COMPUESTO INDUCTOR DE LA DEGRADACIÓN DE PLK1 NOVEDOSO

Campo técnico

La presente divulgación se refiere a un compuesto inductor de la degradación de PLK1 novedoso, a un método para preparar el mismo y al uso del mismo. Puede actuar específicamente sobre células anómalas, etc., y puede usarse de manera útil en el tratamiento de diversas enfermedades mediante la degradación eficiente de PLK1.

Técnica antecedente

La cinasa tipo polo 1 (PLK1) es una serina/treonina cinasa implicada en la conversión de la fase G2/M durante el crecimiento y la división celular. PLK1 se expresa y se activa en forma de pulso desde la fase S hasta la fase G2/M y se degrada rápidamente cuando finaliza la mitosis.

PLK1 se sobreexpresa en diversos carcinomas, tales como cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga y melanoma, etc., y las células cancerosas que sobreexpresan PLK1 tienden a mostrar resistencia a diversos tipos de fármacos anticancerosos. Como se reveló la dependencia de PLK1 en diversos carcinomas como se ha descrito anteriormente, ha habido intentos de desarrollar compuestos inhibidores de PLK1 tales como volasertib (también conocido como BI6727), etc.

Sin embargo, los inhibidores de PLK1 convencionales no inhiben suficientemente la actividad de PLK1 en concentraciones que sean clínicamente seguras. Por lo tanto, existe el problema de que incluso si el ciclo celular de las células cancerosas se retrasa temporalmente, algunas células cancerosas eventualmente reinician el ciclo celular, lo que puede no obtener suficientes

efectos clínicos (véase Gheghiani *et al*., Cell Reports, 2017, etc.). De hecho, muchas compañías farmacéuticas tales como Boehringer Ingelheim, GlaxoSmithKline, etc., han intentado desarrollar inhibidores de PLK1 a base de compuestos de pequeño peso molecular, pero la mayoría de ellos han fracasado o se han detenido en la etapa de ensayo clínico, por lo que hasta la fecha no hay ningún inhibidor de PLK1 disponible comercialmente. Muestra que el mecanismo farmacológico que sigue el método para inhibir la actividad enzimática mediante la unión al sitio activo de PLK1 como los inhibidores de compuestos de molécula pequeña no es suficientemente eficaz en el desarrollo de nuevos fármacos destinados a obtener efectos anticancerosos mediante la inhibición de la actividad de PLK1 de las células cancerosas.

Recientemente, se ha propuesto una quimera dirigida a la proteólisis (PROTAC) como una tecnología de plataforma a base de moléculas pequeñas capaz de inducir la proteólisis de una proteína diana en el cuerpo. PROTAC es un compuesto bifuncional en el que una molécula de ligando que se une a una proteína diana relacionada con la enfermedad y un resto de unión a ubiquitina ligasa E3 están unidos mediante un enlazador químico. En teoría, el compuesto PROTAC es capaz de inducir la degradación de la proteína diana colocando la proteína diana relacionada con la enfermedad cerca de la ubiquitina ligasa E3. Basándose en este nuevo mecanismo diferente de los inhibidores existentes, se han desarrollado muchos compuestos PROTAC como agentes terapéuticos para el cáncer y enfermedades inflamatorias, etc., y se están estudiando con diversas extensibilidades (por ejemplo, como cargas útiles de ADC (conjugados anticuerpo-fármaco)). Sin embargo, no muestra actividad en ninguno de los intervalos de restos de unión o enlazadores, y para que PROTAC exhiba el nivel

deseado de eficacia, se sabe a través de varios estudios que cada resto de unión y enlazador debe tener una estructura unida apropiadamente (véase el documento US2020-0325130A). En particular, en el caso de la fracción dirigida a la ligasa CRBN(Cereblon) E3, dependiendo del tipo de resto de unión o de la estructura del compuesto unido al mismo, existe el riesgo de degradar el neosustrato CRBN (GSPT1, IKZF1/3, etc.) o mostrar toxicidad inespecífica en consecuencia. Por lo tanto, es importante seleccionar restos de unión apropiados y optimizar la estructura de todo el compuesto para no exhibir una toxicidad inesperada durante el desarrollo del fármaco PROTAC.

En el caso del compuesto PROTAC que usa PLK1 como proteína diana, la patente china N.º 106543185 A abierta a inspección pública divulga algunos compuestos bifuncionales en los que un compuesto derivado de volasertib y un resto de unión para la ubiquitina ligasa E3 CRBN están unidos mediante un enlazador químico. Sin embargo, el documento de la técnica relacionada simplemente describe algunas formas limitadas de ejemplos de síntesis de compuestos PROTAC, en donde, en general, la actividad de degradación objetivo y la selectividad de PROTAC pueden variar significativamente dependiendo de la selección del resto de proteína diana, el resto de unión a ubiquitina ligasa E3, y similares (véanse Burslem y Crews, 2017, etc.).

Además, el compuesto PROTAC descrito en el documento descrito anteriormente se caracteriza por un compuesto que degrada simultáneamente PLK1 y BRD4, y degrada diversas proteínas tales como otras proteínas de la familia PLK y BRD4, etc.), lo que puede causar efectos secundarios debido a toxicidades inespecíficas en el momento del desarrollo del fármaco. En particular, se sabe que una fuerte inhibición de la actividad de BRD4 acompaña

inevitablemente a la toxicidad específica, tal como toxicidad sanguínea y toxicidad gastrointestinal, junto con efectos farmacológicos. Por lo tanto, se espera que el compuesto PROTAC descrito en el documento anterior se enfrente a mayores efectos secundarios clínicos a medida que se degrada más proteína BRD4 (véase Bolden *et al*. Cell Reports, 2014).

Además, de acuerdo con el documento publicado por los inventores del documento anterior (véase Mu *et al*. BBRC, 2019), se puede confirmar que el compuesto PROTAC, que degrada simultáneamente PLK1 y BRD4, tiene una capacidad de degradación de BRD4 mucho mayor que la capacidad de degradación de PLK1 a nivel celular, y el ciclo celular del mismo casi se detiene en la fase G1, etc., es decir, el compuesto PROTAC en realidad actúa sólo como un inhibidor de BRD4 independientemente de la forma en que los inhibidores de PLK1 convencionales ejercen efectos farmacológicos.

Por lo tanto, existe una demanda insatisfecha de un compuesto inductor de la degradación de PLK1 eficaz sin efectos secundarios o con efectos secundarios mínimos. (por ejemplo, toxicidad inespecífica)

Divulgación de la Invención

Problema técnico

Un objeto de la presente divulgación es proporcionar compuestos inductores de la degradación de PLK1 novedosos.

Otro objeto de la presente divulgación es proporcionar un método para preparar los compuestos.

Otro objeto más de la presente divulgación es proporcionar un uso de los compuestos.

Solución al problema

Para lograr los objetos descritos anteriormente, los presentes inventores realizaron un exhaustivo estudio, y como resultado, encontraron que los compuestos PROTAC novedosos de la presente invención actúan específicamente sobre células anómalas que sobreexpresan PLK1 a través de una combinación estructural apropiada y la optimización del aglutinante de la ligasa E3, el resto de unión a la diana y el Enlazador para inducir la degradación eficaz de PLK1 y minimizar los efectos secundarios, y completaron la presente invención.

Compuestos inductores de degradación selectiva de PLK1

La presente divulgación proporciona compuestos novedosos que inducen una degradación eficaz de la cinasa 1 tipo polo (PLK1). Específicamente, la presente divulgación proporciona un compuesto bifuncional en el que un resto de unión a PLK1 y un resto de unión a ubiquitina ligasa E3 están unidos mediante un enlazador químico.

En un aspecto general, se proporciona un compuesto representado por la siguiente Fórmula I, un estereoisómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

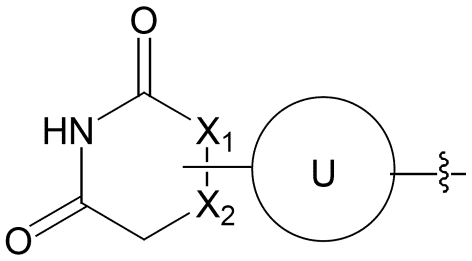
[Fórmula I]

ULM—Enlazador— PTM

en la Fórmula I anterior,

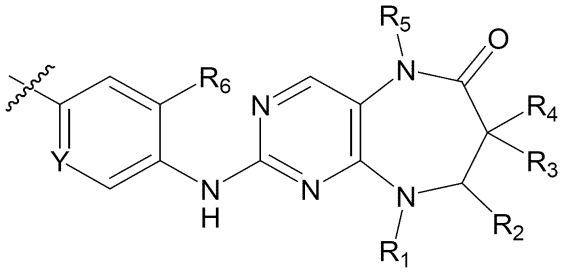
ULM es un resto representado por la siguiente Fórmula 1;

[Fórmula 1]



PTM es un resto representado por la siguiente Fórmula 2;

[Fórmula 2]



El Enlazador es un grupo que se une químicamente a ULM y PTM;

X_1 y X_2 son cada uno independientemente CH_2, CH o N;

el anillo U es fenilo o heteroarilo de 5 a 6 miembros unido a X_1 o X_2 {en donde al menos un H del anillo fenilo o heteroarilo de 5 a 6 miembros puede estar sustituido por R_U};

R_U es -alquilo C_{1-4}, -hidroxialquilo C_{1-4}, -aminoalquilo C_{1-4}, -haloalquilo C_{1-4}, -alcoxi C_{1-4} o -halo;

Y es CR_7 o N;

R_1 es -alquilo C_{1-4};

R_2 es -H o -alquilo C_{1-4}, o está unido con R_1 para formar un anillo de 5 a 6 miembros junto con un átomo de N;

R_3 y R_4 son cada uno independientemente -H, -alquilo C_{1-4} o -halo, o R_3 y R_4 están unidos entre sí para formar un anillo de 3 a 6 miembros;

R_5 es -alquilo C_{1-4};

R_6 es -alquilo C_{1-4}, -hidroxialquilo C_{1-4}, -aminoalquilo C_{1-4}, -haloalquilo C_{1-4},

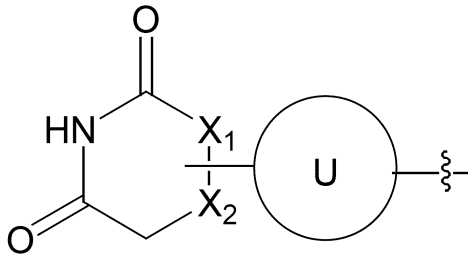
$_4$, -alcoxi C_{1-4} o -halo; y

R_7 es -H o -halo.

En una realización de la presente divulgación,

ULM es un resto representado por la siguiente Fórmula 1;

[Fórmula 1]



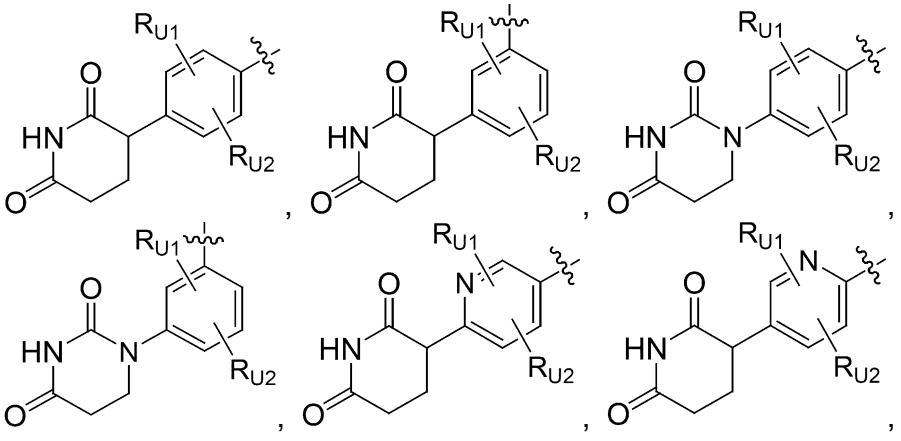
X_1 y X_2 son cada uno independientemente CH_2, CH o N;

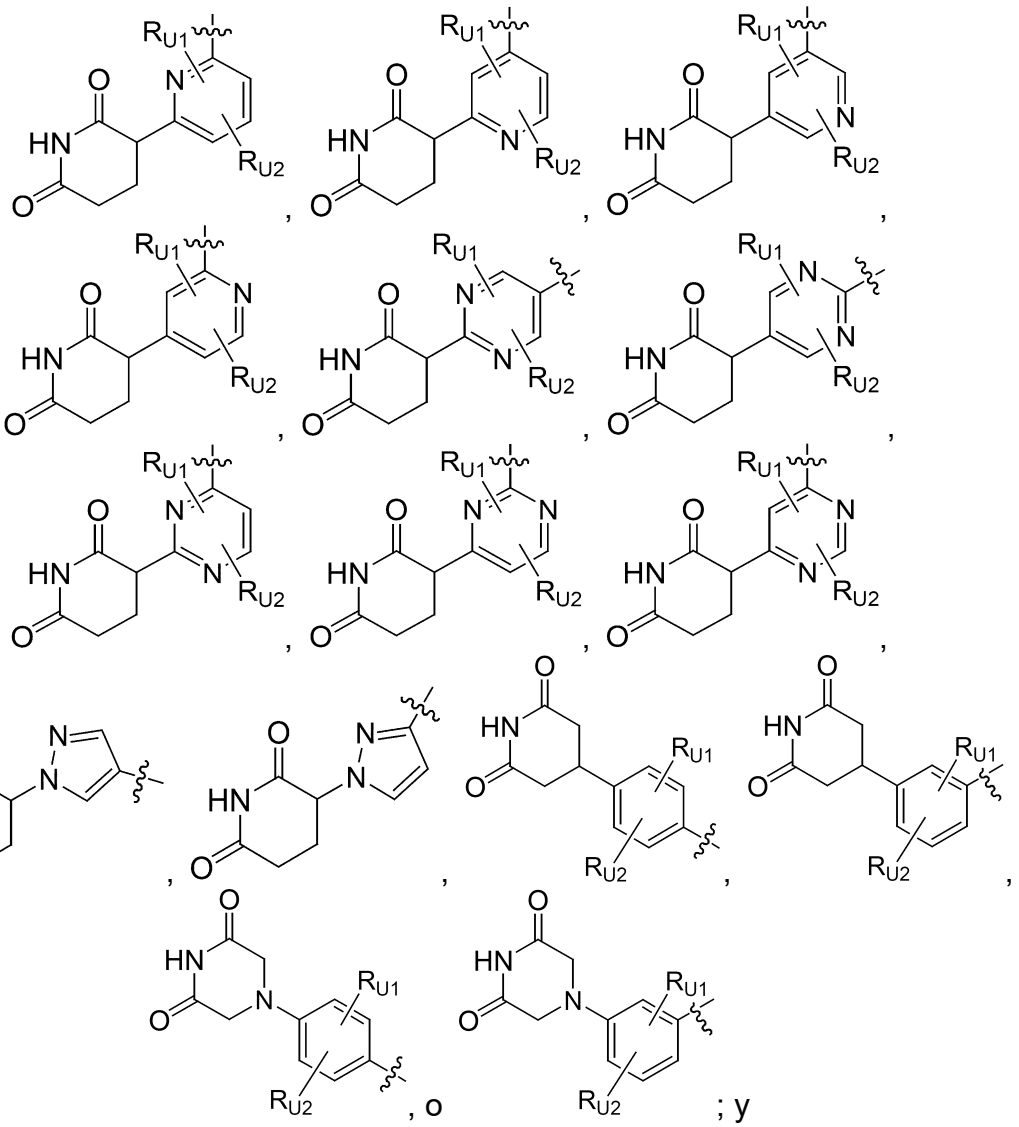
el anillo U es fenilo, piridinilo, pirimidinilo o pirazolilo unido a X_1 o X_2 {en donde al menos un H del anillo fenilo, piridinilo, pirimidinilo o pirazolilo puede estar sustituido por R_U}; y

R_U es -alquilo C_{1-4}, -haloalquilo C_{1-4}, -alcoxi C_{1-4} o -halo.

En una realización de la presente divulgación,

ULM es



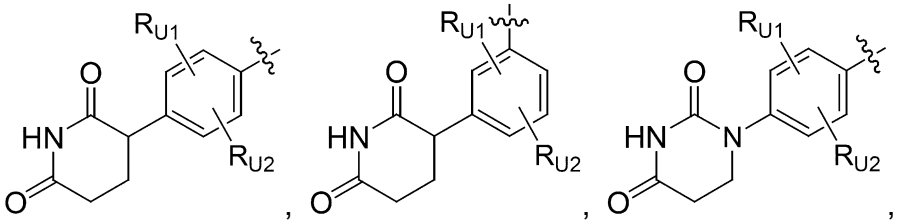


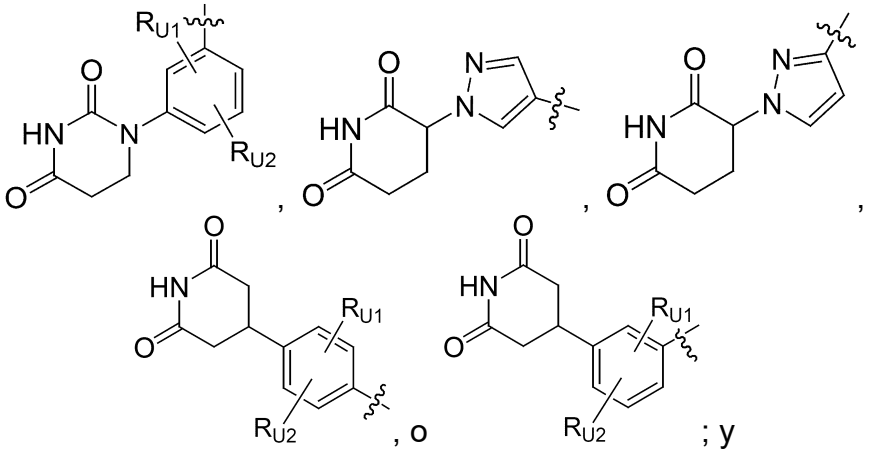
, o ; y

R_{U1} y R_{U2} son cada uno independientemente -alquilo C_{1-4}, -haloalquilo C_{1-4}, -alcoxi C_{1-4} o -halo.

En una realización de la presente divulgación,

ULM es



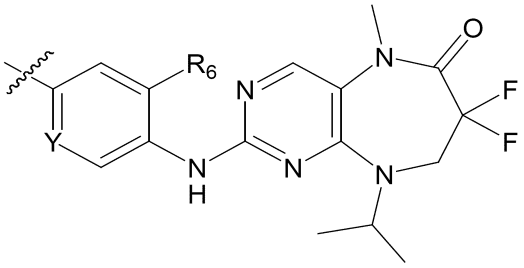


, o ; y

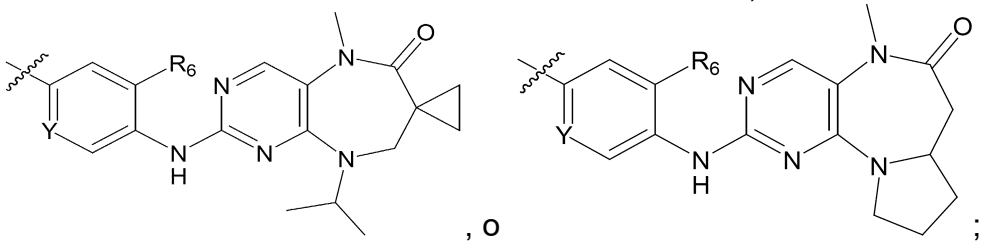
R_{U1} y R_{U2} son cada uno independientemente -alquilo C_{1-4}, -haloalquilo C_{1-4}, -alcoxi C_{1-4} o -halo.

En una realización,

PTM es



,



, o ;

Y es CH, CF o N; y

R_6 es -alquilo C_{1-4}, -alcoxi C_{1-4} o -halo.

En una realización de la presente divulgación,

el Enlazador es -L_U-L_1-L_2-L_3-L_P-;

L_U es -(CH_2)x-, -(CH_2)x-NH-, -(CH_2)x-O-, -C(=O)-, fenilo o nada (inválido) {en donde L_U está unido con ULM [cuando L_U no es nada (inválido), L_1 está unido

directamente con ULM], y x es 0, 1, 2, 3 o 4};

L_1 es heterocicloalquilo o nada (inválido) {en donde, cuando L_1 no es nada (inválido), L_U y L_2 están unidos directamente, el heterocicloalquilo contiene al menos un átomo de N en el anillo, y al menos un H del anillo heterocicloalquilo puede estar sustituido por -alquilo C_{1-4}, -haloalquilo C_{1-4}, -alcoxi C_{1-4}, -OH, -halo u =O};

L_2 es $-(CH_2)y_1-$, $-(CD_2)y_1-$, $-(CH_2)y_2-C(=O)-(CH_2)y_3-$, $-(CH_2)y_2-NH-(CH_2)y_3-$ o $-(CH_2)y_2-N(\text{alquil } C_{1-4})-(CH_2)y_3-$ {en donde y_1 a y_3 son cada uno independientemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6};

L_3 es cicloalquilo, heterocicloalquilo o nada (inválido) {en donde, cuando L_3 no es nada (inválido), L_2 y L_p están unidos directamente, el heterocicloalquilo contiene al menos un átomo de N en el anillo, y al menos un H del anillo cicloalquilo o heterocicloalquilo puede estar sustituido por -alquilo C_{1-4}, -haloalquilo C_{1-4} o -halo}; y

L_P es $-(CH_2)p-NH-C(=O)-$ o $-(CH_2)p-O-C(=O)-$ {en donde -(C=O)- de L_P está unido con PTM, y p es 0, 1 o 2}.

En una realización de la presente divulgación,

L_U es $-(CH_2)x-$, $-(CH_2)x-O-$, -C(=O)-, fenilo o nada (inválido) {en donde L_U está unido con ULM [cuando L_U no es nada (inválido), L_1 está unido directamente con ULM], y x es 0 o 1};

L_1 es heterocicloalquilo de 4 a 12 miembros o nada (inválido) {en donde, cuando L_1 no es nada (inválido), L_U y L_2 están unidos directamente, el heterocicloalquilo de 4 a 12 miembros es un anillo sencillo, un anillo bicíclico puenteado o un anillo espiro, el heterocicloalquilo de 4 a 12 miembros contiene al menos un átomo de N en el anillo, el átomo de N está unido directamente con

L_U o ULM, y al menos un H del anillo heterocicloalquilo de 4 a 12 miembros puede estar sustituido por -alquilo C_{1-4}, -OH, -halo u =O};

L_2 es $-(CH_2)y_1-$, $-(CH_2)y_2-C(=O)-(CH_2)y_3-$, $-(CH_2)y_2-NH-(CH_2)y_3-$ o $-(CH_2)y_2-N$(alquil C_{1-4})$-(CH_2)y_3-$ {en donde y_1 a y_3 son cada uno independientemente 0, 1, 2 o 3}

L_3 es cicloalquilo de 4 a 6 miembros, heterocicloalquilo de 4 a 12 miembros o nada (inválido) {en donde, cuando L_3 no es nada (inválido), L_2 y L_p están unidos directamente, el heterocicloalquilo de 4 a 12 miembros es un anillo sencillo, un anillo bicíclico puenteado o un anillo espiro, el heterocicloalquilo de 4 a 12 miembros contiene al menos un átomo de N en el anillo, y al menos un H del anillo cicloalquilo de 4 a 6 miembros o heterocicloalquilo de 4 a 12 miembros puede estar sustituido por -halo}; y

L_P es $-(CH_2)p-NH-C(=O)-$ o $-(CH_2)p-O-C(=O)-$ {en donde (C=O) de L_P está unido con PTM, y p es 0 o 1}.

En una determinada realización de la presente divulgación, el compuesto representado por la Fórmula I es un compuesto que se selecciona del grupo que consiste en los Compuestos 1 a 59.

En la presente divulgación, una sal farmacéuticamente aceptable se refiere a cualquier sal de adición de ácido orgánico o inorgánico con una concentración que sea relativamente no tóxica, sea inofensiva y tenga una acción eficaz para los pacientes, en donde los efectos secundarios causados por esta sal no deterioran la eficacia beneficiosa del compuesto representado por la Fórmula I. Por ejemplo, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido nítrico o similares, o un ácido orgánico tal como ácido metanosulfónico, ácido *p*-

toluenosulfónico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido maleico, ácido succínico, ácido oxálico, ácido benzoico, ácido tartárico, ácido fumárico, ácido mandérico, ácido propiónico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido glicólico, ácido glucónico, ácido galacturónico, ácido glutámico, ácido glutárico, ácido glucurónico, ácido aspártico, ácido ascórbico, ácido carbónico, ácido vanílico o ácido yodhídrico, pero sin limitarse a los mismos.

Uso de compuestos inductores de la degradación selectiva de PLK1

Una realización de la presente divulgación es una composición para inducir la degradación de PLK1 que incluye un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Fórmula I es la misma que se ha definido anteriormente.

En los ejemplos experimentales de la presente divulgación, se confirmó que los compuestos de la presente divulgación inducen eficazmente la degradación de proteínas de PLK1.

