AlphaLISA estándar. 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 IC₅₀ mediante el ajuste de un modelo de respuesta de la concentración sigmoideal 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 incubaron 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 DRAQ5 (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 IC₅₀ mediante el ajuste de un modelo de respuesta de la concentración sigmoideal de 4 parámetros.

Con respecto a G13C, otro protocolo de ensayo pERK es el siguiente.

Aviso: 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-H358 (K-Ras G12C).

Las células MIA PaCa-2 KRAS G13C A12 se cultivaron y mantuvieron utilizando 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 concentración alta de 10, 1 o 0,1 mM. El día del ensayo, se agregaron 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) utilizando configuraciones AlphaLISA estándar. El análisis de los datos en bruto se llevó a cabo en Genedata Screener y Prism (GraphPad). Los datos se normalizaron mediante el siguiente cálculo: ((señal de muestra - control bajo promedio)/(DMSO promedio - control bajo promedio))*100. La señal se graficó en función del logaritmo de diez en diez de la concentración de compuesto, y se determinó la IC₅₀ mediante el ajuste de un modelo de respuesta de la concentración sigmoideal 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 incubaron 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 DRAQ5 (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 IC₅₀ mediante el ajuste de un modelo de respuesta de la concentración sigmoideal de 4 parámetros.

Determinación de viabilidad celular en líneas de células cancerosas de mutante 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 CO₂ 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-Glo® 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. Aviso: se pueden emplear otras isoformas de RAS (p. ej., NCI-H358 (K-Ras G12C), AsPC -1 (K-Ras G12D) y Capan-1 (K-Ras G12V)), aunque el número de células que se sembrarán variará según la línea celular utilizada).

El propósito de este ensayo celular fue determinar los efectos de los compuestos de prueba sobre la proliferación de líneas celulares de cáncer humano durante un período de tratamiento de 5 días cuantificando la cantidad de ATP presente en el punto final utilizando el reactivo CellTiter-Glo® 2.0 (Promega).

Las células se sembraron 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 CO₂ 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 CO₂ 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-Glo® 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 por compuestos de la invención (también denominado ensayo FRET o ensayo MOA)

Nota - el siguiente protocolo describe un procedimiento para monitorear una alteración de la unión de K-Ras G12C (GMP-PNP) a BRAF^{RBD} por un compuesto de la invención. Este protocolo también puede ejecutarse al sustituir otras proteínas Ras o nucleótidos.

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

ciclofilina 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 IC₅₀.

En un amortiguador de ensayo que contiene 25 mM de HEPES pH 7,3, Tween20 al 0,002%, BSA al 0,1%, 100 mM de NaCl y 5 mM de MgCl₂, Ciclofilina A sin etiqueta, 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, una mezcla de Anti-His Eu-W1024 y anti-GST alofococianina se agregó luego a los pocillos de muestra de ensayo a concentraciones finales de 10 nM y 50 nM, respectivamente y la reacción se incubó durante 1,5 horas adicionales. 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 - 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.

(Aviso: el siguiente protocolo describe un procedimiento para monitorear la reticulación de K-Ras G12C (GMP-PNP) con un compuesto de la invención. *Este protocolo puede también ejecutarse sustituyendo otras proteínas Ras o nucleótidos*).

El propósito de este ensayo bioquímico fue medir la capacidad de los compuestos de prueba para etiquetar las isoformas K-Ras cargadas con *nucleótidos*. En amortiguador de ensayo que contiene 12,5 mM HEPES pH 7,4, 75 mM NaCl, 1 mM MgCl₂, 1 mM BME, 5 µM Ciclofilina A y 2 µM compuesto de prueba, una solución 5 µM de K-Ras (1-169) G12C cargado con GMP-PNP se diluyó 10 veces para proporcionar una concentración final de 0,5 µM; con volumen de muestra final de 100 µL.

La muestra se incubó a 25 °C durante un período de tiempo de hasta 24 horas antes de inactivarse por la adición de 10 µL de 5 % ácido fórmico. Las muestras inactivadas se centrifugaron a 15000 rpm durante 15 minutos en una centrífuga de laboratorio antes de inyectar una alícuota de 10 µL en una columna C4 de fase inversa y eluyendo en el espectrómetro de masas con un gradiente 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 puede evaluar en CrownBio usando métodos estándar. Brevemente, las líneas celulares se cultivan en medio adecuado y luego se colocaron en placas en metilcelulosa 3D. La inhibición del crecimiento celular se determina por CellTiter-Glo® después de 5 días de cultivo con concentraciones cada vez mayores de compuestos.

5 La potencia del compuesto se informa 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 cosechan durante el crecimiento logarítmico y se suspendieron en medio de cultivo a 1×10^5 células/ml. Se usan 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 %
10 con metilcelulosa al 1 %, lo que resultó en una suspensión celular en metilcelulosa al 0,65 %. Se distribuyen 90 μ l de esta suspensión en los pocillos de 2 placas de 96 pocillos. Una placa se usa para la lectura del día 0 y 1 placa se usa para el experimento de punto final. Las placas se incuban durante la noche a 37 C con CO2 al 5 %. El día 2, una placa (para lectura t0) se retira y se agrega 10 μ l de medio de crecimiento más 100 μ l de reactivo CellTiter-Glo® a cada pocillo. Luego de
15 mezclar y de una incubación de 10 minutos, la luminiscencia se registra en un lector EnVision Multi-Label Reader (Perkin Elmer). Los compuestos en DMSO se diluyen en medio de crecimiento de modo que la concentración final máxima del compuesto sea 10 μ M, y se realizan diluciones seriales 4 veces para generar una serie de concentración de 9 puntos. Se agregan 10 μ l de solución de compuesto a una concentración final de 10 veces a los pocillos en la segunda placa. Las placas se
20 incuban entonces durante 120 horas a 37C CO2 al 5 %. El día 7 las placas se retiran, se agregan 100 μ l de reactivo CellTiter-Glo® a cada pocillo y, luego de mezclar y de una incubación de 10 minutos, la luminiscencia se registra en un lector EnVision Multi-Label Reader (Perkin Elmer). Los datos se exportan a GeneData Screener y se modelaron con un modelo de respuesta de concentración sigmoideal para determinar la IC50 para la respuesta del compuesto.

25 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 G12C de KRAS, es insensible al inhibidor G12C de KRAS (OFF) MRTX-849 (Hallin et al., Cancer
30 Discovery 10:54-71 (2020)), y la línea celular SW1573, que es insensible al inhibidor G12C de KRAS (OFF) AMG510 (Canon et al., Nature 575:217-223 (2019)).

Si bien la invención se ha descrito con relación a modalidades específicas de esta, se entiende que pueden realizarse modificaciones adicionales y la presente solicitud pretende abarcar
35 cualesquiera variantes, usos o adaptaciones de la invención siguiendo, en general, los principios de

la invención e incluye las desviaciones de la presente descripción como sucede en la práctica conocida o habitual dentro de la técnica a la que se refiere la invención y puede aplicarse a las características esenciales establecidas en la presente.

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patentes, incluida la solicitud de prioridad de EE. UU. n.º 63/184,599, se incorporan en su totalidad al presente documento mediante referencia en la misma medida que si se indicara la incorporación específica e individual de cada publicación, patente o solicitud de patente en su totalidad mediante referencia.

5

10

15

20

25

30

35