El compuesto PROTAC inductor de la degradación de PLK1 de la presente divulgación es capaz de degradar fundamentalmente la proteína diana, PLK1 en vista del mecanismo de acción, logrando así un excelente efecto inhibidor de PLK1 en comparación con el inhibidor de molécula pequeña de PLK1 convencional que inhibe la actividad simple de PLK1.

Por consiguiente, la composición que incluye el compuesto representado por la Fórmula I de la presente divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede emplearse eficazmente para la degradación selectiva de PLK1.

Una realización de la presente divulgación es una composición para prevenir o tratar enfermedades relacionadas con PLK1 que incluye el compuesto

representado por la Fórmula I o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Otra realización de la presente divulgación es un método para la prevención o el tratamiento de enfermedades relacionadas con PLK que comprende administrar la composición a un sujeto que lo necesite. La Fórmula I es la misma que se ha definido anteriormente.

En la presente divulgación, la enfermedad relacionada con PLK1 se refiere a cualquier enfermedad o afección que puede tratarse, aliviarse, retrasarse, inhibirse o evitarse mediante la inducción de la degradación o la inhibición de la actividad de PLK1. En una realización, la enfermedad relacionada con PLK1 puede ser un cáncer (tumor maligno), un tumor benigno, una enfermedad neurológica u otras enfermedades genéticas o no genéticas causadas por una división celular excesiva.

El cáncer incluye todos los cánceres capaces de exhibir eficacia profiláctica o terapéutica debido a la inhibición de la actividad de PLK1, y puede ser un cáncer sólido o un cáncer de la sangre. Por ejemplo, el cáncer puede ser uno o más seleccionados del grupo que consiste en carcinoma escamocelular, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma escamocelular de pulmón, cáncer peritoneal, cáncer de piel, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer de recto, cáncer del músculo anal, cáncer de esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer endocrino, cáncer paratiroideo, cáncer suprarrenal, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de uretra, leucemia crónica o aguda, linfoma linfocítico, carcinoma hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, tumor de hígado, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de

endometrio o del útero, cáncer de glándulas salivales, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de cerebro, osteosarcoma, tumor sólido, cáncer de sangre, cáncer óseo, linfoma de células grandes, tumor adrenocorticoide, leucemia/linfoma de linfocitos t, cáncer neuroendocrino, tumor neuroendocrino, colangiocarcinoma, neuroblastoma, glioblastoma, glioma y similares, pero sin limitarse a los mismos. El cáncer no solo incluye el cáncer primario, sino también el cáncer metastásico.

Los tumores benignos incluyen todos los tumores benignos capaces de exhibir eficacia profiláctica o terapéutica debido a la inhibición de la actividad de PLK1, tales como tumores benignos en estadios precancerosos, y pueden ser tumores sólidos o tumores sanguíneos. Por ejemplo, el tumor puede ser uno o más seleccionados del grupo que consiste en esófago de Barrett, adenoma y pólipo de colon, fibroadenoma y quiste de mama, gammapatía monoclonal de significado indeterminado (MGUS, por sus siglas en inglés), linfocitosis monoclonal y similares, pero sin limitarse a los mismos.

Las enfermedades neurológicas incluyen todas las enfermedades neurológicas capaces de exhibir eficacia profiláctica o terapéutica debido a la inhibición de la actividad de PLK1 y, específicamente, pueden ser una o más seleccionadas del grupo que consiste en enfermedad del sistema nervioso central, enfermedad neurodegenerativa, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, enfermedad de Huntington, demencia senil, epilepsia, Lou Gehrig, accidente cerebrovascular y daño a los nervios y trastornos relacionados con la degeneración axonal después de una lesión cerebral o de la médula espinal, pero sin limitarse a los mismos.

La composición farmacéutica de la presente divulgación puede incluir

además uno o más principios activos que exhiban efectos medicinales iguales o similares además del compuesto representado por la Fórmula I anterior, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una realización de la presente divulgación es un método para degradar PLK1 mediante la administración de un compuesto representado por la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a mamíferos, incluidos seres humanos.

Otra realización de la presente divulgación es un método para degradar PLK1 mediante la administración del compuesto representado por la Fórmula I, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a una muestra *in vitro*. La muestra puede ser una célula, un cultivo celular, un fluido corporal o tejido de un mamífero, incluido un ser humano, pero sin limitarse a los mismos.

【Efectos ventajosos de la invención】

Los compuestos de la presente divulgación exhiben un efecto de inducción de la degradación de PLK1. Por lo tanto, los compuestos de la presente divulgación pueden utilizarse eficazmente para prevenir o tratar enfermedades relacionadas con PLK1.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra los resultados del ensayo de luciferasa mediante el tratamiento del Compuesto 1 al Compuesto 25 de la presente invención.

La figura 2 muestra los resultados del ensayo de luciferasa mediante el tratamiento del Compuesto 26 al Compuesto 59 de la presente invención.

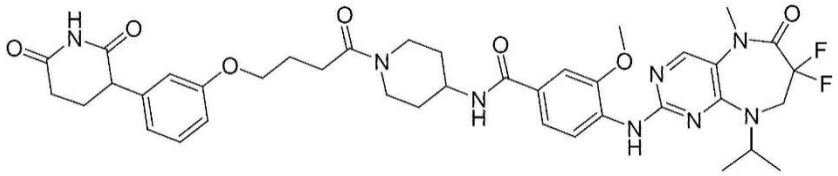
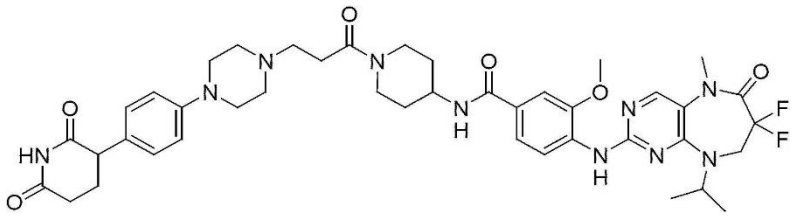
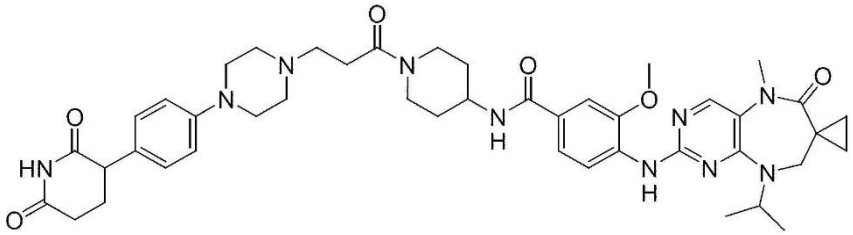
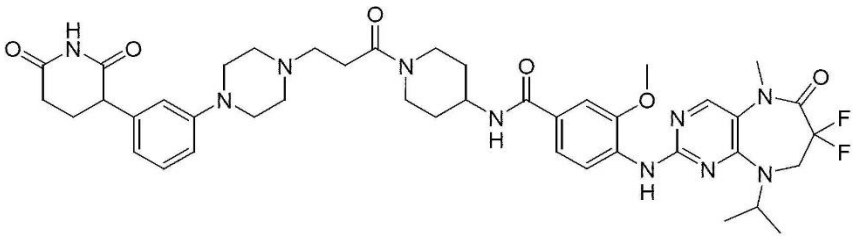
Mejor modo para llevar a cabo la invención

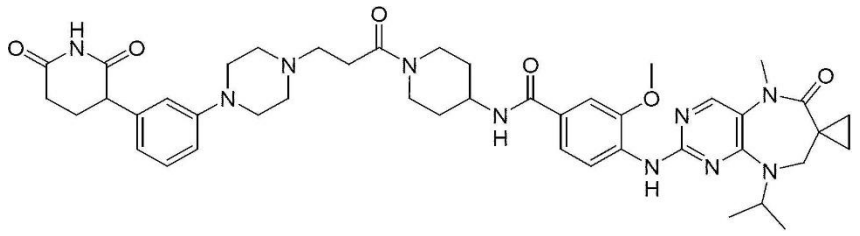
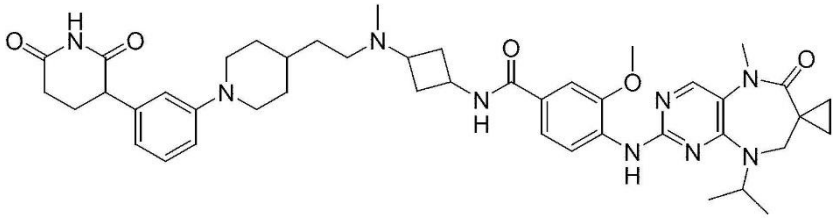
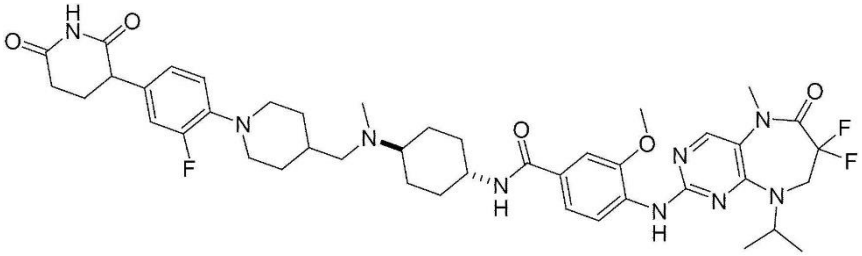
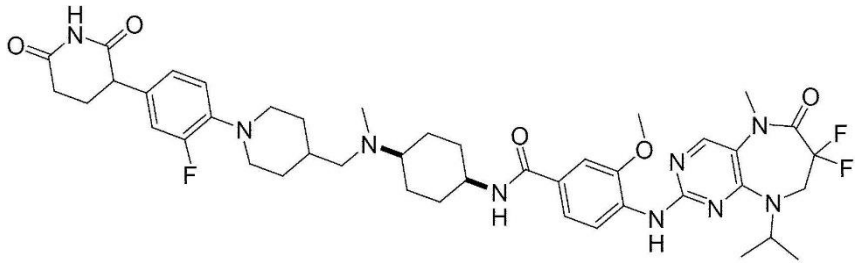
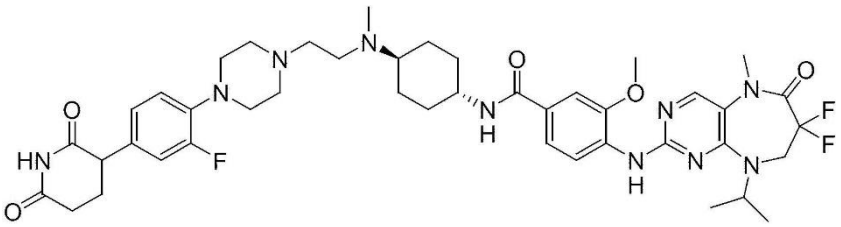
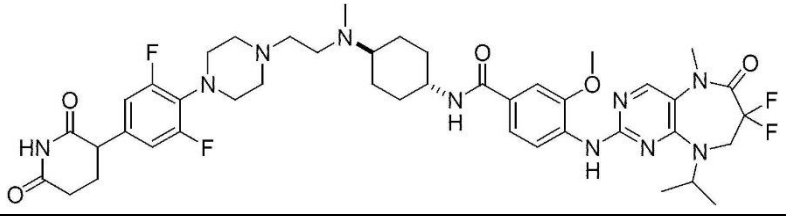
A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el

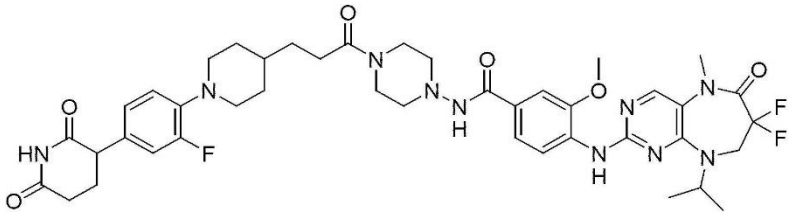
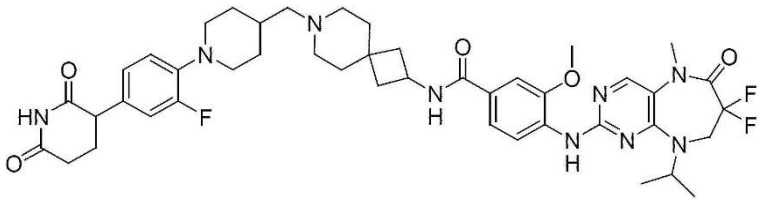
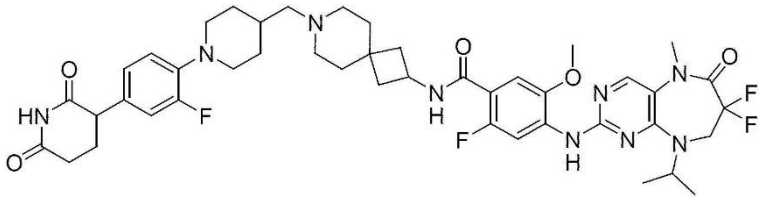
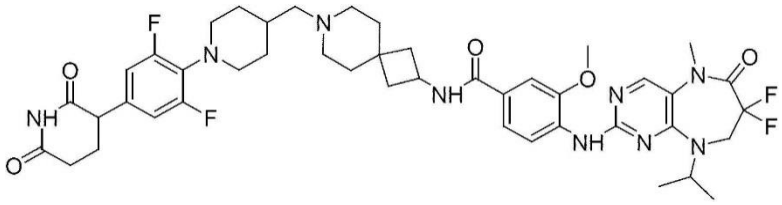
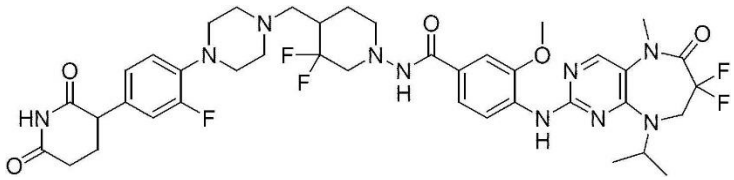
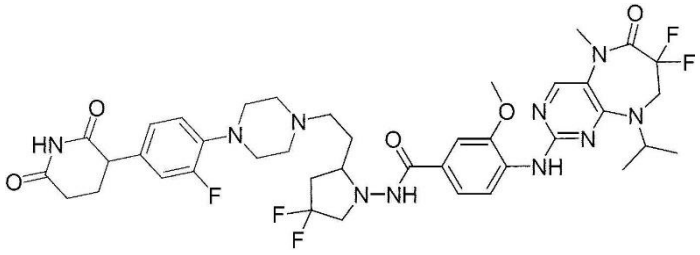
que entiende habitualmente un experto en la técnica a la que pertenece la presente divulgación. La terminología usada en la descripción es únicamente para describir realizaciones particulares y no pretende ser limitante de la divulgación.

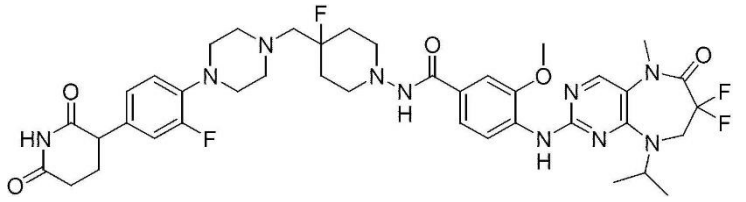
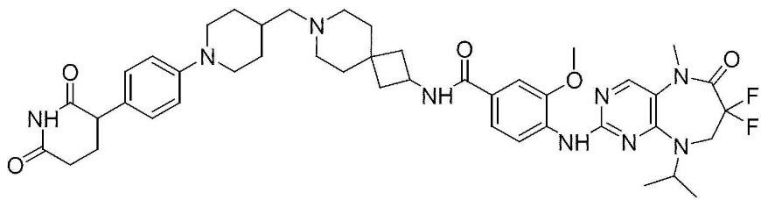
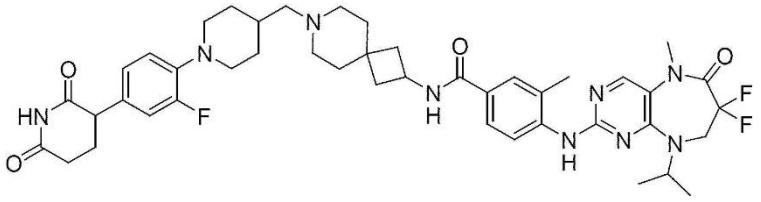
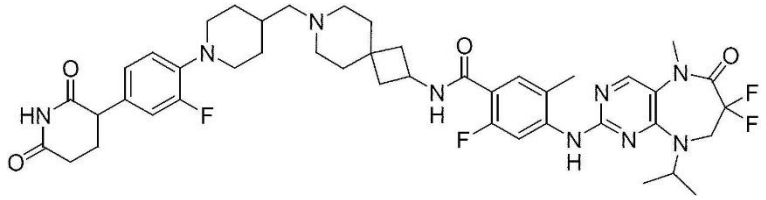
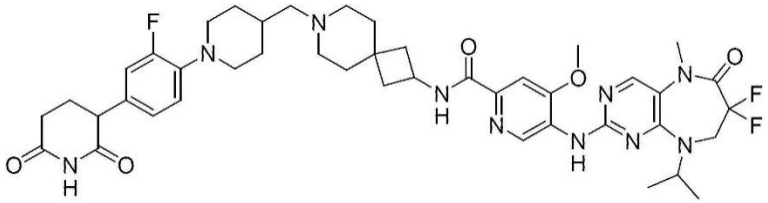
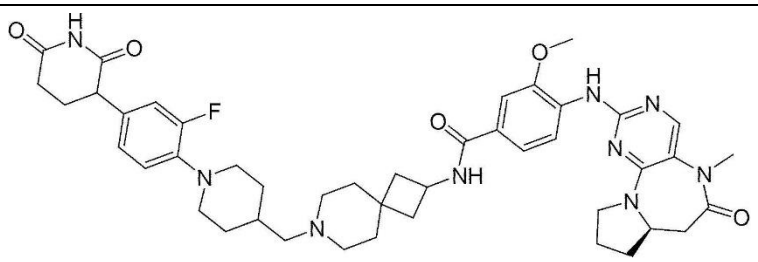
La presente divulgación proporciona métodos sintéticos para los Compuestos 1 a 59 que se muestran en la tabla a continuación.

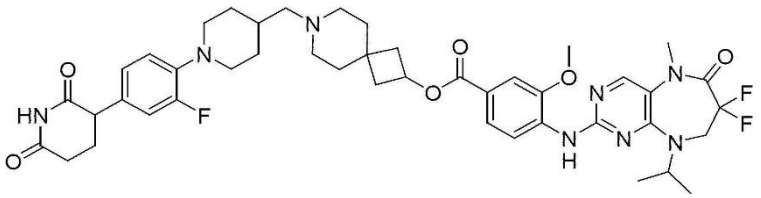
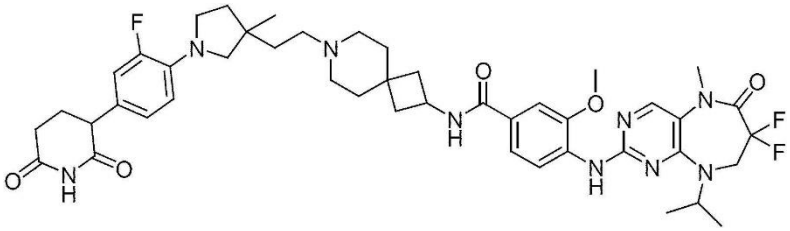
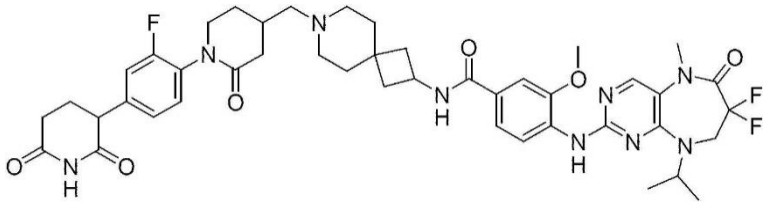
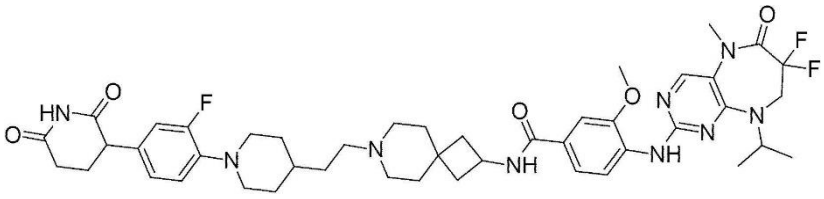
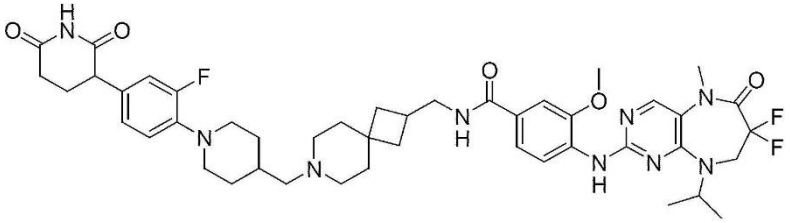
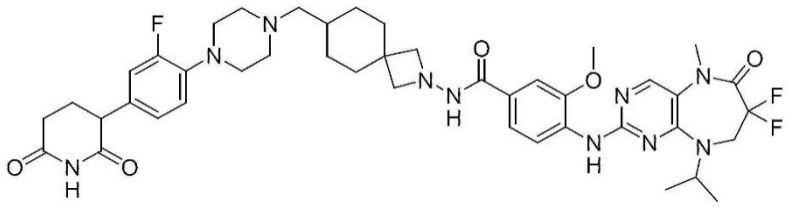
【Tabla 1】

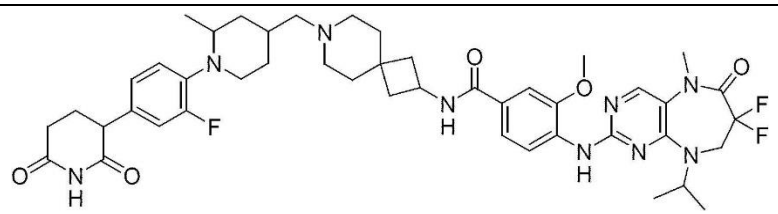
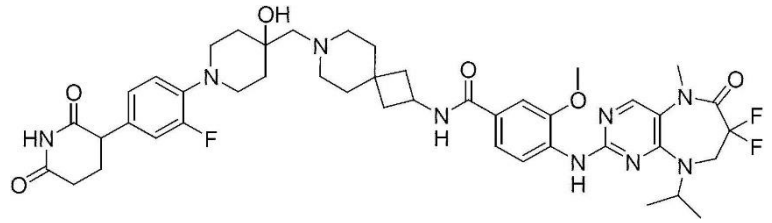
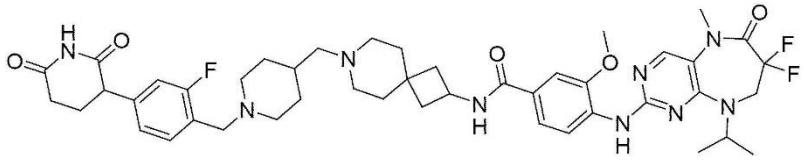
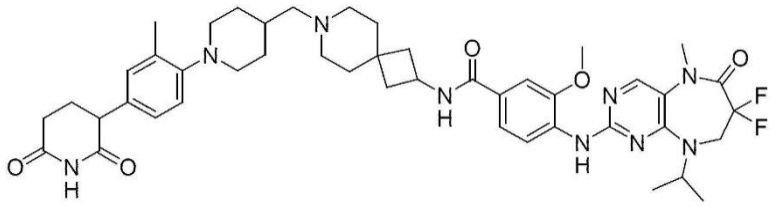
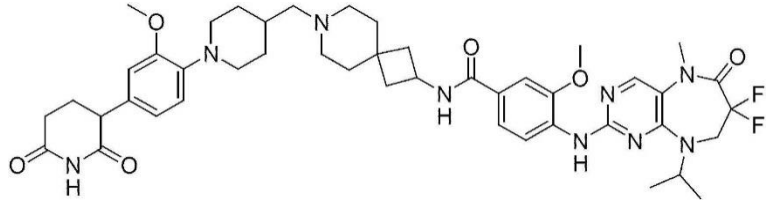
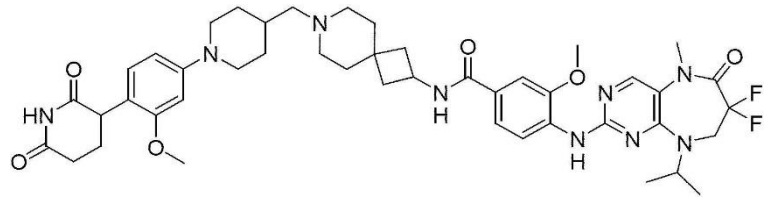
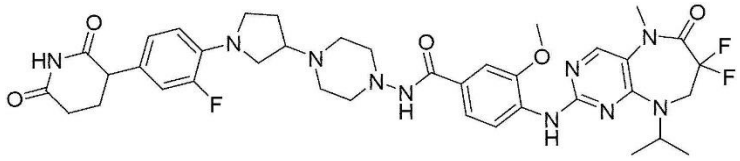
Compuesto	Estructura
1	
2	
3	
4	

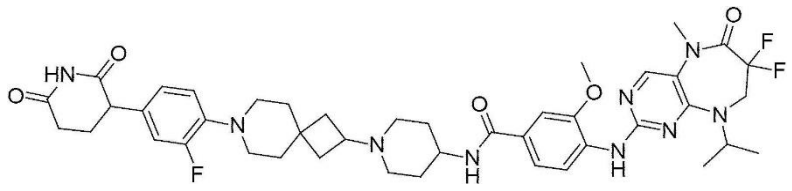
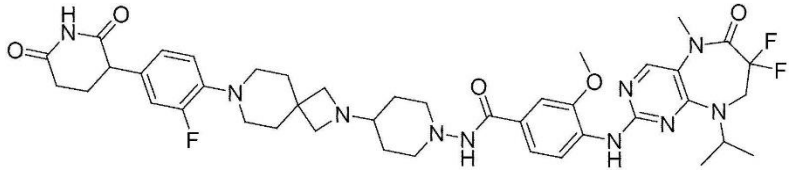
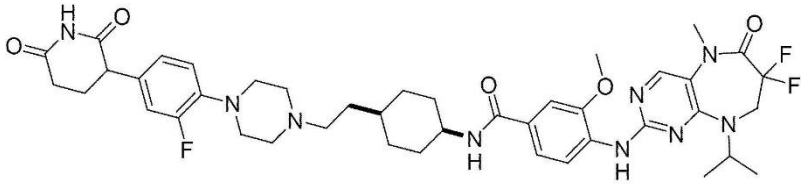
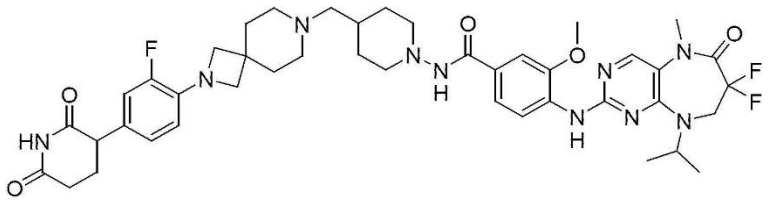
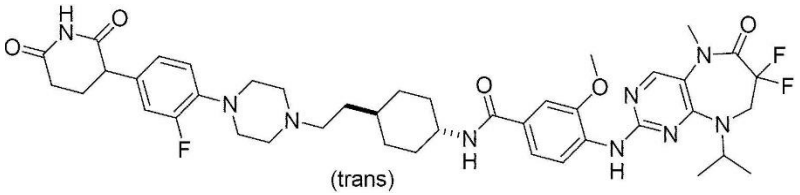
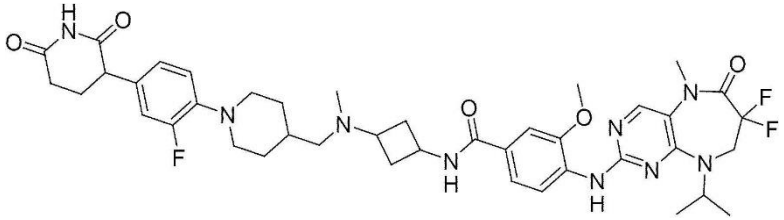
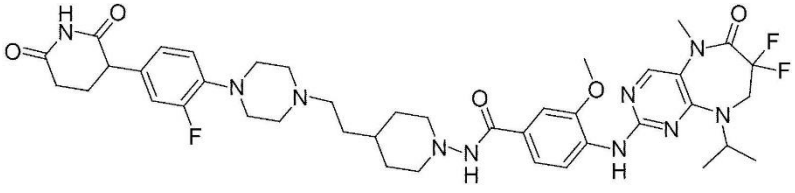
Compuesto	Estructura
5	
6	
7	
8	
9	
10	

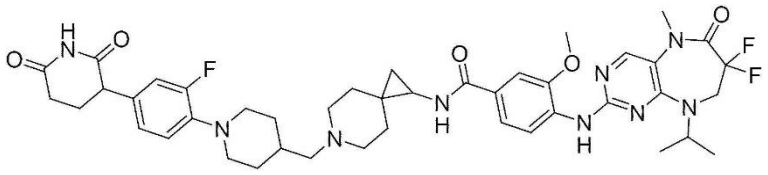
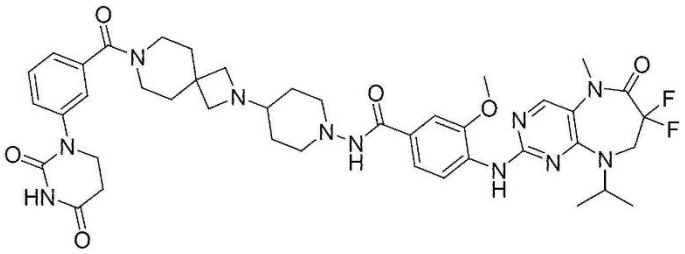
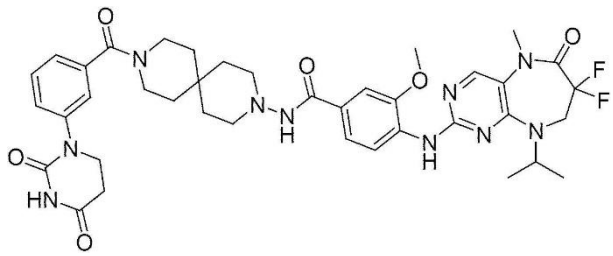
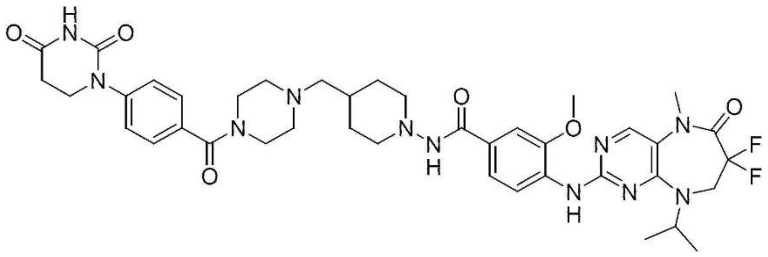
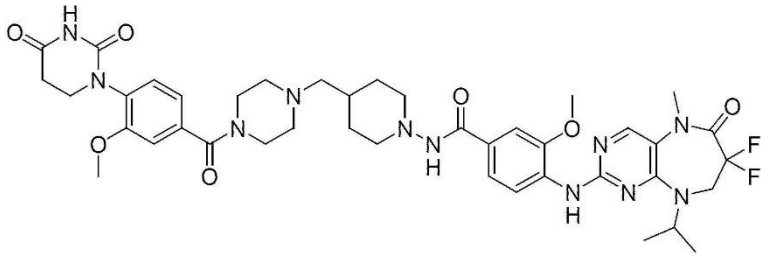
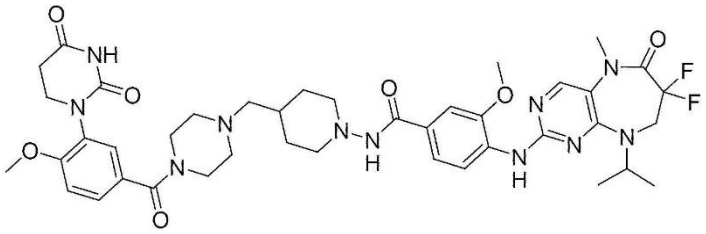
Compuesto	Estructura
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	

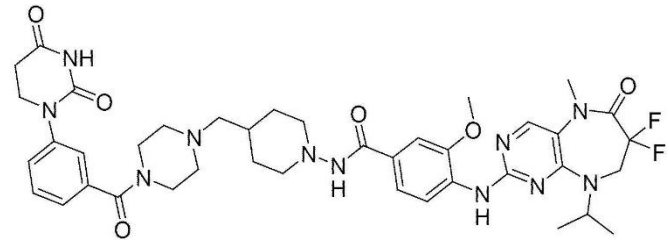
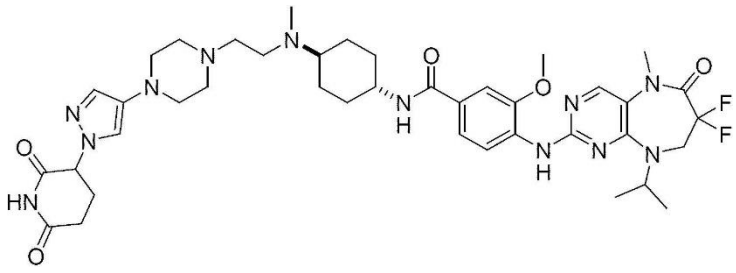
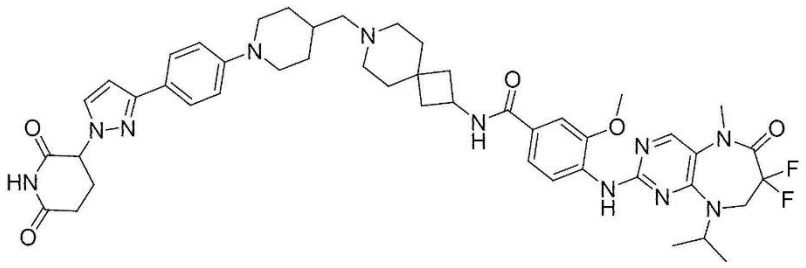
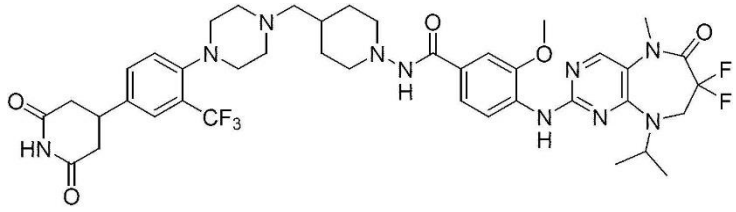
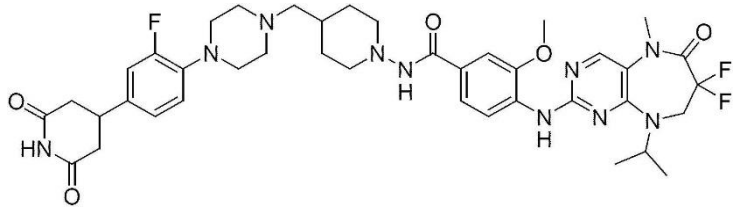
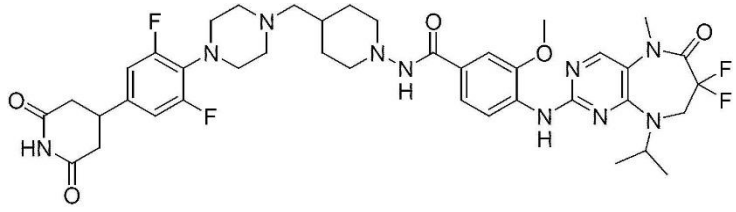
Compuesto	Estructura
18	
19	
20	
21	
22	
23	
24	

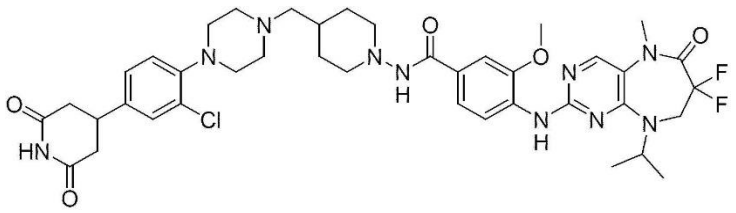
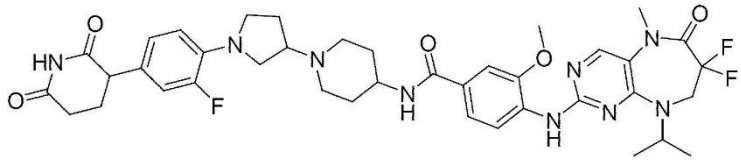
Compuesto	Estructura
25	
26	
27	
28	
29	
30	
31	

Compuesto	Estructura
32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	

Compuesto	Estructura
39	
40	
41	 (cis)
42	
43	 (trans)
44	
45	

Compuesto	Estructura
46	
47	
48	
49	
50	
51	

Compuesto	Estructura
52	
53	
54	
55	
56	
57	

Compuesto	Estructura
58	
59	

Los compuestos de la presente invención se purificaron de acuerdo con el siguiente método y se analizó la estructura.

Instrumentos

LCMS: Shimadzu LCMS-2020, Agilent 1200/G6110A, Agilent 1200/G1956A

HPLC: Agilent 1260 II LC, Agilent 1200/G6410B

RMN: BRUKER AVANCE Ⅲ/400 MHz

SFC: SHIMADZU LC-30ADsf, Agilent 1260

Análisis por LCMS

Los datos de LCMS se registraron con un Shimadzu LCMS-2020 o Agilent 1200/G6110A o Agilent 1200/G1956A equipado con un dispositivo ESI (ionización por electronebulización). Se usaron TFA al 0,0375 % en agua (disolvente A) y TFA al 0,01875 % en ACN (disolvente B) o $NH_3.H_2O$ al 0,025 % en agua (disolvente A) y ACN (disolvente B) como fases móviles. Como columna, se usaron Kinetex EVO C18 (2,1 x 30 mm, 5 µm) o HALO C18 (3,0 x 30 mm, 2,7 µm).

Análisis por HPLC

En el análisis por HPLC, se usaron Agilent 1260 II LC o Agilent 1200/G6410B. Se usaron TFA al 0,0375 % en agua (disolvente A) y TFA al 0,01875 % en ACN (disolvente B) como la fase móvil. Como columna, se usaron Zobrax Eclipse Plus C18 (4,6 x 150 mm, 3,5 µm) o YMC ODS A (4,6 x 150 mm, 3 µm).

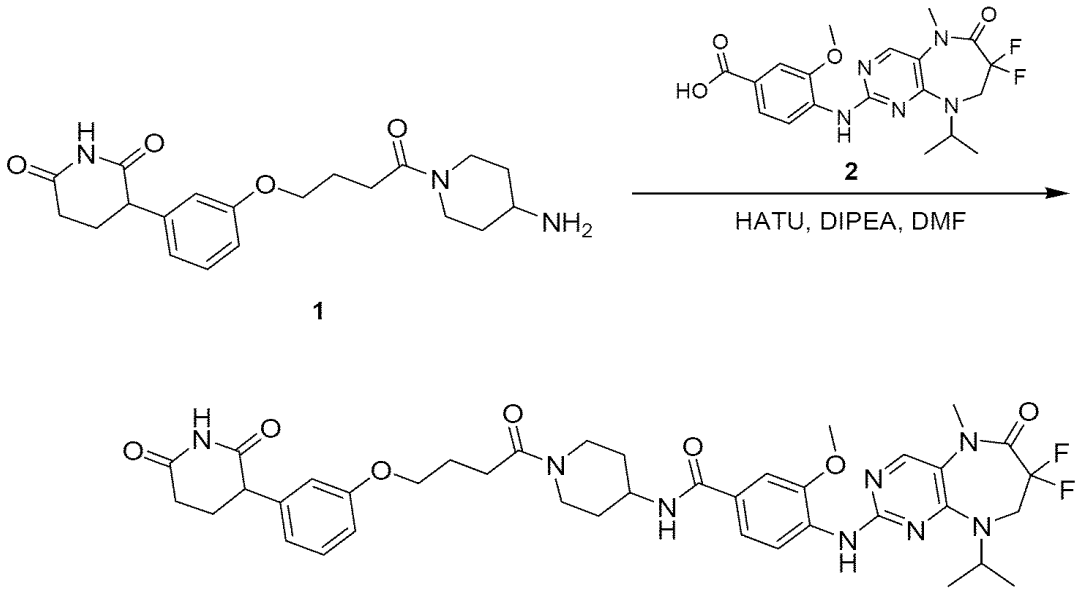
Análisis por RMN

El espectro de ^{1}H RMN se registró con una sonda Bruker AVANCE III 400 MHz/5 mm (BBO).

Análisis por SFC

En el análisis por SFC, se usaron SHIMADZU LC-30ADsf o Agilent 1260. Se usaron CO2 (disolvente A) y DEA al 0,05 % en IPA + ACN (disolvente B) o CO_2 (disolvente A) y DEA al 0,05 % en MeOH + ACN (disolvente B) o DEA al 0,05 % en ACN (disolvente A) y DEA al 0,05 % en EtOH (disolvente B) como la fase móvil. Como columna, se usaron Chiralpak AD-3 (50 x 4,6 mm, 3 µm) o Chiralpak AS-3 (50 x 4,6 mm, 3 µm) o Chiralpak OJ-3 (50 x 4,6 mm, 3 µm) o Chiralpak IA-3 (50 x 4,6 mm, 3 µm) o Chiralpak OD (50 x 4,6 mm, 3 µm) o Chiralpak IC-3 (50 x 4,6 mm, 3 µm) o (S,S)Whelk-O1 (100 x 4,6 mm, 3,5 µm).

Ejemplo 1. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(4-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenoxi)butanoil)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 1)



1

2

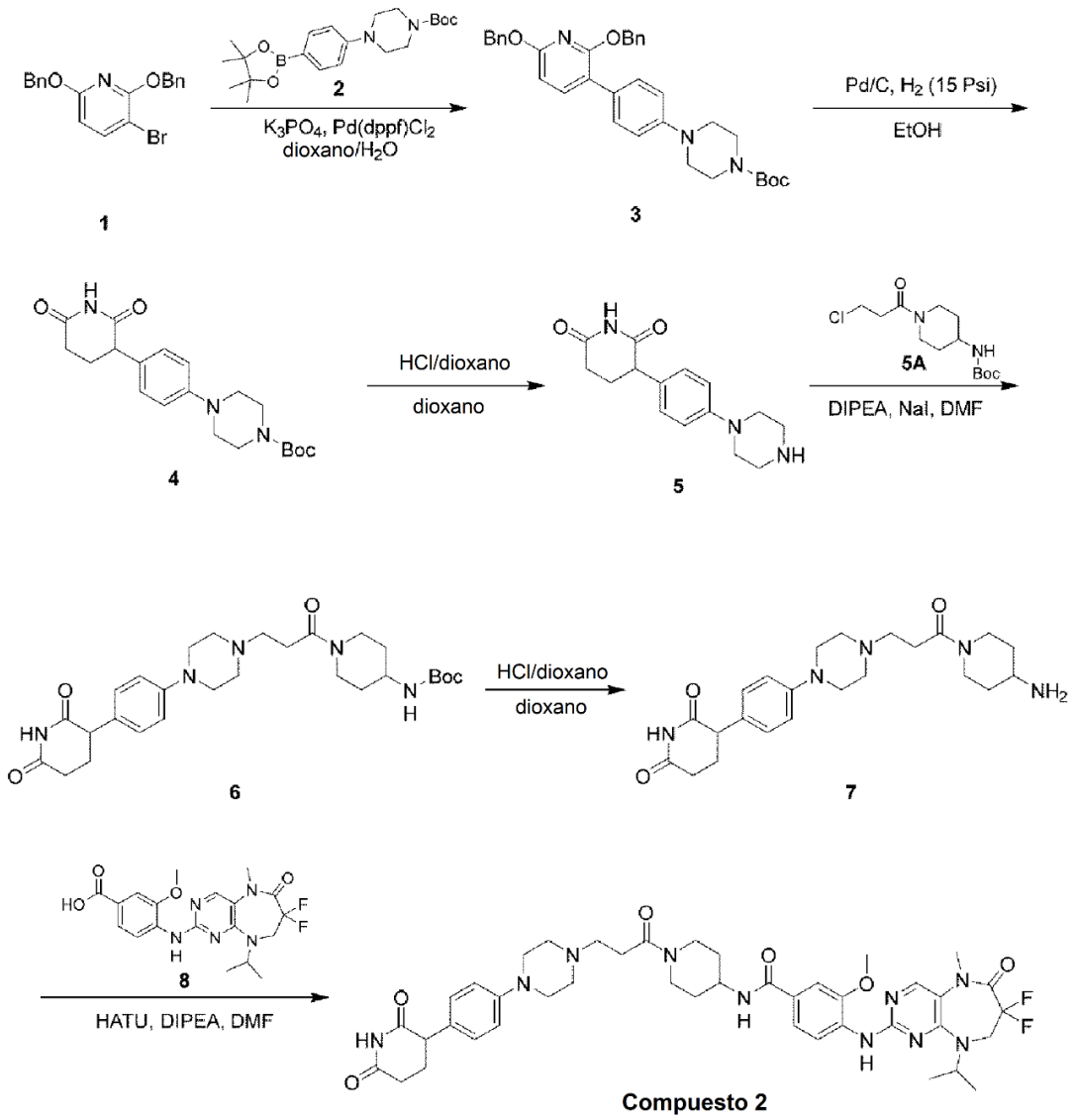
Compuesto 1

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (1,1 g, 2,61 mmol) en DMF (30 ml) se le añadieron HATU (1,29 g, 3,39 mmol) y DIPEA (1,69 g, 13,05 mmol, 2,27 ml), la mezcla se agitó a 25 °C durante 15 minutos, a continuación, se añadió 3-(3-(4-(4-aminopiperidin-1-il)-4-oxobutoxi)fenil)piperidin-2,6-diona (1,39 g, 3,39 mmol, sal HCl) y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 hora. El análisis por LCMS mostró un pico (47 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se combinó con otro lote (escala de 50 mg) para su tratamiento adicional y purificación. A la mezcla combinada se le añadió CH_3COOH para ajustar el pH a <7. La mezcla resultante se purificó por HPLC de fase inversa (condición de FA al 0,1 %, columna Flash de 330 g; Welch Ultimate XB_C18 20-40 µm; 120 A; 5-60 % durante 30 min; 60-100 % durante 20 min a 100 ml/min), seguida de HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 * 50 mm * 10 µm; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; % de B:

29 %-59 %, 10 min), el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(4-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenoxi)butanoil)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (730,5 mg, 928,14 µmol, 35,56 % de rendimiento, 98,7 % de pureza) en forma de un sólido de color blanquecino. MS(M+H)$^+$ = 777,3.

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,81 (s, 1H), 8,31 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,12 (d a, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,57-7,41 (m, 2H), 7,23 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 6,84 (dd, *J* = 2,0, 8,1 Hz, 1H), 6,82-6,73 (m, 2H), 4,88 (td, *J* = 6,8, 13,5 Hz, 1H), 4,40 (d a, *J* = 12,9 Hz, 1H), 4,10-3,87 (m, 9H), 3,81 (dd, *J* = 5,0, 11,4 Hz, 1H), 3,30 (s a, 3H), 3,13 (t a, *J* = 12,0 Hz, 1H), 2,71-2,60 (m, 2H), 2,49-2,42 (m, 3H), 2,27-2,15 (m, 1H), 2,06-2,00 (m, 1H), 1,99-1,91 (m, 2H), 1,84 (dd a, *J* = 14,7, 16,9 Hz, 2H), 1,51-1,34 (m, 2H), 1,24 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H).

Ejemplo 2. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(3-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 2)



Etapa 1. Síntesis de 4-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3)

A una mezcla de 2,6-bis(benciloxi)-3-bromopiridina (5 g, 13,50 mmol), 4-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (5,00 g, 12,88 mmol) y K_3PO_4 (8,60 g, 40,51 mmol) en dioxano (100 ml) y H_2O (10 ml) se le añadió $Pd(dppf)Cl_2$ (494,08 mg, 675,24 µmol) en una atmósfera de N_2 a 25 °C. La mezcla resultante se desgasificó y se purgó con

N_2 tres veces, a continuación se calentó a 100 °C y se agitó a 100 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (200 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna de gel de sílice de 40 g, EtOAc/éter de petróleo = 0-8 %, 100 ml/min) para proporcionar 4-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6,5 g, 11,78 mmol, 87,25 % de rendimiento, 100 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS $(M+H)^+$ = 552,4

Etapa 2. Síntesis de 4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (4)

Una mezcla de 4-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6,5 g, 11,78 mmol) y Pd/C (2 g, 10 % de pureza) en EtOH (600 ml) se desgasificó y se purgó con H_2 tres veces, a continuación la mezcla se agitó a 25 °C durante 14 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró. La torta de filtro se lavó con dioxano (400 ml). El filtrado se concentró para proporcionar 4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,8 g, 10,18 mmol, 86,36 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 373,9

Etapa 3. Síntesis de 3-(4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (5)

Una solución de 4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,8 g, 10,18 mmol) y HCl/dioxano (4 M, 50 ml) en dioxano (50 ml) se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que la reacción se

había completado. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar 3-(4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (3,5 g, en bruto, sal 2HCl) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 274,3

Etapa 4. Síntesis de (1-(3-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)carbamato de *terc*-butilo (6)

A una solución de 3-(4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (3,5 g, 10,11 mmol, sal 2HCl) y (1-(3-cloropropanoil)piperidin-4-il)carbamato de *terc*-butilo (5,88 g, 20,22 mmol) en DMF (40 ml) se le añadieron DIPEA (6,53 g, 50,54 mmol) y NaI (151,52 mg, 1,01 mmol) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y la masa deseada. La mezcla de reacción se vertió en agua (150 ml) y a continuación se extrajo con EtOAc (50 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El producto en bruto se trituró con EtOAc/éter de petróleo (60 ml, 3:1) para proporcionar (1-(3-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)carbamato de *terc*-butilo (3,3 g, 5,50 mmol, 54,45 % de rendimiento, 88 % de pureza) en forma de un sólido de color pardo. MS(M+H)$^+$ = 528,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,76 (s a, 1H), 7,05 (d a, J = 8,3 Hz, 2H), 7,01-6,79 (m, 4H), 4,32-4,17 (m, 1H), 3,84-3,69 (m, 2H), 3,53-3,44 (m, 2H), 3,17-3,02 (m, 6H), 2,70-2,56 (m, 7H), 2,22-2,06 (m, 2H), 2,03-1,96 (m, 1H), 1,79-1,66 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,28-1,20 (m, 2H).

Etapa 5. Síntesis de 3-(4-(4-(3-(4-aminopiperidin-1-il)-3-oxopropil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (7)

Una solución de (1-(3-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-

il)propanoil)piperidin-4-il)carbamato de *terc*-butilo (2,3 g, 4,36 mmol) y HCl/dioxano (4 M, 20 ml) en dioxano (10 ml) se agitó a 25 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que quedaban trazas del material de partida y la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar 3-(4-(4-(3-(4-aminopiperidin-1-il)-3-oxopropil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (2,2 g, en bruto, sal 2HCl) en forma de un sólido de color pardo. MS(M+H)$^+$ = 428,4

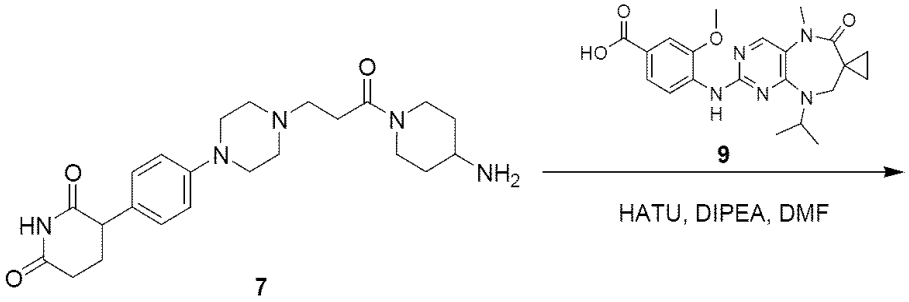
Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(3-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 2)

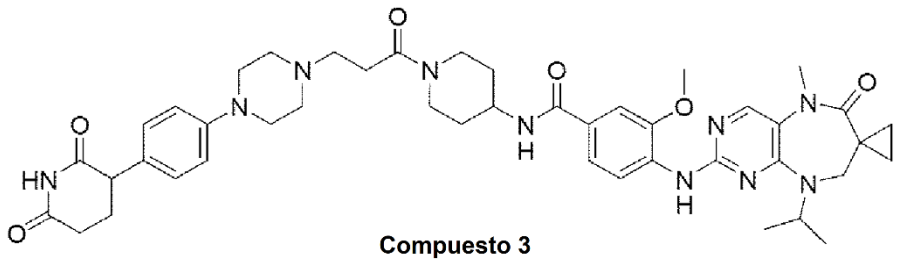
A una mezcla de 3-(4-(4-(3-(4-aminopiperidin-1-il)-3-oxopropil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (400 mg, 799,26 µmol, sal 2HCl), ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (336,81 mg, 799,26 µmol) y DIPEA (619,80 mg, 4,80 mmol) en DMF (5 ml) se le añadió HATU (395,08 mg, 1,04 mmol) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y la masa deseada. La mezcla de reacción se vertió en salmuera (20 ml). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 30~100 %/éter de petróleo a 60 ml/min) seguido de HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 30 %-60 %, 9 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-

9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(3-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (47,9 mg, 56,90 µmol, 7,12 % de rendimiento, 98,7 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 831,5

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,78 (s, 1H), 8,31 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,53-7,47 (m, 2H), 7,04 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,89 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 4,88 (td, *J* = 6,7, 13,4 Hz, 1H), 4,39 (d a, *J* = 13,3 Hz, 1H), 4,12-3,94 (m, 4H), 3,93 (s, 3H), 3,72 (dd, *J* = 4,9, 11,0 Hz, 1H), 3,32 (s a, 3H), 3,18-3,05 (m, 5H), 2,69-2,64 (m, 1H), 2,51-2,47 (m, 9H), 2,47-2,41 (m, 1H), 2,19-2,07 (m, 1H), 2,04-1,96 (m, 1H), 1,91-1,77 (m, 2H), 1,55-1,33 (m, 2H), 1,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H).

Ejemplo 3. Síntesis de N-(1-(3-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzamida (Compuesto 3)





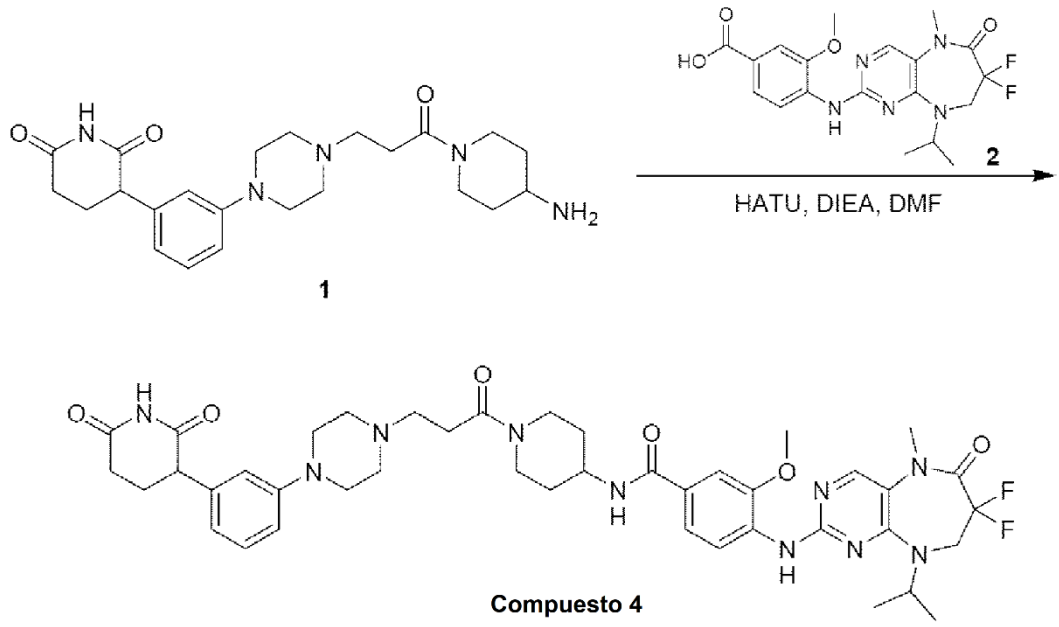
Compuesto 3

A una mezcla de 3-(4-(4-(3-(4-aminopiperidin-1-il)-3-oxopropil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (400 mg, 799,26 µmol, sal 2HCl), ácido 4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzoico (328,86 mg, 799,26 µmol) y DIPEA (619,80 mg, 4,80 mmol) en DMF (5 ml) se le añadió HATU (395,08 mg, 1,04 mmol) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y la masa deseada. La mezcla de reacción se vertió en salmuera (20 ml). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 30~100 %/éter de petróleo a 60 ml/min), a continuación seguido de HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 24 %-57 %, 9 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar N-(1-(3-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzamida (64,5 mg, 77,31 µmol, 9,67 % de rendimiento, 98,1 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 821,5

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,76 (s, 1H), 8,42 (d, J = 8,3 Hz, 1H),

8,12 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,53-7,46 (m, 2H), 7,04 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,89 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 4,84 (td, *J* = 6,9, 13,5 Hz, 1H), 4,39 (d a, *J* = 12,8 Hz, 1H), 4,12-3,95 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,72 (dd, *J* = 5,0, 10,9 Hz, 1H), 3,46 (s, 2H), 3,16 (s, 3H), 3,15-3,05 (m, 5H), 2,69-2,60 (m, 3H), 2,59-2,54 (m, 7H), 2,47-2,41 (m, 1H), 2,19-2,07 (m, 1H), 2,02-1,97 (m, 1H), 1,91-1,77 (m, 2H), 1,53-1,34 (m, 2H), 1,17 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H), 0,95-0,90 (m, 2H), 0,71-0,65 (m, 2H).

Ejemplo 4. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(3-(4-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 4)



1 2

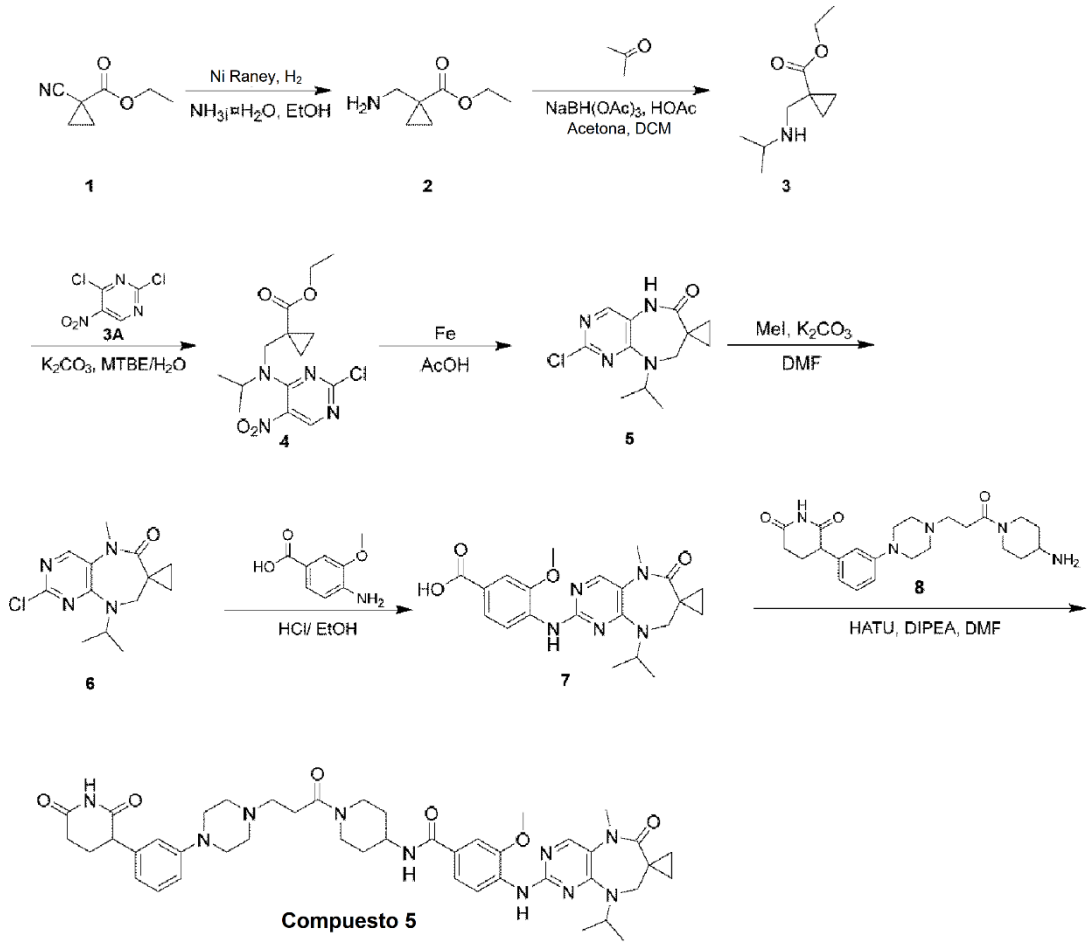
Compuesto 4

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (1 g, 2,37 mmol) en DMF (30 ml) se le añadieron HATU (1,17 g, 3,08 mmol) y DIPEA (1,23 g, 9,49 mmol, 1,65 ml), la mezcla se agitó a 25 °C durante 15 minutos, a continuación se añadió 3-(3-(4-(3-(4-aminopiperidin-1-il)-3-oxopropil)piperazin-

1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (1,3 g, 2,80 mmol, sal HCl) y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 hora. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y se detectó el 71 % de la masa deseada. A la mezcla se le añadió CH_3COOH para ajustar el pH <7 y se purificó por HPLC de fase inversa (condición de FA al 0,1 %, columna flash de 330 g; Welch Ultimate XB_C_{18} 20-40 µm; 120 A; 0-50 % durante 30 min; 50-100 % 20 min a 100 ml/min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 x 50 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 27 %-57 %, 10 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(3-(4-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (658,7 mg, 783,22 µmol, 33,00 % de rendimiento, 98,8 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 831,3.

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,79 (s, 1H), 8,31 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,15 (d a, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,59-7,43 (m, 2H), 7,15 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 6,88-6,73 (m, 2H), 6,61 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,97-4,78 (m, 1H), 4,39 (d a, *J* = 12,3 Hz, 1H), 4,12-3,88 (m, 7H), 3,75 (dd, *J* = 5,0, 11,2 Hz, 1H), 3,32 (s a, 3H), 3,20-3,06 (m, 5H), 2,68-2,53 (m, 10H), 2,44 (t a, *J* = 4,2 Hz, 1H), 2,26-2,13 (m, 1H), 2,07-1,95 (m, 1H), 1,93-1,76 (m, 2H), 1,55-1,33 (m, 2H), 1,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H).

Ejemplo 5. Síntesis de N-(1-(3-(4-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzamida (Compuesto 5)



Etapa 1. Síntesis de 1-(aminometil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (2)

A una solución de 1-cianociclopropanocarboxilato de etilo (25 g, 179,66 mmol, 23,15 ml) en EtOH (250 ml) y $NH_3.H_2O$ (25 ml) se le añadió Ni Raney (23,09 g, 269,49 mmol) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con H_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (50 psi). El análisis por TLC (SiO_2, éter de petróleo: EtOAc = 3:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente y se detectó una nueva mancha. La mezcla de reacción se diluyó con EtOH (600 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 1-(aminometil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (18,9 g, en bruto) en forma de

un aceite incoloro. MS(M+H)$^+$ = 144,1

Etapa 2. Síntesis de 1-((isopropilamino)metil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (3)

A una solución de 1-(aminometil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (18,9 g, 132,00 mmol) y acetona (28,70 g, 494,16 mmol, 36,33 ml), AcOH (13,06 g, 217,48 mmol, 12,44 ml) en DCM (300 ml) se le añadió $NaBH(OAc)_3$ (62,83 g, 296,45 mmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se inactivó con $NaHCO_3$ (200 ml) y se extrajo con EtOAc (200 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (200 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. Al filtrado se le añadió HCl (12 N) y se concentró al vacío para proporcionar 1-((isopropilamino)metil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (6,1 g, 27,51 mmol, 20,84 % de rendimiento, sal HCl) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 186,1

Etapa 3. Síntesis de 1-(((2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)(isopropil)amino)metil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (4)

A una solución de 1-((isopropilamino)metil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (6,1 g, 27,51 mmol, sal HCl) en MTBE (60 ml) y H_2O (30 ml) se le añadieron K_2CO_3 (15,21 g, 110,05 mmol) y 2,4-dicloro-5-nitro-pirimidina (6,40 g, 33,01 mmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (86 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (160 ml) y se extrajo con EtOAc (160 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para proporcionar 1-(((2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)(isopropil)amino)metil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (6,6 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ =

343,1

Etapa 4. Síntesis de 2'-cloro-9'-isopropil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (5)

A una solución de 1-(((2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)(isopropil)amino)metil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (6,6 g, 19,25 mmol) en AcOH (60 ml) se le añadió Fe (4,30 g, 77,02 mmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal (97 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se diluyó con H_2O (120 ml) y se extrajo con EtOAc (120 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para proporcionar 2'-cloro-9'-isopropil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (5,2 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 267,1

Etapa 5. Síntesis de 2'-cloro-9'-isopropil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (6)

A una solución de 2'-cloro-9'-isopropil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (5,2 g, 19,50 mmol) en DMF (60 ml) se le añadieron K_2CO_3 (8,08 g, 58,49 mmol) y MeI (4,15 g, 29,24 mmol, 1,82 ml) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (66 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (180 ml) y se extrajo con EtOAC (180 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (180 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó

por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~25 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 2'-cloro-9'-isopropil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (3,8 g, 12,72 mmol, 65,26 % de rendimiento, 94 % de pureza) en forma de un sólido de color naranja. MS(M+H)$^+$ = 281,4

Etapa 6. Síntesis de ácido 4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzoico (7)

A una solución de 2'-cloro-9'-isopropil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (1,8 g, 6,41 mmol) y ácido 4-amino-3-metoxi-benzoico (1,29 g, 7,69 mmol) en EtOH (18 ml) y H_2O (6 ml) se le añadió HCl (12 M, 1,18 ml) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró que quedaba un 12 % de material de partida y un pico (35 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El producto en bruto se trituró con una mezcla de DMF/EtOH/EtOAc (2 ml/10 ml/10 ml) a 25 °C durante 0,5 h y se filtró. La torta de filtro se secó al vacío para proporcionar ácido 4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzoico (1,7 g, 4,13 mmol, 64,44 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanquecino. MS(M+H)$^+$ = 412,3

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 9,68 (s a, 1H), 8,19-8,09 (m, 2H), 7,64 (dd, J = 1,3, 8,5 Hz, 1H), 7,57 (d, J = 1,1 Hz, 1H), 4,94-4,75 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,64 (s a, 2H), 3,15 (s, 3H), 1,18 (d a, J = 6,8 Hz, 6H), 1,07-1,01 (m, 2H), 0,80 (s a, 2H)

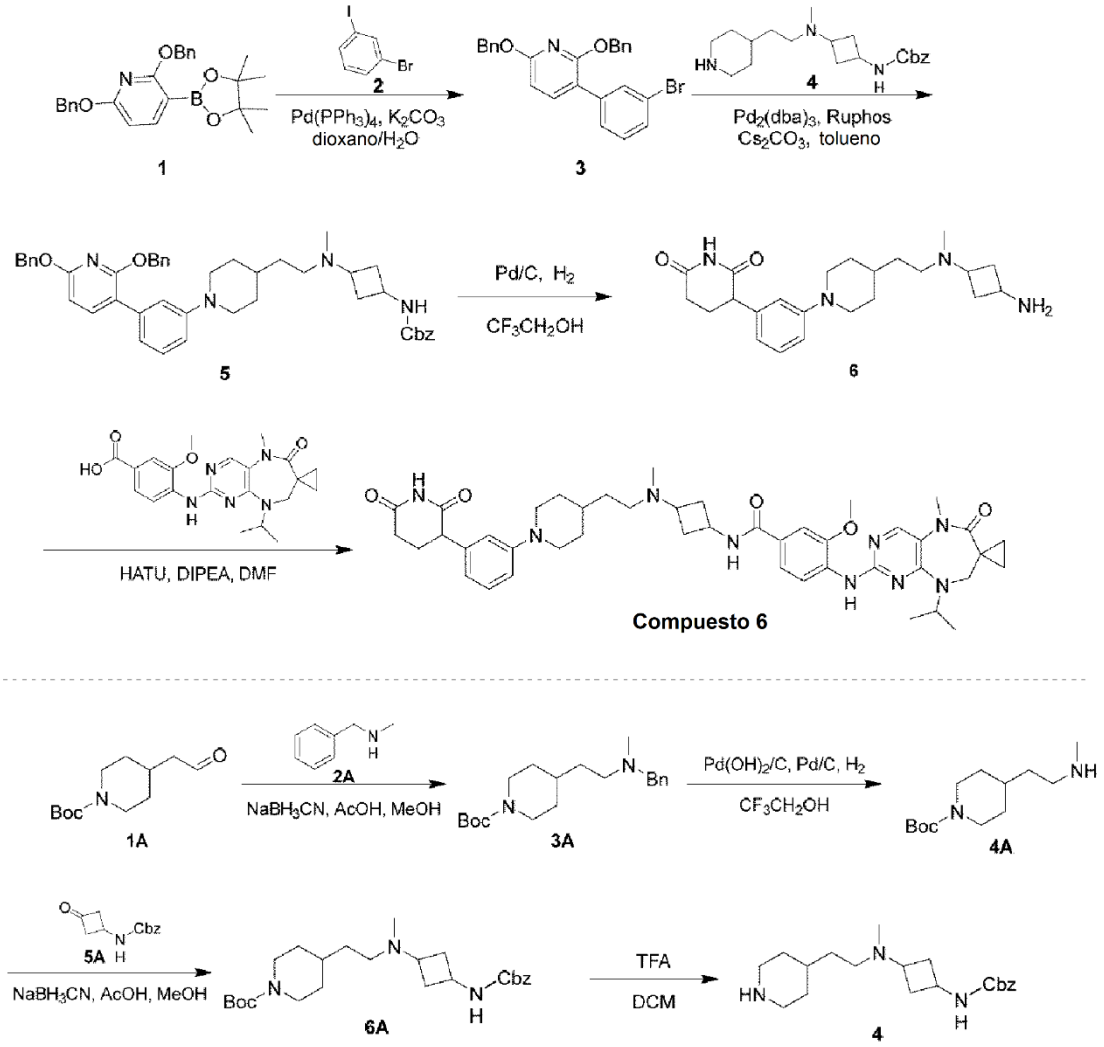
Etapa 7. Síntesis de N-(1-(3-(4-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzamida (Compuesto 5)

A una solución de ácido 4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzoico (700 mg, 1,70 mmol) en DMF (6 ml) se le añadieron HATU (711,57 mg, 1,87 mmol) y DIPEA (439,76 mg, 3,40 mmol, 592,67 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 10 min, a continuación se añadió una solución de 3-[3-[4-[3-(4-amino-1-piperidil)-3-oxo-propil]piperazin-1-il]fenil]piperidin-2,6-diona (1,03 g, 2,21 mmol, sal HCl) en DMF (6 ml) con DIPEA (439,76 mg, 3,40 mmol, 592,67 µl) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h más. El análisis por LCMS mostró que todo el material de partida se había consumido completamente y un pico (68 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (60 ml) y se extrajo con EtOAc (60 ml x 5). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para proporcionar el producto A. La fase acuosa se concentró al vacío para proporcionar el producto B. El producto A se purificó por HPLC prep. (columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 5 %-35 %, 10 min) y liofilización para proporcionar el producto E (620 mg) y el producto F (420 mg). El producto B se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 µltra 150 x 50 mm x 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 5 %-35 %, 10 min) y liofilización para proporcionar el producto D (158 mg). El producto D (158 mg) y el producto E (620 mg) se combinaron y se purificaron de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 x 50 mm x 10 µm; fase móvil:

[agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 25 %-55 %, 10 min) y liofilización para proporcionar N-(1-(3-(4-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzamida (362,9 mg, 441,59 µmol, 25,96 % de rendimiento, 99,9 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. El producto F (420 mg) se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 x 50 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 25 %-55 %, 10 min) y liofilización para proporcionar N-(1-(3-(4-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperazin-1-il)propanoil)piperidin-4-il)-4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzamida (136 mg, 162,34 µmol, 9,54 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 821,2

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,78 (s a, 1H), 8,42 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,11 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,55-7,45 (m, 2H), 7,15 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,85-6,76 (m, 2H), 6,61 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,84 (spt, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,39 (d a, *J* = 13,3 Hz, 1H), 4,11-3,90 (m, 5H), 3,75 (dd, *J* = 4,9, 11,2 Hz, 1H), 3,46 (s, 2H), 3,20-3,07 (m, 8H), 2,73-2,53 (m, 10H), 2,48-2,42 (m, 1H), 2,25-2,13 (m, 1H), 2,06-1,97 (m, 1H), 1,93-1,77 (m, 2H), 1,56-1,31 (m, 2H), 1,17 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H), 0,95-0,89 (m, 2H), 0,72-0,65 (m, 2H).

Ejemplo 6. Síntesis de N-(3-((2-(1-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperidin-4-il)etil)(metil)amino)ciclobutil)-4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzamida (Compuesto 6)



Etapa 1. Síntesis de 2,6-bis(benciloxi)-3-(3-bromofenil)piridina (3)

A una solución de 2,6-dibenciloxi-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (7,5 g, 17,97 mmol) y 1-bromo-3-yodo-benceno (4,07 g, 14,38 mmol, 1,83 ml) en dioxano (80 ml) y H_2O (20 ml) se le añadieron $Pd(PPh_3)_4$ (1,04 g, 898,63 µmol) y K_2CO_3 (7,45 g, 53,92 mmol) a 20 °C en una atmósfera de N_2 y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (30 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se combinó con otro lote (escala

de 0,5 g) para su tratamiento. La mezcla de reacción combinada se diluyó con H_2O (140 ml) y se extrajo con EtOAc (140 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~0 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 2,6-dibenciloxi-3-(3-bromofenil)piridina (3,9 g, 8,29 mmol, 47,12 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. MS$(M+H)^+$ = 446,2

Etapa 2. Síntesis de 4-(2-(bencil(metil)amino)etil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3A)

A una solución de 4-(2-oxoetil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (10 g, 43,99 mmol) y N-metil-1-fenil-metanamina (5,33 g, 43,99 mmol, 5,68 ml) en MeOH (160 ml) se le añadió AcOH (2,64 g, 43,99 mmol, 2,52 ml) a 20 °C. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 0,5 h. A continuación, se añadió lentamente $NaBH_3CN$ (8,29 g, 131,98 mmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (86 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (200 ml) y se extrajo con EtOAc (200 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 120 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 4-(2-(bencil(metil)amino)etil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (19,1 g, 14,57 mmol, 33,12 % de rendimiento, 95 % de pureza) en forma de un aceite incoloro. MS$(M+H)^+$ = 333,3

Etapa 3. Síntesis de 4-(2-(metilamino)etil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-

butilo (4A)

A una solución de 4-(2-(bencil(metil)amino)etil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (19 g, 57,15 mmol) en CF_3CH_2OH (250 ml) se le añadieron Pd/C (2 g, 10 % de pureza) y $Pd(OH)_2/C$ (2 g, 20 % de pureza) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con H_2. La mezcla se agitó a 60 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (50 psi). El análisis por LCMS mostró un pico (56 %) con una masa del material de partida y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con CF_3CH_2OH (300 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 4-(2-(metilamino)etil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (13,7 g, en bruto) en forma de un aceite incoloro. $MS(M+H)^+$ = 243,5

Etapa 4. Síntesis de 4-(2-((3-(((benciloxi)carbonil)amino)ciclobutil)(metil)amino)etil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6A)

A una solución de 4-(2-(metilamino)etil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (13,7 g, 56,53 mmol) y N-(3-oxociclobutil)carbamato de bencilo (6,20 g, 28,26 mmol) en MeOH (200 ml) se le añadió AcOH (3,39 g, 56,53 mmol, 3,23 ml) a 20 °C, la mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 0,5 h, a continuación se añadió en porciones $NaBH_3CN$ (10,66 g, 169,58 mmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h más. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (42 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (400 ml) y se extrajo con EtOAc (400 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (200 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice

SepaFlash® de 120 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a EtOAc al 0~10 %:metanol a 100 ml/min) para proporcionar 4-(2-((3-(((benciloxi)carbonil)amino)ciclobutil)(metil)amino)etil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (7,9 g, 16,49 mmol, 29,17 % de rendimiento, 93 % de pureza) en forma de un aceite incoloro. MS(M+H)$^+$ = 446,2

Etapa 5. Síntesis de (3-(metil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)ciclobutil)carbamato de bencilo (4)

A una solución de 4-(2-((3-(((benciloxi)carbonil)amino)ciclobutil)(metil)amino)etil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (7,9 g, 17,73 mmol) en DCM (40 ml) se le añadió TFA (12,13 g, 106,38 mmol, 7,88 ml) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. A esta mezcla de reacción se le añadió DIPEA para ajustar el pH = 7 a 0 °C. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar (3-(metil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)ciclobutil)carbamato de bencilo (6,13 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 346,2

Etapa 6. Síntesis de (3-((2-(1-(3-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperidin-4-il)etil)(metil)amino)ciclobutil)carbamato de bencilo (5)

A una solución de 2,6-dibenciloxi-3-(3-bromofenil)piridina (3,9 g, 8,74 mmol) y (3-(metil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)ciclobutil)carbamato de bencilo (3,62 g, 10,49 mmol) en tolueno (60 ml) se le añadieron $Pd_2(dba)_3$ (160,03 mg, 174,80 µmol), RuPhos (407,74 mg, 874,00 µmol) y Cs_2CO_3 (8,54 g, 26,22 mmol) a 20 °C en una atmósfera de N_2 y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que quedaba un 30 %

del material de partida y un pico (7 %) con la masa deseada, se añadió más cantidad de (3-(metil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)ciclobutil)carbamato de bencilo (3,02 g, 8,74 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (160,07 mg, 174,80 µmol), RuPhos (407,84 mg, 874,00 µmol) y Cs_2CO_3 (5,70 g, 17,48 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 16 h más en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que quedaba un 24 % del material de partida y se detectó un pico al 7 % con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) seguido de HPLC prep. (columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 35 %-65 %, 10 min). El pH del eluyente se ajustó a ~7 con $NaHCO_3$ saturado y se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para proporcionar (3-((2-(1-(3-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperidin-4-il)etil)(metil)amino)ciclobutil)carbamato de bencilo (441 mg, 576,92 µmol, 50,57 % de rendimiento, 93 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 711,3

Etapa 7. Síntesis de 3-(3-(4-(2-((3-aminociclobutil)(metil)amino)etil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (6)

A una solución de (3-((2-(1-(3-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperidin-4-il)etil)(metil)amino)ciclobutil)carbamato de bencilo (441 mg, 620,34 µmol) en CF_3CH_2OH (15 ml) se le añadió Pd/C (120 mg, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con H_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que quedaba material de partida y se detectó un pico con la

masa deseada, la mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con EtOH (30 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 3-(3-(4-(2-((3-aminociclobutil)(metil)amino)etil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (162 mg, 406,48 µmol, 65,53 % de rendimiento) en forma de un aceite incoloro. MS$(M+H)^+$ = 399,3

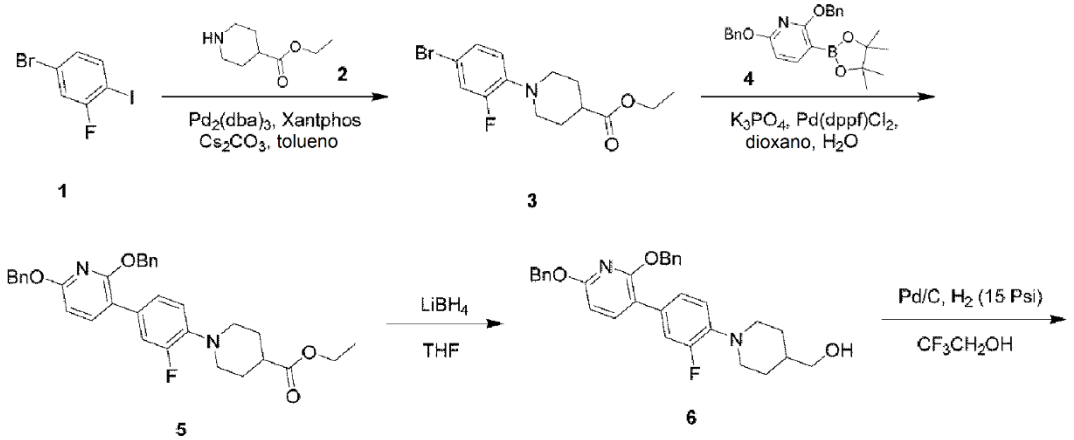
Etapa 8. Síntesis de N-(3-((2-(1-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperidin-4-il)etil)(metil)amino)ciclobutil)-4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzamida (Compuesto 6)

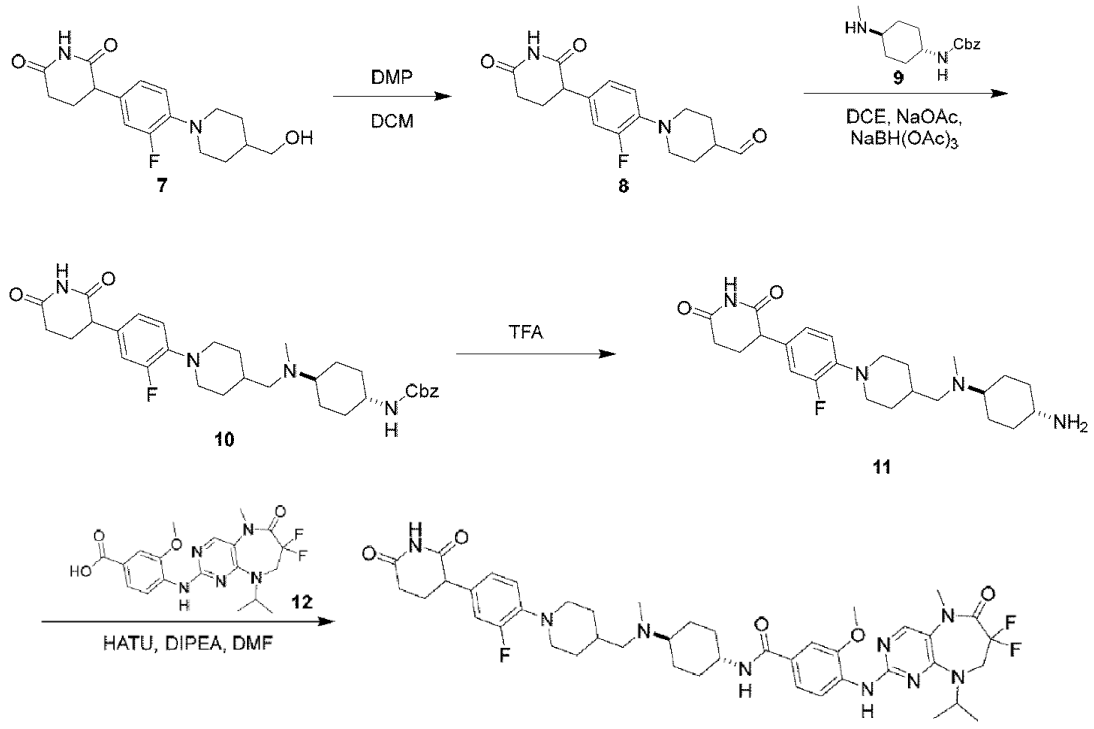
A una solución de ácido 4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzoico (130 mg, 315,95 µmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (132,15 mg, 347,55 µmol) y DIPEA (122,50 mg, 947,86 µmol, 165,10 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 10 min y se añadió una solución de 3-(3-(4-(2-((3-aminociclobutil)(metil)amino)etil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (151,10 mg, 379,14 µmol) en DMF (3 ml), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (45 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (25 ml) y se extrajo con EtOAc (25 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (25 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a diclorometano al 0~10 %/metanol a 100 ml/min) y se

purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 38 %-68 %, 8 min), el eluyente se liofilizó para proporcionar N-(3-((2-(1-(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperidin-4-il)etil)(metil)amino)ciclobutil)-4-((9'-isopropil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-il)amino)-3-metoxibenzamida (73,1 mg, 91,65 µmol, 29,01 % de rendimiento, 99,3 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 792,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,78 (s, 1H), 8,41 (d a, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,97 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,57-7,46 (m, 2H), 7,13 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,87-6,73 (m, 2H), 6,57 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,89-4,78 (m, 1H), 4,21-4,08 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,74 (dd, *J* = 5,0, 11,0 Hz, 1H), 3,65 (d a, *J* = 11,7 Hz, 2H), 3,46 (s, 2H), 3,16 (s, 3H), 2,66-2,56 (m, 4H), 2,43 (d a, *J* = 4,2 Hz, 3H), 2,27-2,11 (m, 3H), 2,09-1,96 (m, 4H), 1,92-1,81 (m, 2H), 1,74 (d a, *J* = 10,8 Hz, 2H), 1,51-1,32 (m, 3H), 1,29-1,20 (m, 2H), 1,16 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H), 0,95-0,88 (m, 2H), 0,72-0,64 (m, 2H).

Ejemplo 7. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (Compuesto 7)





Compuesto 7

Etapa 1. Síntesis de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (3)

A una solución de 4-bromo-2-fluoro-1-yodobenceno (5 g, 16,62 mmol), piperidin-4-carboxilato de etilo (2,35 g, 14,96 mmol, 2,31 ml) y Cs_2CO_3 (16,24 g, 49,85 mmol) en tolueno (50 ml) se le añadieron $Pd_2(dba)_3$ (760,83 mg, 830,86 µmol) y Xantphos (961,50 mg, 1,66 mmol). La mezcla se agitó en una atmósfera de N_2 a 90 °C durante 3 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (50 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de

20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~15 %/éter de petróleo a 40 ml/min) para proporcionar 1-(4-bromo-2-fluorofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (600 mg, 1,82 mmol, 10,94 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 330,3

Etapa 2. Síntesis de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (5)

A una mezcla de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (600 mg, 1,82 mmol), 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (1,52 g, 3,63 mmol) y K_3PO_4 (1,16 g, 5,45 mmol) en dioxano (12 ml) y H_2O (2,4 ml) se le añadió Pd(dppf)Cl_2 (132,96 mg, 181,71 µmol) a 25 °C. La mezcla resultante se purgó y se desgasificó con N_2 tres veces, a continuación la mezcla de reacción se calentó a 90 °C y se agitó a 90 °C durante 4 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~10 %/éter de petróleo a 40 ml/min) para proporcionar 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (660 mg, 1,17 mmol, 64,50 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 541,3.

Etapa 3. Síntesis de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metanol (6)

A una solución de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (450 mg, 832,37 µmol) en THF (10 ml) se le añadió $LiBH_4$ (37 mg, 1,70 mmol), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 18 h.

El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl (10 ml) a 0 °C, y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metanol (400 mg, en bruto) en forma de un aceite incoloro. MS(M+H)$^+$ = 499,3

Etapa 4. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (7)

Una mezcla de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metanol (400 mg, 802,27 µmol) y Pd/C (40 mg, 10 % de pureza) en CF_3CH_2OH (20 ml) se desgasificó y se purgó con H_2 3 veces, a continuación la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (200 mg, en bruto) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 321,2

Etapa 5. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (8)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (200 mg, 624,30 µmol) en DCM (1 ml) se le añadió DMP (397,19 mg, 936,45 µmol, 289,92 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por TLC indicó que el material de partida se había consumido completamente. La mezcla se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (198 mg, en bruto) en forma de un aceite de color pardo. MS(M+H)$^+$

= 319,4

Etapa 6. Síntesis de ((1r,4r)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)carbamato de bencilo (trans) (10)

A una solución de ((1r,4r)-4-(metilamino)ciclohexil)carbamato de bencilo (trans) (100 mg, 334,66 µmol, sal HCl) en DCE (2 ml) se le añadieron 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (106,54 mg, 334,66 µmol) y NaOAc (41,18 mg, 502,00 µmol). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. A continuación, se añadió $NaBH(OAc)_3$ (355 mg, 1,67 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 15 h. El análisis por LCMS mostró un pico (24 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de $NaHCO_3$ (5 ml) y se extrajo con EtOAc (5 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (15 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 50~100 %/éter de petróleo a metanol al 20 %/EtOAc a 40 ml/min) y se purificó de nuevo por HPLC de fase inversa (columna: Phenomenex Synergi C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 13 %-43 %, 10 min). El eluyente se liofilizó para proporcionar ((1r,4r)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)carbamato de bencilo (trans) (140 mg, 222,36 µmol, 66,44 % de rendimiento, 97 % de pureza, sal FA) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 565,6

Etapa 7. Síntesis de 3-(4-(4-((((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-

2,6-diona (trans) (11)

Una mezcla de ((1r,4r)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)carbamato de bencilo (trans) (70 mg, 114,62 µmol, FA) en TFA (1 ml) se agitó a 50 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar 3-(4-(4-((((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (60 mg, en bruto, sal TFA) en forma de un aceite de color pardo. MS(M+H)$^+$ = 431,5

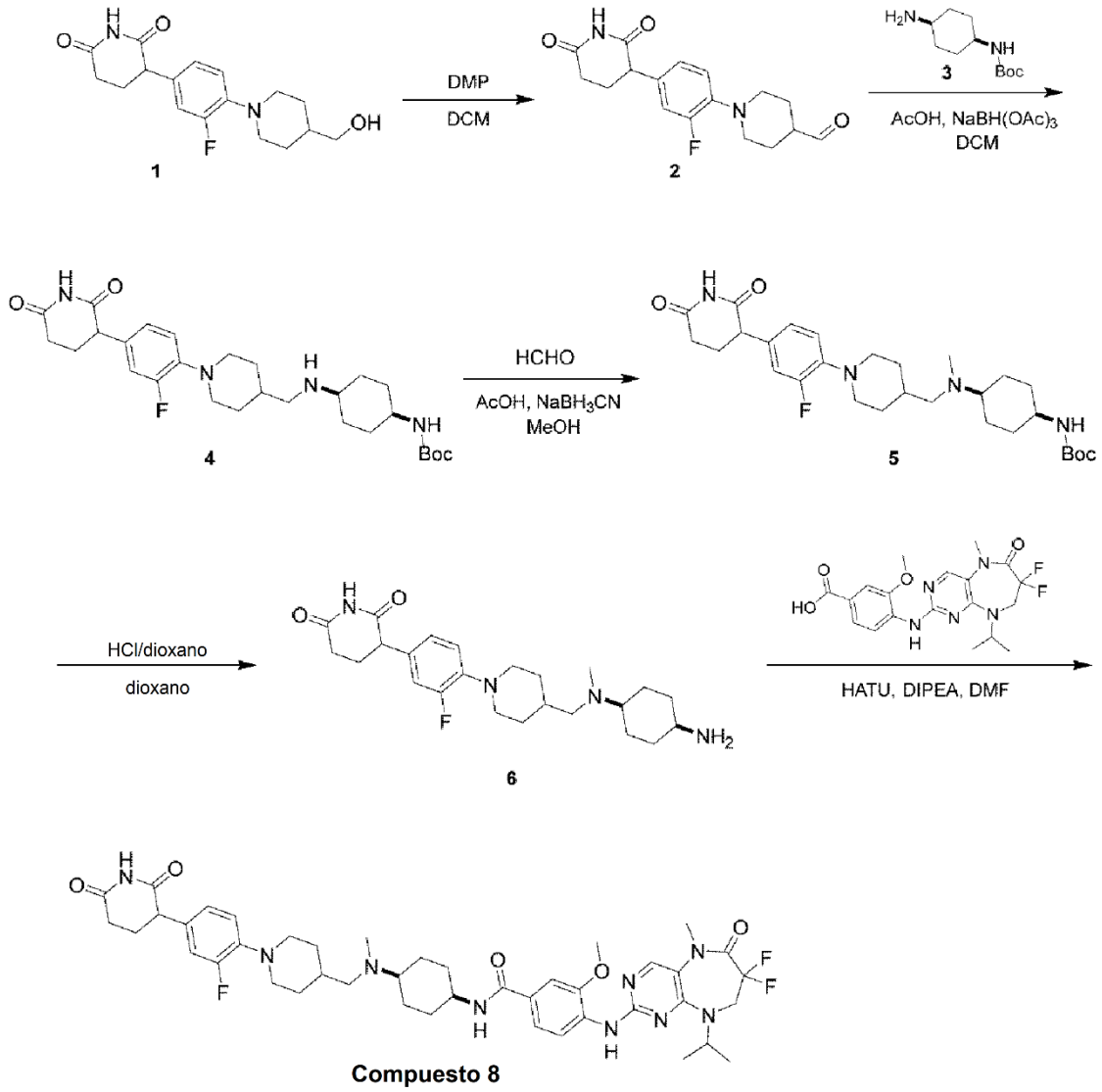
Etapa 8. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (Compuesto 7)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (46,43 mg, 110,18 µmol) en DMF (1 ml) se le añadieron HATU (62,84 mg, 165,26 µmol), DIPEA (71,20 mg, 550,88 µmol, 95,95 µl), la mezcla se agitó a 15 °C durante 0,5 h, se añadió 3-(4-(4-((((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (60 mg, 110,18 µmol, sal TFA), y la mezcla se agitó a 15 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con agua (5 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 5). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC prep. (SiO_2, DCM: MeOH = 9:1) y se purificó de nuevo por

HPLC de fase inversa (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 44 %-74 %, 8 min). El eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (34,9 mg, 41,01 µmol, 37,22 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 834,8

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,81 (s, 1H), 8,30 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,06 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,54-7,44 (m, 2H), 7,05-6,90 (m, 3H), 4,94-4,81 (m, 1H), 4,11-3,98 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,85-3,68 (m, 2H), 3,41-3,35 (m, 2H), 3,30 (s, 3H), 2,69-2,58 (m, 4H), 2,35-2,26 (m, 3H), 2,25-2,12 (m, 4H), 2,04-1,95 (m, 1H), 1,94-1,87 (m, 2H), 1,85-1,73 (m, 4H), 1,58-1,47 (m, 1H), 1,43-1,32 (m, 4H), 1,29-1,17 (m, 8H).

Ejemplo 8. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1s,4s)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (cis) (Compuesto 8)



Etapa 1. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (2)

A la solución de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (0,5 g, 1,56 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió DMP (992,97 mg, 2,34 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por TLC (éter de petróleo/EtOAc = 1/1) mostró que el material de partida se había consumido completamente y que se había formado una nueva mancha. La

mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (0,5 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 319,4

Etapa 2. Síntesis de ((1s,4s)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil) piperidin-4-il)metil)amino)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (4)

A la solución de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (0,5 g, 1,57 mmol) y ((1s,4s)-4-aminociclohexil)carbamato de *terc*-butilo (336,59 mg, 1,57 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron AcOH (113,18 mg, 1,88 mmol, 107,79 µl) y NaBH $(OAc)_3$ (998,65 mg, 4,71 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (19 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en agua (50 ml) y se extrajo con DCM (30 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de MeOH al 0~10 %/EtOAc a 80 ml/min) para proporcionar ((1s,4s)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil) piperidin-4-il)metil)amino)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (0,7 g, 1,00 mmol, 63,84 % de rendimiento, 74 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 517,2

Etapa 3. Síntesis de ((1s,4s)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (5)

A la solución de ((1s,4s)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil) piperidin-4-il)metil)amino)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (0,6 g, 1,16 mmol) y formaldehído (188,49 mg, 2,32 mmol, 172,92 µl, 37 % de pureza)

en MeOH (10 ml) se le añadieron AcOH (69,74 mg, 1,16 mmol, 66,42 µl) y $NaBH_3CN$ (218,94 mg, 3,48 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (95 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se vertió en agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de MeOH al 0~10 %/EtOAc a 80 ml/min) para proporcionar ((1s,4s)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (0,5 g, 942,20 µmol, 81,13 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 531,4

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(4-((((1s,4s)-4-aminociclohexil)(metil)amino)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (cis) (6)

A la solución de ((1s,4s)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil) piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (0,2 g, 376,88 µmol) en dioxano (5 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 5 ml) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal (100 %) con la masa deseada. La mezcla se concentró para proporcionar 3-(4-(4-((((1s,4s)-4-aminociclohexil)(metil)amino)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil) piperidin-2,6-diona (cis) (200 mg, 370,41 µmol, 98,28 % de rendimiento, 3HCl) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 431,2.

Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1s,4s)-4-(((1-(4-

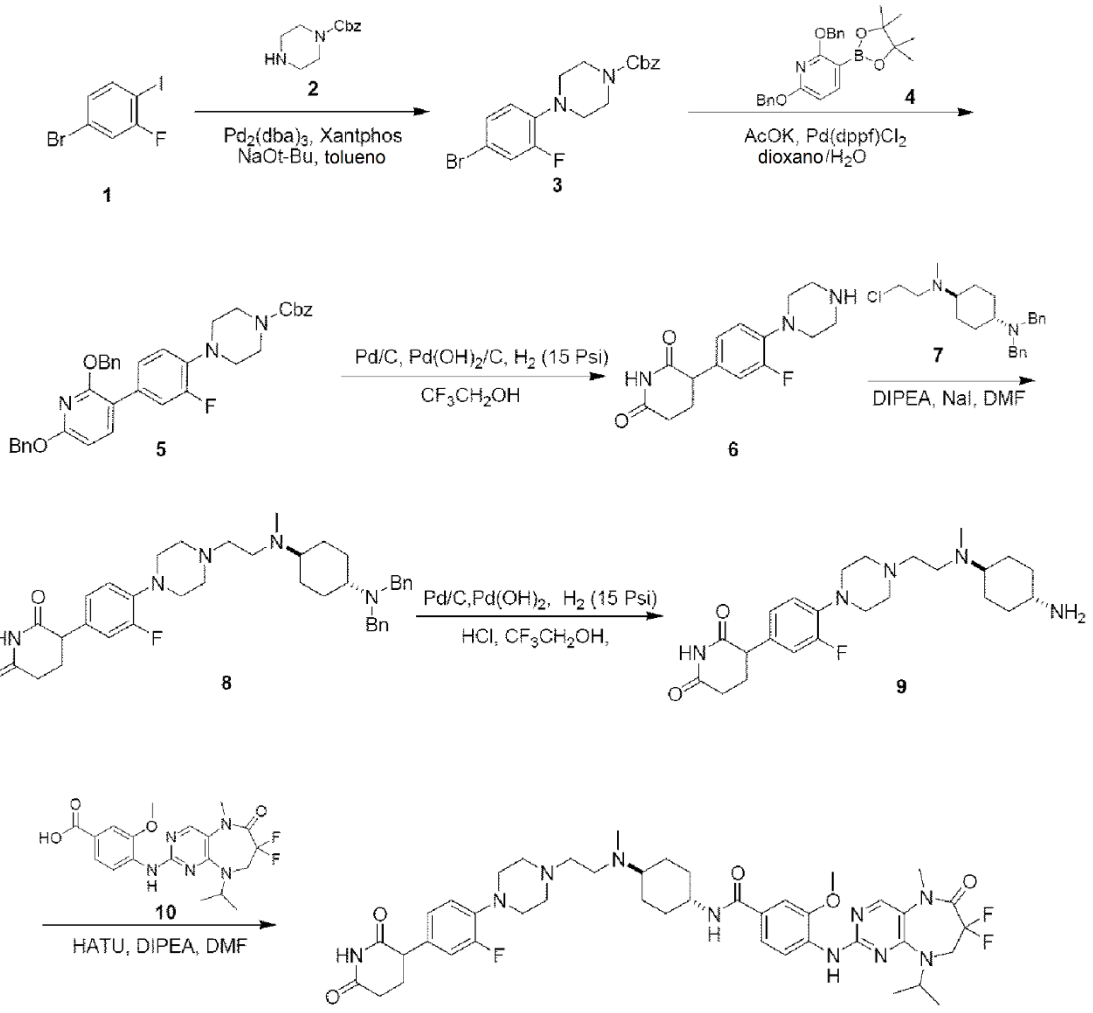
(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (cis) (Compuesto 8)

A la solución de 3-(4-(4-((((1s,4s)-4-aminociclohexil)(metil)amino)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (cis) (0,2 g, 370,41 µmol, 3HCl) y ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (156,09 mg, 370,41 µmol) en DMF (5 ml) se le añadieron HATU (169,01 mg, 444,49 µmol) y DIPEA (287,24 mg, 2,22 mmol, 387,11 µl). La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico con la masa deseada. La mezcla se vertió en agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (30 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La mezcla resultante se purificó por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 * 50 mm * 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 45 %-75 %, 10 min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 µltra 150 * 50 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 16 %-46 %, 7 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1s,4s)-4-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (cis) (55,8 mg, 64,90 µmol, 17,52 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 834,6

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,81 (s, 1H), 8,32-8,29 (m, 1H), 8,22-8,21 (m, 1H), 7,99 (d a, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,52 (d a, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,02-6,93 (m, 3H), 4,93-4,85 (m, 1H), 4,04 (t a, *J* = 13,5 Hz, 2H), 3,95 (s, 4H), 3,79 (dd, *J* = 4,8, 11,7 Hz, 1H), 3,33 (s, 5H), 2,69-2,59

(m, 4H), 2,30-2,26 (m, 3H), 2,23-2,14 (m, 4H), 2,04-1,97 (m, 1H), 1,87-1,79 (m, 6H), 1,60-1,46 (m, 5H), 1,32-1,24 (m, 8H).

Ejemplo 9. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-((2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (trans) (Compuesto 9)



Compuesto 9

Etapa 1. Síntesis de 4-(4-bromo-2-fluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (3)

A una mezcla de 4-bromo-2-fluoro-1-yodobenceno (25 g, 83,09 mmol), piperazin-1-carboxilato de bencilo (18,30 g, 83,09 mmol, 16,05 ml) y t-BuONa (2 M, 124,63 ml) en tolueno (500 ml) se le añadieron $Pd_2(dba)_3$ (3,80 g, 4,15 mmol) y Xantphos (4,81 g, 8,31 mmol) a 25 °C. La mezcla resultante se desgasificó y se purgó con N_2 tres veces, se calentó a 80 °C y se agitó durante 3 h en una atmósfera de N_2. El análisis por TLC (éter de petróleo/EtOAc = 10/1) mostró que se había consumido 4-bromo-2-fluoro-1-yodobenceno y que se formaron nuevas manchas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna de gel de sílice de 120 g, EtOAc/éter de petróleo = 0-7 %, 100 ml/min) para proporcionar 4-(4-bromo-2-fluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (27 g, 68,66 mmol, 82,64 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 394,3

Etapa 2. Síntesis de 4-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (5)

Una mezcla de 4-(4-bromo-2-fluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (15 g, 38,14 mmol), 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (39,79 g, 95,36 mmol), KOAc (11,23 g, 114,43 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (2,79 g, 3,81 mmol) en H_2O (60 ml) y dioxano (300 ml) se agitó a 100 °C durante 14 h bajo la protección de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (26 %) con la masa deseada. La mezcla se concentró y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 120 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~20 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 4-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil) piperazin-1-carboxilato de bencilo (11 g, 17,86 mmol, 46,82 % de rendimiento, 98 % de

pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 604,2

Etapa 3. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (6)

A una solución de 4-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (11 g, 18,22 mmol) en CF_3CH_2OH (200 ml) se le añadieron Pd/C (1,1 g, 10 % de pureza) y $Pd(OH)_2$/C (1,1 g, 20 % de pureza) a 25 °C bajo la protección de N_2. La mezcla resultante se desgasificó y se purgó con H_2 tres veces, a continuación se agitó a 45 °C durante 14 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró un pico (71 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con CF_3CH_2OH (200 ml) y el filtrado se concentró para proporcionar 3-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (5,7 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 292,1

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-(dibencilamino)ciclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (trans) (8)

A la solución de 3-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (3 g, 10,30 mmol) y (1r,4r)-N1,N1-dibencil-N4-(2-cloroetil)-N4-metilciclohexano-1,4-diamina (4,11 g, 9,27 mmol, 0,9 equiv., sal 2HCl) en DMF (50 ml) se le añadieron NaI (154,36 mg, 1,03 mmol) y DIPEA (6,65 g, 51,49 mmol, 8,97 ml) y la mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (56 % bajo 254 nm) con la masa deseada. La mezcla se concentró y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo-MeOH/EtOAc/NH_4OH = 1/5/0,005 a 80 ml/min) para proporcionar 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-(dibencilamino)ciclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3-

fluorofenil)piperidin-2,6-diona (2 g, 2,17 mmol, 21,10 % de rendimiento, 68 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 626,5

Etapa 5. Síntesis de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (trans) (9)

A una solución de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-(dibencilamino)ciclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (2,0 g, 3,20 mmol) en CF_3CH_2OH (100 ml) se le añadieron Pd/C (0,2 g, 10 % de pureza), $Pd(OH)_2$/C (0,2 g, 20 % de pureza) y HCl (1 M, 3,20 ml) en una atmósfera de N_2, la mezcla resultante se desgasificó y se purgó con H_2 tres veces, y a continuación, la mezcla se agitó a 50-55 °C durante 12 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró un pico (65 %) con la masa deseada. La suspensión se filtró a través de un lecho de Celite y la torta de filtro se lavó con CF_3CH_2OH (200 ml). El filtrado se concentró a sequedad para proporcionar 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (1,9 g, en bruto, sal 4HCl) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 446,3

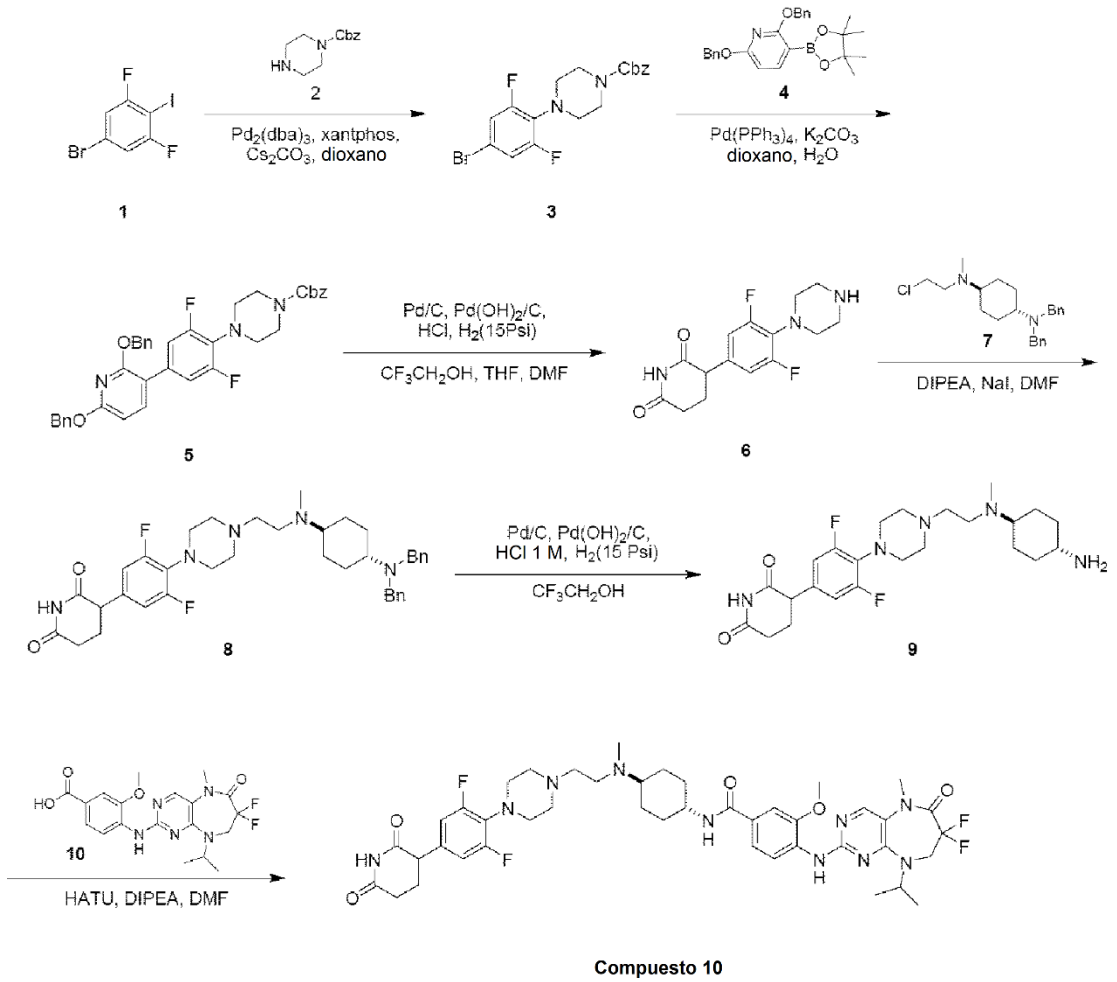
Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-((2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (trans) (Compuesto 9)

A la solución de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (1,80 g, 3,04 mmol sal 4HCl) y ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-

6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (1,15 g, 2,74 mmol) en DMF (30 ml) se le añadieron HATU (1,39 g, 3,65 mmol) y DIPEA (2,36 g, 18,26 mmol, 3,18 ml) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (61 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se vertió en agua (150 ml) y se extrajo con EtOAc (100 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 8 %-38 %, 10 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-((2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (1,2 g, 1,18 mmol, 38,90 % de rendimiento, 98 % de pureza, sal TFA) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 849,4.

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,82 (s, 1H), 8,36-8,28 (m, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,07 (d a, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,56-7,46 (m, 2H), 7,07-6,92 (m, 3H), 4,93-4,83 (m, 1H), 4,05 (t a, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,81 (dd, *J* = 4,8, 11,8 Hz, 1H), 3,75 (dd a, *J* = 1,7, 4,3 Hz, 1H), 3,33 (s, 3H), 3,06-2,95 (s a, 4H), 2,71-2,56 (m, 8H), 2,47-2,43 (m, 2H), 2,31-2,12 (m, 5H), 2,05-1,97 (m, 1H), 1,94-1,88 (m, 2H), 1,83-1,76 (m, 2H), 1,43-1,32 (m, 4H), 1,25 (d, *J* = 6,8, 6H).

Ejemplo 10. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-((2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-il)etil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (trans) (Compuesto 10)



Compuesto 10

Etapa 1. Síntesis de 4-(4-bromo-2,6-difluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (3)

A una solución de 5-bromo-1,3-difluoro-2-yodobenceno (10 g, 31,36 mmol) y piperazin-1-carboxilato de bencilo (7,25 g, 32,93 mmol, 6,36 ml) en dioxano (150 ml) se le añadieron Cs_2CO_3 (20,43 g, 62,72 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (574,33 mg, 627,19 µmol) y Xantphos (544,35 mg, 940,78 µmol) y la mezcla se agitó a 100 °C durante 14 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (41 %) con la masa deseada. La mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (100 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice

SepaFlash® de 120 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 10~15 %/éter de petróleo a 50 ml/min) para proporcionar 4-(4-bromo-2,6-difluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (6,2 g, 14,17 mmol, 45,19 % de rendimiento, 94 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 411,1

Etapa 2. Síntesis de 4-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (5)

A una solución de 4-(4-bromo-2,6-difluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (3,5 g, 8,51 mmol) y 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (3,91 g, 9,36 mmol) en dioxano (30 ml) y H_2O (15 ml) se le añadieron K_2CO_3 (3,53 g, 25,53 mmol) y $Pd(PPh_3)_4$ (196,70 mg, 170,22 µmol) y la mezcla se agitó a 100 °C durante 14 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (53 %) con la masa deseada. La mezcla se diluyó con H_2O (30 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 15~20 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 4-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (2,65 g, 3,92 mmol, 46,08 % de rendimiento, 92 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 622,3

Etapa 3. Síntesis de 3-(3,5-difluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (6)

A una solución de 4-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (2,65 g, 4,26 mmol) y HCl (12 M,

358,65 µl) en CF_3CH_2OH (50 ml) y THF (50 ml) se le añadieron Pd/C (0,15 g, 10 % de pureza) y $Pd(OH)_2/C$ (0,15 g, 20 % de pureza) en una atmósfera de N_2 y la mezcla se desgasificó y se purgó con N_2 3 veces, a continuación la suspensión se agitó a 50 °C en una atmósfera de H_2 (15 psi) durante 34 h. El análisis por LCMS no mostró ninguna reacción. Se añadió DMF (10 ml) y la mezcla resultante se agitó a 50 °C en una atmósfera de H_2 (15 psi) durante 14 h. El análisis por LCMS no mostró ninguna reacción. Se añadió más cantidad de DMF (40 ml) y la mezcla se agitó a 50 °C en una atmósfera de H_2 (15 psi) durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal (94 %) con la masa deseada. La mezcla se diluyó con THF (50 ml) y se filtró. La torta de filtro se lavó con THF (30 ml), DMF (100 ml) y MeOH (200 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(3,5-difluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (1,2 g, en bruto, sal HCl) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 310,2

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-(dibencilamino)ciclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona(trans) (8)

A una solución de 3-(3,5-difluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (1,1 g, 3,18 mmol, sal HCl) en DMF (20 ml) se le añadieron NaI (23,84 mg, 159,06 µmol), DIPEA (2,08 g, 16,08 mmol, 2,8 ml) y (1r,4r)-N1,N1-dibencil-N4-(2-cloroetil)-N4-metilciclohexano-1,4-diamina (trans) (1,27 g, 2,86 mmol, sal 2HCl) y la mezcla se agitó a 50 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un pico (85 %) con la masa deseada. La mezcla se diluyó con H_2O (40 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión

reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~20 %/éter de petróleo a 60 ml/min) para proporcionar 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-(dibencilamino)ciclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona (trans) (1,25 g, 1,65 mmol, 51,88 % de rendimiento, 85 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 644,2

Etapa 5. Síntesis de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona (trans) (9)

A una solución de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-(dibencilamino)ciclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona (trans) (1,05 g, 1,63 mmol) y HCl (1 M, 1,63 ml) en CF_3CH_2OH (20 ml) se le añadieron Pd/C (100 mg, 10 % de pureza) y $Pd(OH)_2/C$ (100 mg, 20 % de pureza) en una atmósfera de N_2 y la suspensión se desgasificó y se purgó con H_2 3 veces y la mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 28 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró un pico (30 %) con la masa del material de partida y un pico (54 %) con la masa deseada. La mezcla se agitó a 50 °C en una atmósfera de H_2 (15 psi) durante 14 h más. El análisis por LCMS mostró un 91 % de la masa deseada. La mezcla se diluyó con CF_3CH_2OH (50 ml) y se filtró. La torta de filtro se lavó con THF (30 ml), DMF (100 ml) y CF_3CH_2OH (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona (trans) (830 mg, en bruto, 3HCl) en forma de un sólido de color amarillo.

$MS(M+H)^+$ = 464,3

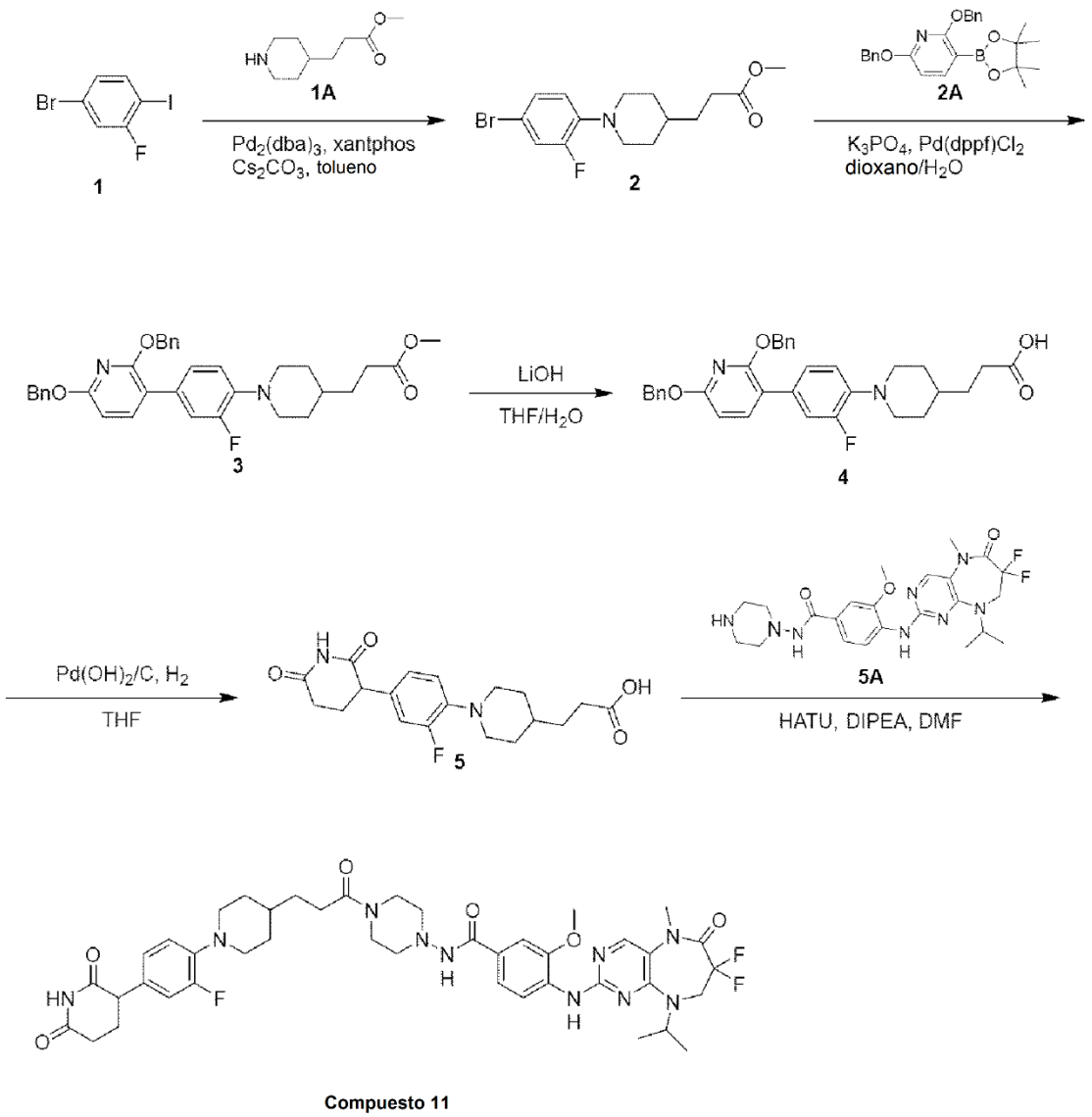
Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-((2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-il)etil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (trans) (Compuesto 10)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (470 mg, 1,12 mmol) y HATU (508,90 mg, 1,34 mmol) en DMF (7 ml) se le añadió DIPEA (348,74 mg, 2,70 mmol, 470,00 µl) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 15 min. A continuación, se añadió una solución de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona (780 mg, 1,36 mmol, 3HCl) y DIPEA (697,46 mg, 5,40 mmol, 939,98 µl) en DMF (8 ml) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado la masa deseada. La mezcla se diluyó con H_2O (30 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 2), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de MeOH al 20~30 %/EtOAc a 50 ml/min), a continuación se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 x 50 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 40 %-70 %, 10 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-((2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-il)etil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (346,7 mg, 383,91 µmol, 34,42 % de rendimiento, 96 % de

pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 867,5

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,85 (s, 1H), 8,30 (dd, *J* = 2,9, 8,3 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,06 (d a, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,52-7,46 (m, 2H), 6,99-6,90 (m, 2H), 4,92-4,84 (m, 1H), 4,10-3,99 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,83 (dd, *J* = 4,7, 12,4 Hz, 1H), 3,79-3,66 (m, 1H), 3,30 (s, 3H), 3,13-3,06 (m, 4H), 2,66-2,53 (m, 8H), 2,44-2,36 (m, 2H), 2,29-2,16 (m, 5H), 2,03-1,95 (m, 1H), 1,93-1,86 (m, 2H), 1,80-1,73 (m, 2H), 1,42-1,31 (m, 4H), 1,24 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

Ejemplo 11. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(3-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoil)piperazin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 11)



Etapa 1. Síntesis de 3-(1-(4-bromo-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoato de metilo (2)

A una solución de 4-bromo-2-fluoro-1-yodobenceno (750 mg, 2,49 mmol), 3-(piperidin-4-il)propanoato de metilo (491,81 mg, 2,37 mmol, HCl) y Cs_2CO_3 (2,44 g, 7,48 mmol) en tolueno (10 ml) se le añadieron $Pd_2(dba)_3$ (114,12 mg, 124,63 µmol) y Xantphos (144,23 mg, 249,26 µmol) a 25 °C. La mezcla se agitó en una atmósfera de N_2 a 90 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un

pico (45 %) con la masa deseada. La mezcla se diluyó con EtOAc (30 ml), se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~30 %/éter de petróleo a 60 ml/min) para proporcionar 3-(1-(4-bromo-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoato de metilo (250 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. $MS(M+H)^+ = 344,0$

Etapa 2. Síntesis de 3-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoato de metilo (3)

A una mezcla de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (333,39 mg, 798,91 µmol), 3-(1-(4-bromo-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoato de metilo (250 mg, 726,28 µmol) y K_3PO_4 (462,50 mg, 2,18 mmol) en dioxano (5 ml) y H_2O (1 ml) se le añadió $Pd(dppf)Cl_2$ (53,14 mg, 72,63 µmol) a 25 °C. La mezcla resultante se purgó y se desgasificó con N_2 tres veces, se calentó a 90 °C y se agitó durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (34 %) con la masa deseada. La mezcla se diluyó con EtOAc (50 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~15 %/éter de petróleo a 60 ml/min) para proporcionar 3-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoato de metilo (150 mg, 262,33 µmol, 36,12 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. $MS(M+H)^+ = 555,6$

Etapa 3. Síntesis de ácido 3-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoico (4)

Una mezcla de 3-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoato de metilo (150 mg, 270,44 µmol) y $LiOH.H_2O$ (34,05 mg, 811,32 µmol) en THF (2 ml) y H_2O (2 ml) se agitó a 50 °C durante 5 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente, y un pico principal con la masa deseada. La mezcla se ajustó a pH = 3 con HCl 1 N, a continuación la mezcla se diluyó con H_2O (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con H_2O (10 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar ácido 3-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoico (150 mg, 260,81 µmol, 96,44 % de rendimiento, 94 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. $MS(M+H)^+$ = 541,3

Etapa 4. Síntesis de ácido 3-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoico (5)

A una solución de ácido 3-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoico (146 mg, 270,06 µmol) en THF (5 ml) se le añadió $Pd(OH)_2/C$ (50 mg, 20 % de pureza). La mezcla se agitó a 30 °C en una atmósfera de H_2 (15 psi) durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (54 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y el filtrado se concentró para proporcionar ácido 3-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoico (97 mg, en bruto) en forma de un sólido de color blanco, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS $(M+H)^+$ =

363,1

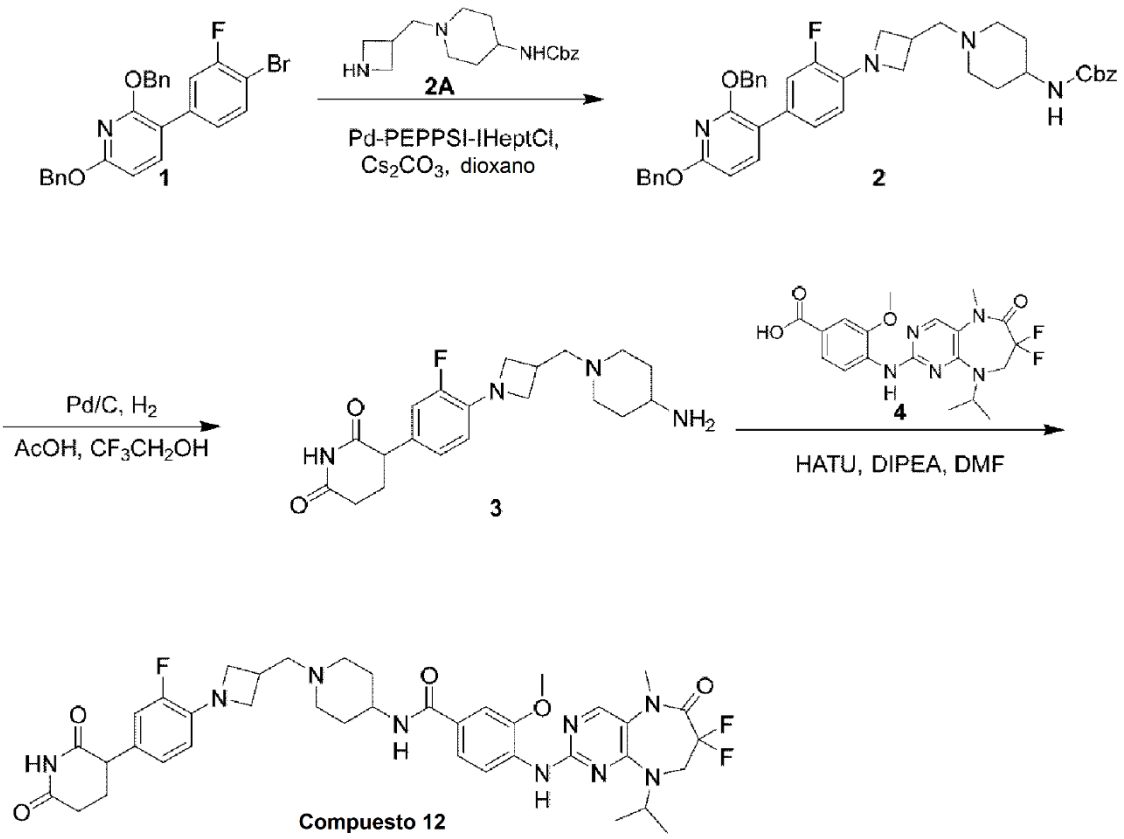
Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(3-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoil)piperazin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 11)

A una solución de ácido 3-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoico (60 mg, 165,57 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (94,43 mg, 248,36 µmol) y DIPEA (64,19 mg, 496,71 µmol, 86,51 µl). La mezcla se agitó a 25 °C durante 10 min. A la mezcla se le añadió 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(piperazin-1-il)benzamida (84,90 mg, 156,93 µmol, HCl). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que la 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(piperazin-1-il)benzamida se había consumido completamente y un pico principal con la masa deseada. La mezcla se diluyó con EtOAc (20 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 50 ml/min; eluyente de metanol al 0~50 %/EtOAc a 50 ml/min) para dar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 36 %-66 %, 8 min) y se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(3-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)propanoil)piperazin-1-il)-3-metoxibenzamida (57 mg,

65,13 µmol, 39,34 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 849,1

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,80 (s, 1H), 9,43 (s, 1H), 8,31 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,48-7,38 (m, 2H), 7,05-6,90 (m, 3H), 4,95-4,80 (m, 1H), 4,03 (t, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,79 (dd, *J* = 4,9, 11,8 Hz, 1H), 3,64-3,50 (m, 4H), 3,32 (s, 3H), 3,32-3,30 (m, 2H), 2,97-2,81 (m, 4H), 2,69-2,57 (m, 4H), 2,39 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,27-2,12 (m, 1H), 2,05-1,94 (m, 1H), 1,78 (d, *J* = 11,9 Hz, 2H), 1,56-1,46 (m, 2H), 1,45-1,26 (m, 4H), 1,24 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H)

Ejemplo 12. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)azetidin-3-il)metil)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 12)



Compuesto 12

Etapa 1. Síntesis de (1-((1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)azetidin-3-il)metil)piperidin-4-il)carbamato de bencilo (2)

A una solución de 2,6-dibenciloxi-3-(4-bromo-3-fluoro-fenil)piridina (600 mg, 1,29 mmol) en dioxano (12 ml) se le añadieron N-[1-(azetidin-3-ilmetil)-4-piperidil]carbamato de bencilo (2,43 g, 5,81 mmol, sal TFA), Cs_2CO_3 (2,53 g, 7,75 mmol) y Pd-PEPPSI-IHeptCl (62,85 mg, 64,61 µmol) a 20 °C en una atmósfera de N_2 y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (50 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de

petróleo a 100 ml/min) para proporcionar (1-((1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)azetidin-3-il)metil)piperidin-4-il)carbamato de bencilo (1,3 g, en bruto) en forma de un aceite de color naranja. MS(M+H)$^+$ = 687,2

Etapa 2. Síntesis de 3-(4-(3-((4-aminopiperidin-1-il)metil)azetidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (3)

A una solución de (1-((1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)azetidin-3-il)metil)piperidin-4-il)carbamato de bencilo (0,7 g, 1,02 mmol) en CF_3CH_2OH (10 ml) y AcOH (1 ml) se le añadió Pd/C (0,3 g, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con H_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc: THF = 1:1 (30 ml) y se filtró, el filtrado se concentró al vacío para proporcionar 3-(4-(3-((4-aminopiperidin-1-il)metil)azetidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (648 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 375,4

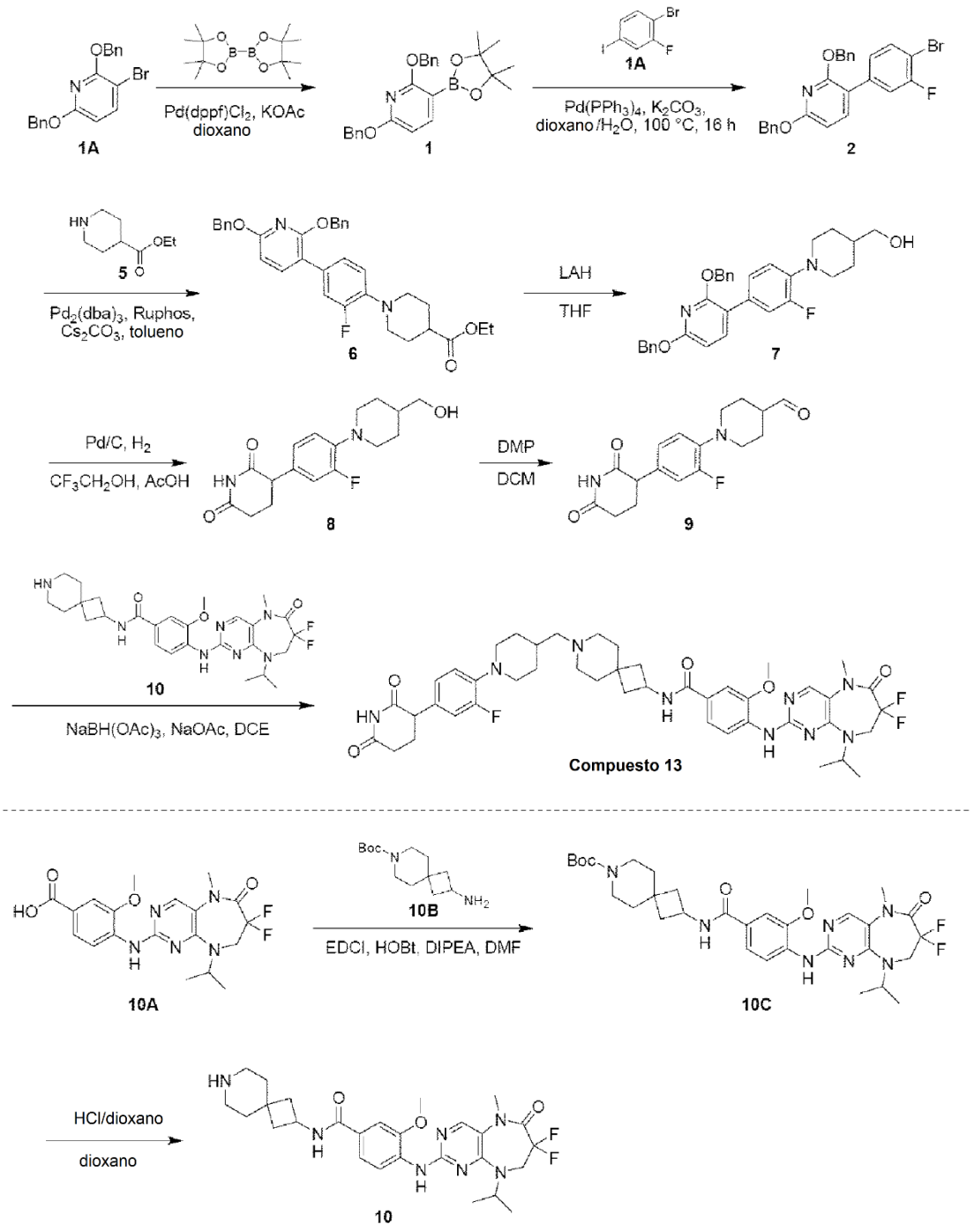
Etapa 3. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)azetidin-3-il)metil)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 12)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (100 mg, 237,31 µmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (99,25 mg, 261,04 µmol) y DIPEA (61,34 mg, 474,61 µmol, 82,67 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 10 min y se añadió una solución de 3-(4-(3-((4-aminopiperidin-1-

il)metil)azetidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (266,58 mg, 711,92 µmol) con DIPEA (122,68 mg, 949,22 µmol, 165,34 µl) en DMF (3 ml), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (56 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (15 ml) y se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (15 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante TLC prep. (SiO_2, DCM: MeOH = 20:1) seguido de HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 33 %-68 %, 9 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)azetidin-3-il)metil)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (23 mg, 28,68 µmol, 12,09 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 778,2

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,78 (s, 1H), 8,30 (d a, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,09 (d a, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,55-7,45 (m, 2H), 6,96-6,82 (m, 2H), 6,49 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,94-4,82 (m, 1H), 4,09-3,97 (m, 4H), 3,94 (s, 3H), 3,83-3,69 (m, 2H), 3,54 (t a, *J* = 6,1 Hz, 2H), 3,32 (s, 3H), 2,96-2,80 (m, 3H), 2,65-2,55 (m, 3H), 2,45 (s a, 1H), 2,16 (dc, *J* = 3,4, 12,1 Hz, 1H), 2,08-1,94 (m, 3H), 1,77 (d a, *J* = 11,0 Hz, 2H), 1,64-1,51 (m, 2H), 1,24 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H).

Ejemplo 13. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 13)



Etapa 1. Síntesis de 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (10C)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (3 g, 7,12 mmol) en DMF (50 ml) se le añadieron EDCI (2,10 g, 10,95 mmol), HOBt (900,00 mg, 6,66 mmol), DIPEA (4,45 g, 34,45 mmol, 6,00 ml) y 2-amino-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,90 g, 7,91 mmol) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (85 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (30 ml) y se extrajo con EtOAc (80 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (60 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 40~100 %:éter de petróleo, 80 ml/min) para proporcionar 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (3,6 g, 5,59 mmol, 78,56 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo claro. $MS(M+H)^+$ = 644,2.

Etapa 2. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (10)

A una solución de 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (3,6 g, 5,59 mmol) en dioxano (40 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 60 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada.

La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (3,2 g, en bruto, sal HCl) en forma de un sólido de color amarillo claro. $MS(M+H)^+$ = 544,2.

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 9,98 (s, 1H), 9,30-9,12 (m, 2H), 8,96-8,81 (m, *J* = 7,0 Hz, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,01-7,92 (m, 1H), 7,74-7,64 (m, 1H), 7,64-7,57 (m, 1H), 5,00-4,86 (m, 1H), 4,47-4,38 (m, 1H), 4,35-4,23 (m, 2H), 3,98-3,91 (m, 3H), 3,33 (s, 3H), 3,01-2,87 (m, 4H), 2,28-2,20 (m, 2H), 2,04-1,96 (m, 2H), 1,84-1,74 (m, 4H), 1,33-1,21 (m, 6H).

Etapa 3. Síntesis de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (1)

Una mezcla de 2,6-bis(benciloxi)-3-bromopiridina (20 g, 54,02 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (20,58 g, 81,03 mmol), $Pd(dppf)Cl_2$ (4,41 g, 5,40 mmol) y KOAc (7,58 g, 108,04 mmol) en dioxano (500 ml) se desgasificó y se purgó con N_2 3 veces, y a continuación, la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (32 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con agua (500 ml) y se extrajo con EtOAc (500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 320 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~10 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (26 g, en bruto) en forma de un aceite de color

amarillo. MS(M+H)$^+$ = 418,2.

Etapa 4. Síntesis de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (2)

Una mezcla de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (8 g, 19,17 mmol), 1-bromo-2-fluoro-4-yodobenceno (4,8 g, 15,95 mmol), $Pd(PPh_3)_4$ (1,6 g, 1,38 mmol) y K_2CO_3 (8,0 g, 57,88 mmol) en dioxano (80 ml) y H_2O (20 ml) se desgasificó y se purgó con N_2 3 veces, a continuación la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (41 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró. El filtrado se diluyó con H_2O (50 ml) y se extrajo con EtOAc (120 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (60 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 120 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~10 %:éter de petróleo, 60 ml/min) para proporcionar dos lotes de producto.

Lote 1: Se obtuvo 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (2,4 g, 5,17 mmol, 26,96 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo claro.

Lote 2: Se obtuvo 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (4,2 g, 9,05 mmol, 47,18 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo claro. MS(M+H)$^+$ = 465,1.

Etapa 5. Síntesis de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (6)

Una mezcla de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (4,2 g, 9,05 mmol), piperidin-4-carboxilato de etilo (3,82 g, 24,31 mmol, 3,75 ml),

$Pd_2(dba)_3$ (1,60 g, 1,75 mmol), RuPhos (800 mg, 1,71 mmol) y Cs_2CO_3 (9 g, 27,62 mmol) en Tol. (150 ml) se desgasificó y se purgó con N_2 3 veces, y a continuación, la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (25 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 120 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 2~20 %:éter de petróleo, 80 ml/min). El compuesto 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (2,7 g, 4,99 mmol, 55,21 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un aceite de color amarillo claro. $MS(M+H)^+$ = 541,1

Etapa 6. Síntesis de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metanol (7)

A una mezcla de LAH (360 mg, 9,49 mmol) en THF (30 ml) se le añadió 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (3,50 g, 6,47 mmol) en THF (40 ml) a 0 °C, y a continuación, la mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (4 ml) y una solución de NaOH (15 %, 6 ml) a 0 °C, a continuación se añadió Na_2SO_4 (30 g), a continuación la suspensión se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida. El compuesto (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metanol (3,0 g, en bruto) se obtuvo en forma de un sólido de color amarillo claro. $MS(M+H)^+$ = 499,2.

Etapa 7. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (8)

A una solución de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metanol (3 g, 6,02 mmol) en CF_3CH_2OH (150 ml) se le añadieron HOAc (315,00 mg, 5,25 mmol, 300 ul) y Pd/C (800 mg, 6,02 mmol, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2, la mezcla se desgasificó y se purgó con H_2 varias veces, a continuación, la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El compuesto 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (1,9 g, en bruto) se obtuvo en forma de un aceite de color amarillo claro. $MS(M+H)^+ = 321,1$.

Etapa 8. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (9)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (1,90 g, 5,93 mmol) en DCM (100 ml) se le añadió DMP (3,80 g, 8,96 mmol, 2,77 ml). La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada detectada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar un residuo. El compuesto 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (1,80 g, en bruto) se obtuvo en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+ = 319,1$

Etapa 9. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 13)

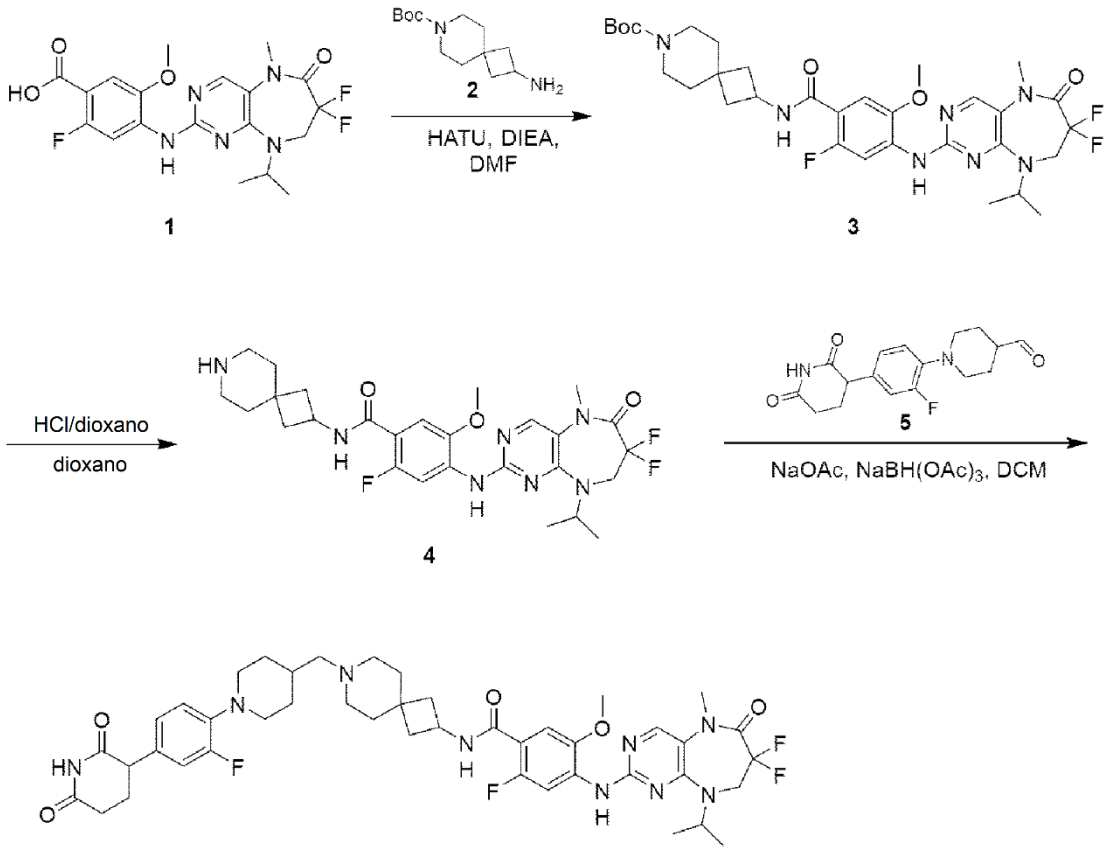
A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-

tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (2,6 g, 4,48 mmol, sal HCl) en DCE (100 ml) se le añadieron 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (1,80 g, 5,65 mmol) y NaOAc (500 mg, 6,10 mmol). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. A continuación, a la mezcla se le añadió $NaBH(OAc)_3$ (5,0 g, 23,59 mmol) a 25 °C, y la mezcla se agitó a 25 °C durante 15 h. El análisis por LCMS mostró un pico (41 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (30 ml) a 0 °C, y se ajustó a pH ~9 con $NaHCO_3$ (ac. sat.) a 0 °C, a continuación se extrajo con EtOAc (80 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de metanol al 2~20 %:diclorometano éter, 50 ml/min). El producto se trituró con MTBE y CH_3CN a 20 °C durante 1 h 4 veces seguido de liofilización para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (501,9 mg, 578,47 µmol, 12,91 % de rendimiento, 97,5 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. Las aguas madres se concentraron a presión reducida, el residuo se purificó por HPLC prep.(columna: Waters Xbridge C18 150 * 50 mm * 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 42 %-72 %, 10 min; Temp. de la columna: 30 °C) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-

fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (694 mg, 812,18 µmol, 18,12 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 846,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10,82 (s, 1H), 8,49-8,39 (m, 1H), 8,35-8,26 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,55-7,44 (m, 2H), 7,03-6,90 (m, 3H), 4,93-4,82 (m, 1H), 4,48-4,32(m, 1H), 4,04 (t, *J* = 13,5 Hz, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,83-3,73 (m, 1H), 3,37-3,32 (m, 5H), 2,69-2,57 (m, 3H), 2,47-2,43 (m 1H), 2,35-2,10 (m, 9H), 2,03-1,96 (m, 1H), 1,85-1,73 (m, 4H), 1,65-1,49 (m, 5H), 1,28-1,18 (m, 8H).

Ejemplo 14. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida (Compuesto 14)



Compuesto 14

Etapa 1. Síntesis de 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metoxibenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (3)

A la solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido [4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico (1 g, 2,28 mmol) y 2-amino-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (546,99 mg, 2,28 mmol) en DMF (20 ml) se le añadieron HATU (1,04 g, 2,73 mmol) y DIPEA (882,43 mg, 6,83 mmol, 1,19 ml) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (79 %) con la masa deseada, la mezcla se vertió en agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc

(50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b] [1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metoxibenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,5 g, 2,24 mmol, 98,61 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 662,6

Etapa 2. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (4)

A la solución de 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metoxibenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,5 g, 2,27 mmol) en dioxano (10 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 10 ml) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico (100 %) con la masa deseada, y la mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (1,3 g, 2,17 mmol, 95,89 % de rendimiento, sal HCl) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 562,2

Etapa 3. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-

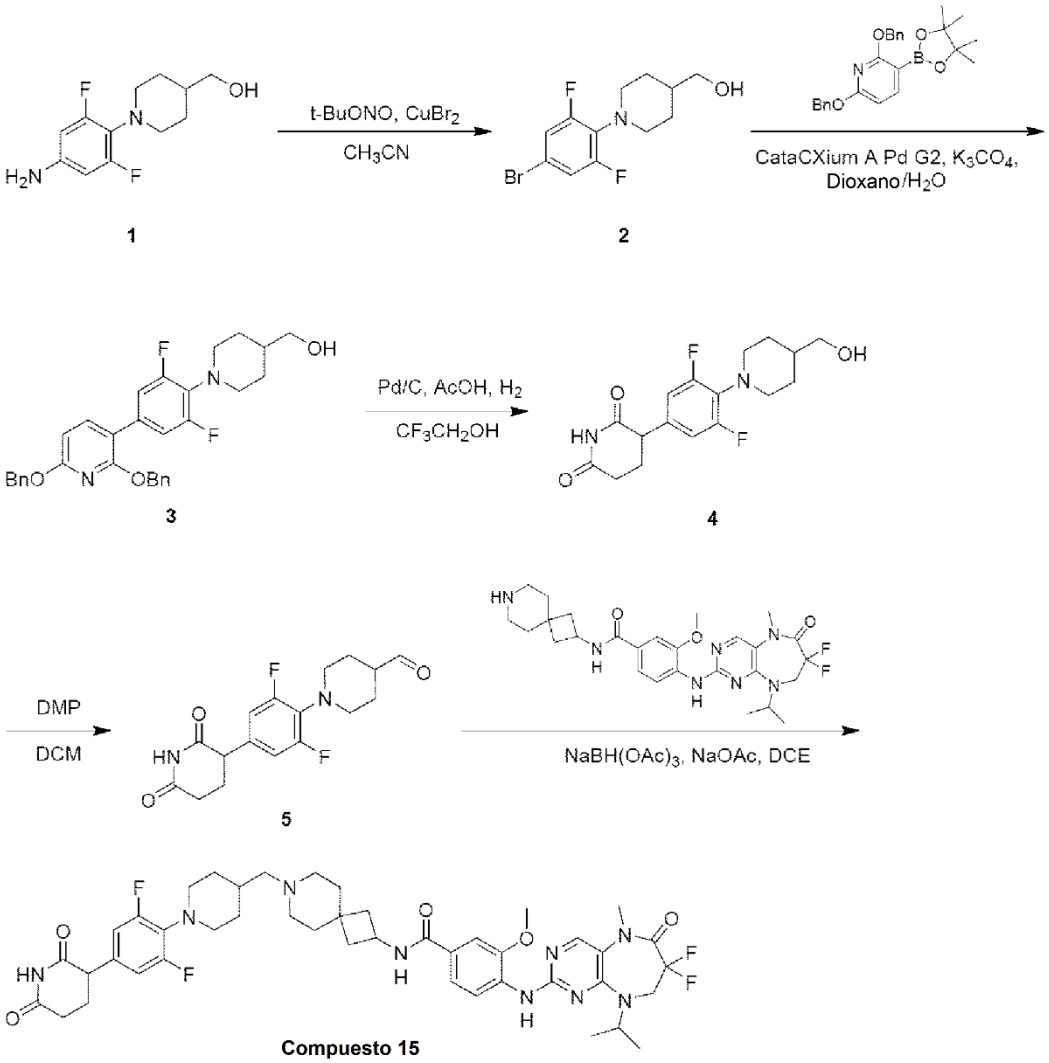
azaespiro[3.5]nonan-2-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida (Compuesto 14)

A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (1,3 g, 2,17 mmol sal HCl) en DCM (20 ml) se le añadieron 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (691,98 mg, 2,17 mmol) y NaOAc (267,48 mg, 3,26 mmol), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. A continuación, a la mezcla se le añadió $NaBH(OAc)_3$ (2,30 g, 10,87 mmol) a 20 °C, la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 15 h. El análisis por LCMS mostró un pico (29 %) con la masa deseada, la mezcla se vertió en agua (100 ml) y se extrajo con DCM (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de MeOH al 0~30 %/EtOAc a 80 ml/min) para proporcionar 0,75 g de producto en bruto. El producto en bruto se trituró con DMF (5 ml) y MeOH (2 ml) para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida (203 mg, 225,57 µmol, 10,38 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. Las aguas madre se purificaron de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 * 50 mm * 10 um; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 45 %-75 %, 10 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-

2-fluoro-5-metoxibenzamida (271,3 mg, 301,47 µmol, 13,87 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 864,5.

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,80 (s, 1H), 8,31-8,24 (m, 2H), 8,21 (dd, *J* = 3,3, 7,4 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,19 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,03-6,92 (m, 3H), 4,97-4,83 (m, 1H), 4,44-4,31 (m, 1H), 4,06 (t, *J* = 13,4 Hz, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,79 (dd, *J* = 4,8, 11,8 Hz, 1H), 3,33 (s, 2H), 3,29 (s, 3H), 2,68-2,58 (m, 3H), 2,49-2,43 (m, 1H), 2,32-2,09 (m, 9H), 2,03-1,96 (m, 1H), 1,82-1,74 (m, 4H), 1,62-1,49 (m, 5H), 1,28-1,19 (m, 8H).

Ejemplo 15. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 15)



Etapa 1. Síntesis de (1-(4-bromo-2,6-difluorofenil)piperidin-4-il)metanol (2)

A una mezcla de (1-(4-amino-2,6-difluorofenil)piperidin-4-il)metanol (3,4 g, 14,03 mmol) en CH_3CN (50 ml) se le añadió nitrito de *terc*-butilo (2,25 g, 21,86 mmol, 2,6 ml) a 0 °C, y a continuación, la mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 h, y a continuación se añadió $CuBr_2$ (2,7 g, 12,09 mmol, 566,04 µl) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 25 °C durante 3,5 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc

(80 ml), a continuación se añadió H_2O (20 ml) a 0 °C, a continuación se añadió $NaHCO_3$ saturado (20 ml) a las capas acuosas para ajustar el pH = 9 a 0 °C, la capa acuosa combinada se extrajo con EtOAc 120 ml (40 ml x 3), a continuación, las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, filtraron, y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 10~50 %:éter de petróleo, 80 ml/min) para proporcionar (1-(4-bromo-2,6-difluorofenil)piperidin-4-il)metanol (900 mg, 2,94 mmol, 20,95 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo claro. $MS(M+H)^+ = 306$

Etapa 2. Síntesis de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperidin-4-il)metanol (3)

Una mezcla de (1-(4-bromo-2,6-difluorofenil)piperidin-4-il)metanol (800 mg, 2,61 mmol), 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (1,31 g, 3,14 mmol), CataCXium A Pd G_2 (300 mg, 448,68 µmol) y K_3PO_4 (1,66 g, 7,84 mmol) en dioxano (25 ml) y H_2O (5 ml) se desgasificó y se purgó con N_2 3 veces, y a continuación, la mezcla se agitó a 50 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico al 40 % con la masa deseada detectada. La mezcla de reacción se filtró y al filtrado se le añadió H_2O (10 ml), la mezcla se extrajo con EtOAc (40 ml x 2), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera 90 ml (30 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 10~50 %:éter de petróleo, 80 ml/min) para proporcionar (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2,6-

difluorofenil)piperidin-4-il)metanol (1,1 g, 2,13 mmol, 81,49 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo claro. MS(M+H)$^+$ = 517,2

Etapa 3. Síntesis de 3-(3,5-difluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil) piperidin-2,6-diona (4)

A una solución de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperidin-4-il)metanol (1,1 g, 2,13 mmol) en CF_3CH_2OH (50 ml) se le añadieron CH_3COOH (100 mg, 1,67 mmol, 95,24 µl) y Pd/C (400 mg, 2,13 mmol, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2, a continuación, la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que se había detectado un pico principal con la masa deseada y que no quedaba ningún pico con el material de partida. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(3,5-difluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (560 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo claro. MS(M+H)$^+$ = 339,1

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 11,28-10,15 (m, 1H), 6,99-6,83 (m, 2H), 3,89-3,76 (m, 2H), 3,35-3,26 (m, 2H), 3,20-3,12 (m, 2H), 3,04-2,99 (m, 2H), 2,69-2,57 (m, 1H), 2,29-2,17 (m, 1H), 2,06-1,96 (m, 1H), 1,76-1,68 (m, 2H), 1,53-1,44 (m, 1H), 1,30-1,20 (m, 3H).

Etapa 4. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (5)

A una solución de 3-(3,5-difluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (200 mg, 591,11 µmol) en DCM (10 ml) se le añadió DMP (380 mg, 895,93 µmol, 277,37 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión

reducida para proporcionar 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (180 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo claro. MS(M+H)$^+$ = 337,1

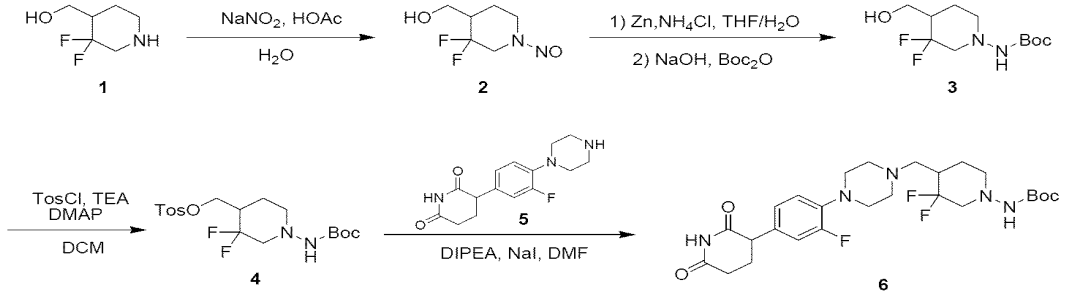
Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 15)

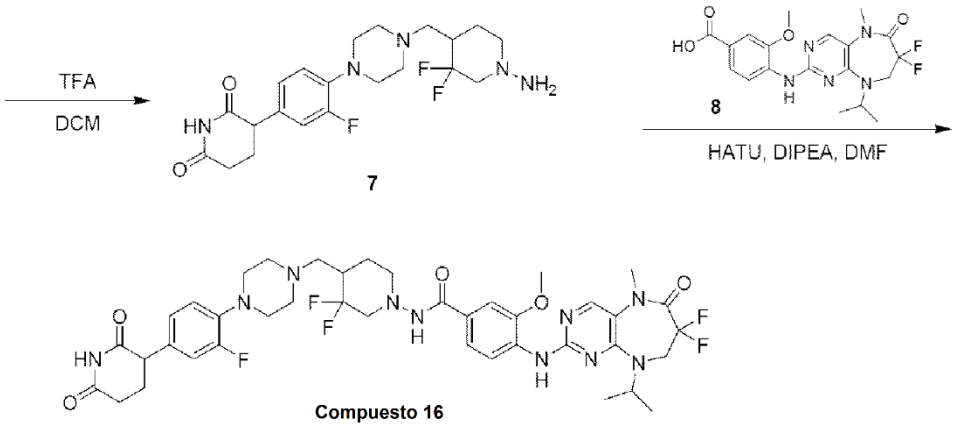
A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (220 mg, 379,27 µmol, HCl) en DCE (10 ml) se le añadieron 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (160 mg, 475,72 µmol) y NaOAc (60 mg, 731,44 µmol) La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. A continuación, a la mezcla se le añadió $NaBH(OAc)_3$ (460 mg, 2,17 mmol) a 25 °C, y la mezcla se agitó a 25 °C durante 15 h. El análisis por LCMS mostró un pico al 40 % con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (10 ml) a 0 °C, a continuación se añadió $NaHCO_3$ saturado (ac., 15 ml) a las capas acuosas para ajustar el pH = 9 a 0 °C, la capa acuosa combinada se extrajo con EtOAc 60 ml (20 ml x 3), a continuación, las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera 60 ml (30 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 x 25 mm x 4 um; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 33 %-53 %, 7 min; Temp. de la columna: 30 °C) seguido de liofilización para dar el producto en bruto. El producto en bruto se diluyó con DMF (2 ml) y se ajustó el pH = 7~8 con DIPEA (0,15 ml). A continuación, la mezcla se filtró y el filtrado se

purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 um; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 47 %-77 %, 9 min; Temp. de la columna: 30 °C) seguido de liofilización para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,6-difluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (37,4 mg, 40,69 µmol, 10,73 % de rendimiento, 94 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 864,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,85 (s, 1H), 8,47-8,36 (m, 1H), 8,35-8,27 (m, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,57-7,44 (m, 2H), 7,01-6,84 (m, 2H), 4,96-4,81 (m, 1H), 4,49-4,31 (m, 1H), 4,09-3,98 (m, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,88-3,78 (m, 1H), 3,30 (s, 3H), 3,18-3,10(m, 2H), 3,05-2,96 (m, 2H), 2,71-2,54 (m, 2H), 2,35-2,22 (m, 4H), 2,21-2,07 (m, 5H), 2,03-1,96 (m, 1H), 1,85-1,78 (m, 2H), 1,77-1,69 (m, 2H), 1,68-1,52 (m, 5H), 1,29-1,23 (m, 6H), 1,22-1,11 (m, 2H).

Ejemplo 16. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-3,3-difluoropiperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 16)





Etapa 1. Síntesis de (3,3-difluoro-1-nitrosopiperidin-4-il)metanol (2)

A una solución de (3,3-difluoro-4-piperidil)metanol (4 g, 21,32 mmol sal HCl) y $NaNO_2$ (2,94 g, 42,64 mmol) en H_2O (50 ml) se le añadió gota a gota AcOH (3,20 g, 53,30 mmol) a 0 °C. La solución resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal con la masa deseada. La solución de reacción se neutralizó mediante $NaHCO_3$ sólido. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (40 ml x 5). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró para proporcionar (3,3-difluoro-1-nitrosopiperidin-4-il)metanol (3,8 g, 20,67 mmol, 96,96 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 181,2

Etapa 2. Síntesis de (3,3-difluoro-4-(hidroximetil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (3)

A una mezcla de (3,3-difluoro-1-nitrosopiperidin-4-il)metanol (3,8 g, 21,09 mmol) y NH_4Cl (11,28 g, 210,93 mmol) en THF (40 ml) y H_2O (40 ml) se le añadió en porciones Zn (6,21 g, 95,00 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró que el material de

partida se había consumido completamente y la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite. Al filtrado se le añadieron NaOH (4,22 g, 105,47 mmol) y Boc_2O (11,51 g, 52,73 mmol). La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró que quedaban trazas del material de partida y la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró. El filtrado se extrajo con EtOAc (300 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío. El producto en bruto se trituró con éter de petróleo (20 ml) para proporcionar 6 g del producto en forma de un sólido de color blanco. 1 g del producto en bruto se purificó adicionalmente por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna de gel de sílice de 10 g, EtOAc/éter de petróleo = 10-50 %, 100 ml/min) para proporcionar (3,3-difluoro-4-(hidroximetil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (500 mg, en bruto) en forma de un sólido de color blanco. Se mantuvieron a mano 5 g más de producto bruto. $MS(M-56+H)^+ = 211,4$

Etapa 3. Síntesis de 4-metilbencenosulfonato de (1-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3,3-difluoropiperidin-4-il)metilo (4)

A una solución de (3,3-difluoro-4-(hidroximetil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (2 g, 7,51 mmol) y TosCl (2,15 g, 11,27 mmol) en DCM (30 ml) se le añadieron TEA (2,28 g, 22,53 mmol) y DMAP (91,76 mg, 751,08 µmol) a 20 °C. La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y la masa deseada. La solución de reacción se diluyó con DCM (20 ml), se lavó con salmuera (20 ml), y la capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (cromatografía sobre gel de sílice de 20 g, EtOAc/éter de petróleo = 10-

30 %, 60 ml/min) para proporcionar 4-metilbencenosulfonato de (1-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3,3-difluoropiperidin-4-il)metilo (700 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+Na)$^+$ = 443,1

Etapa 4. Síntesis de (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-3,3-difluoropiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (6)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-piperazin-1-il-fenil)piperidin-2,6-diona (350 mg, 1,07 mmol sal HCl) y 4-metilbencenosulfonato de (1-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3,3-difluoropiperidin-4-il)metilo (400,83 mg, 953,29 µmol) en DMF (5 ml) se le añadieron DIPEA (691,43 mg, 5,35 mmol) y NaI (32,08 mg, 214,00 µmol) a 20 °C. La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que quedaba el material de partida y la masa deseada. La solución de reacción se agitó a 70 °C durante 13 h más. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y la masa deseada. La mezcla de reacción se vertió en agua (15 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó TLC prep. (acetato de etilo puro, Fr = 0,4) para proporcionar (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-3,3-difluoropiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (70 mg, 125,84 µmol, 11,76 % de rendimiento, 97 % de pureza). MS(M+H)$^+$ = 540,3

^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 7,99 (s, 1H), 6,96-6,87 (m, 3H), 6,12 (s a, 1H), 3,72 (dd, *J* = 5,2, 9,8 Hz, 1H), 3,38-3,20 (m, 2H), 3,18-3,01 (m, 6H), 2,78-2,62 (m, 5H), 2,59-2,47 (m, 2H), 2,47-2,37 (m, 1H), 2,32-2,19 (m, 2H), 2,03-1,96 (m, 1H), 1,71-1,57 (m, 2H), 1,46 (s, 9H).

Etapa 5. Síntesis de 3-(4-(4-((1-amino-3,3-difluoropiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (7)

A una solución de (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-3,3-difluoropiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (50 mg, 92,66 µmol) en DCM (1 ml) se le añadió TFA (10,57 mg, 92,66 µmol) a 20 °C. La solución resultante se agitó a 20 °C durante 20 min. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y la masa deseada. La solución de reacción se concentró para proporcionar 3-(4-(4-((1-amino-3,3-difluoropiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (60 mg, en bruto, sal 2TFA) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 440,3

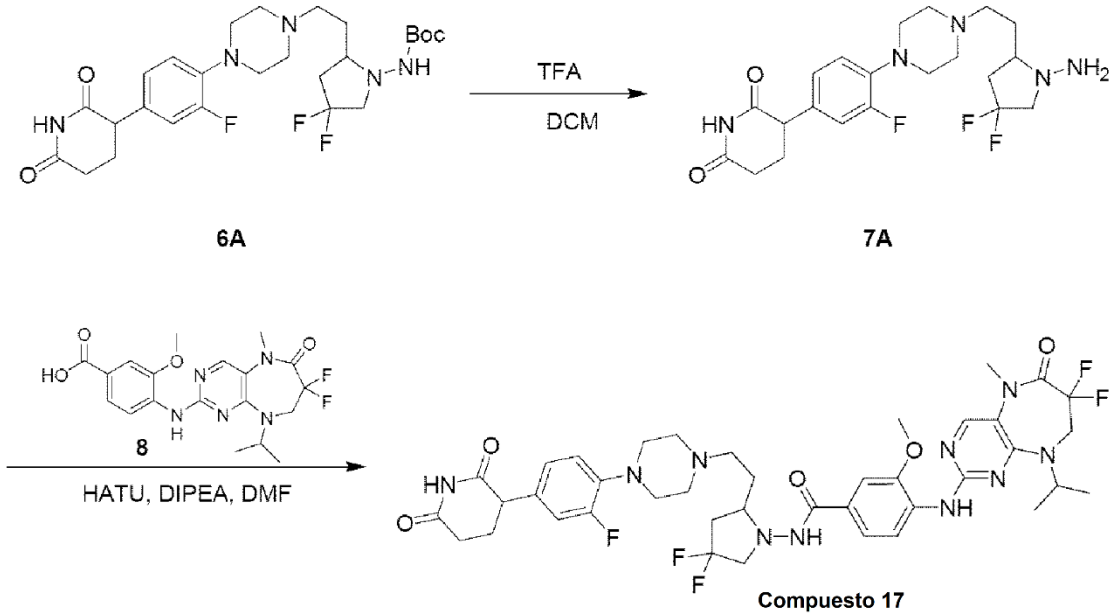
Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-3,3-difluoropiperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 16)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (37,88 mg, 89,89 µmol), DIPEA (69,70 mg, 539,31 µmol) y HATU (37,59 mg, 98,87 µmol) en DMF (2 ml) se le añadió 3-(4-(4-((1-amino-3,3-difluoropiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (60 mg, 89,89 µmol, sal 2TFA) a 20 °C. La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 30 min. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y la masa deseada. La solución de reacción se vertió en agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (5 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró. El producto en bruto se purificó adicionalmente por HPLC prep. (columna: Phenomenex C18 75 x 30 mm x 3 µm;

fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 12 %-42 %, 7 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-3,3-difluoropiperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (12,8 mg, 14,73 μmol, 16,39 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 843,2

^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 8,48 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,70 (s a, 1H), 7,38 (s a, 1H), 7,26-7,20 (m, 1H), 6,95-6,88 (m, 3H), 4,98 (td, *J* = 6,4, 13,0 Hz, 1H), 3,98 (s, 3H), 3,88 (t, *J* = 13,0 Hz, 2H), 3,72 (dd, *J* = 5,2, 9,8 Hz, 1H), 3,68-3,54 (m, 1H), 3,51-3,35 (m, 5H), 3,32-3,24 (m, 1H), 3,17-3,07 (m, 4H), 2,83-2,72 (m, 4H), 2,72-2,66 (m, 1H), 2,62-2,54 (m, 2H), 2,53-2,45 (m, 1H), 2,30-2,18 (m, 2H), 2,15-2,03 (m, 2H), 1,75-1,70 (m, 1H), 1,33 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H).

Ejemplo 17. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(2-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 17)



Etapa 1. Síntesis de 3-(4-(4-(2-(1-amino-4,4-difluoropirrolidin-2-il)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (7A)

A una solución de (2-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)-4,4-difluoropirrolidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (110 mg, 203,86 µmol) en DCM (1 ml) se le añadió TFA (0,678 g, 5,943 mmol) a 20 °C. La solución resultante se agitó a 20 °C durante 20 min. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y la masa deseada. La solución de reacción se concentró para proporcionar 3-(4-(4-(2-(1-amino-4,4-difluoropirrolidin-2-il)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (130 mg, en bruto, sal 2TFA) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 440,3

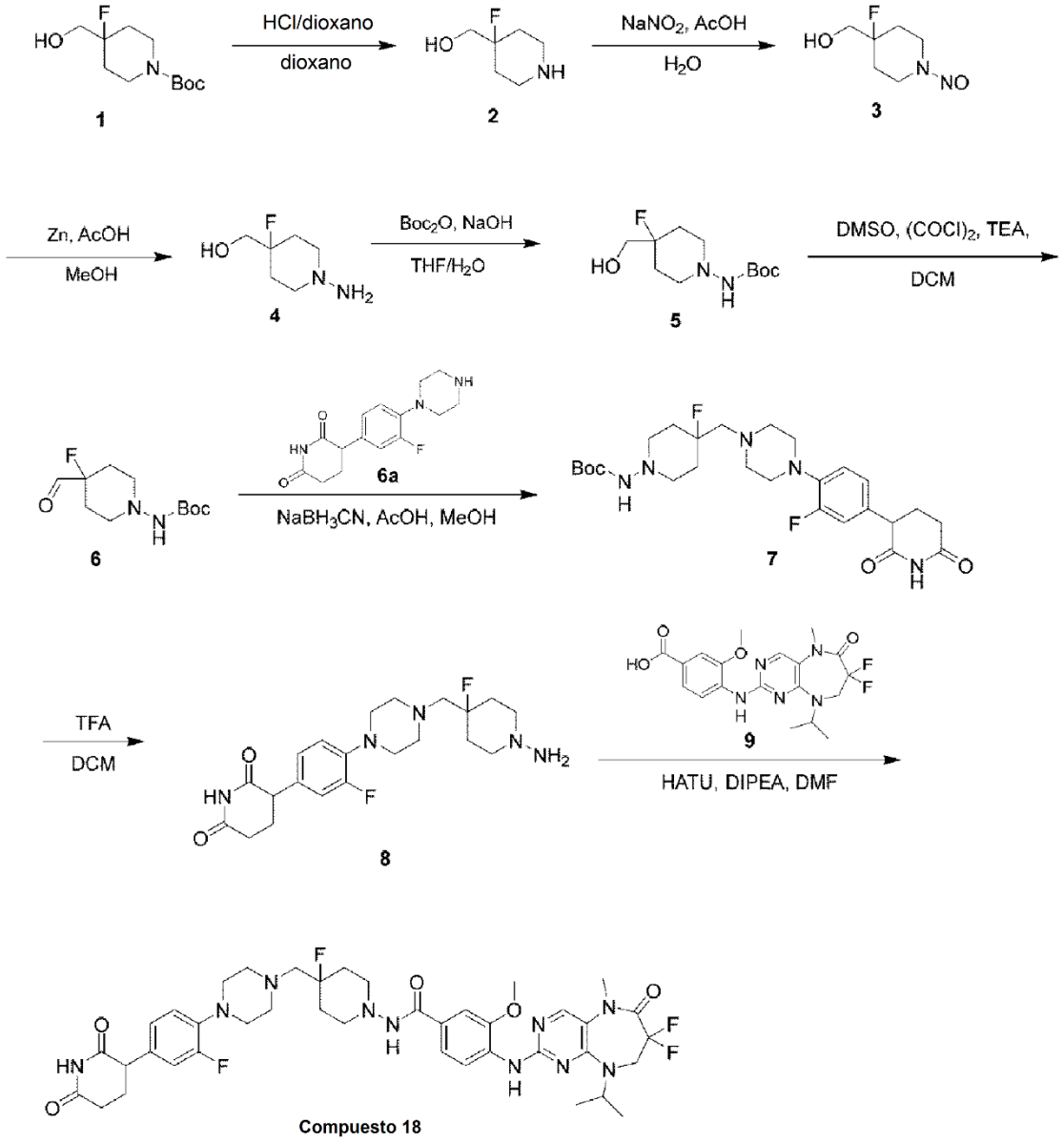
Etapa 2. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(2-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 17)

A una solución de ácido 4-[(7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-8H-pirimido[4, 5-b][1, 4]diazepin-2-il)amino]-3-metoxi-benzoico (37,88 mg, 89,89 µmol), DIPEA (139,40 mg, 1,08 mmol) y HATU (54,68 mg, 143,82 µmol) en DMF (2 ml) se le añadió 3-(4-(4-(2-(1-amino-4,4-difluoropirrolidin-2-il)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (120 mg, 179,77 µmol, sal 2TFA) a 20 °C. La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 30 min. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y la masa deseada. La solución de reacción se vertió en agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (5 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó adicionalmente por HPLC prep. (columna: Phenomenex C18 75 x 30 mm x 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 15 %-45 %, 7 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(2-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-3-metoxibenzamida (12,5 mg, 14,43 µmol, 8,03 % de rendimiento, 97,3 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 843,2

^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 8,49 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,21-7,24 (m, 2H), 6,96-6,89 (m, 3H), 5,02-4,93 (m, 1H), 3,98 (s, 3H), 3,88 (t a, *J* = 13,0 Hz, 2H), 3,83-3,75 (m, 1H), 3,72 (dd, *J* = 5,4, 9,9 Hz, 1H), 3,66-3,60 (m, 1H), 3,58-3,47 (m, 1H), 3,41 (s, 3H), 3,20-3,08 (m, 5H), 2,81-2,65 (m, 7H), 2,60-2,50 (m, 2H), 2,31-2,19 (m, 2H), 2,05-1,97 (m, 1H), 1,90-1,85 (m, 1H), 1,33 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H).

Ejemplo 18. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-

dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-4-fluoropiperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 18)



Etapa 1. Síntesis de (4-fluoropiperidin-4-il)metanol (2)

A una solución de 4-fluoro-4-(hidroximetil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3 g, 12,86 mmol) en dioxano (5 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 30,00 ml) a 25 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS

mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (30 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar (4-fluoropiperidin-4-il)metanol (2,1 g, 12,38 mmol, 96,27 % de rendimiento, 100 % de pureza, sal HCl) en forma de un sólido de color blanco, que se usó para la siguiente etapa directamente. $MS(M+H)^+$ = 134,2

Etapa 2. Síntesis de (4-fluoro-1-nitrosopiperidin-4-il)metanol (3)

A una solución de (4-fluoropiperidin-4-il)metanol (2,1 g, 12,38 mmol, sal HCl) en H_2O (20 ml) se le añadió en porciones $NaNO_2$ (1,28 g, 18,57 mmol) a 0 °C, a continuación se añadió en porciones AcOH (1,49 g, 24,76 mmol, 1,42 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se dejó calentar lentamente a 25 °C y se agitó a 25 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se ajustó a pH 8 con $NaHCO_3$ sólido y se extrajo con EtOAc/metanol (10:1, 150 ml x 5). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron para proporcionar (4-fluoro-1-nitrosopiperidin-4-il)metanol (2 g, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. $MS(M+H)^+$ = 163,3

Etapa 3. Síntesis de (1-amino-4-fluoropiperidin-4-il)metanol (4)

A una solución de (4-fluoro-1-nitrosopiperidin-4-il)metanol (2 g, 12,33 mmol) en MeOH (20 ml) se le añadió Zn (3,23 g, 49,33 mmol) seguido de AcOH (2,96 g, 49,33 mmol, 2,82 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se dejó calentar lentamente y se agitó a 25 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (66 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y la torta de filtro se lavó con THF (100 ml). El filtrado combinado se

concentró para proporcionar (1-amino-4-fluoropiperidin-4-il)metanol (5,6 g, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 149,2

Etapa 4. Síntesis de (4-fluoro-4-(hidroximetil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (5)

Una mezcla de (1-amino-4-fluoropiperidin-4-il)metanol (5,6 g, 37,79 mmol), Boc_2O (16,50 g, 75,58 mmol, 17,36 ml) y NaOH (6,05 g, 151,17 mmol) en H_2O (50 ml) y THF (50 ml) se agitó a 25 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (29 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se extrajo con EtOAc (30 ml x 6). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se trituró con éter de petróleo:EtOAc = 10:1 (50 ml) y se agitó durante 0,5 h. A continuación, la mezcla se filtró. La torta de filtro se recogió y se secó al vacío para proporcionar (4-fluoro-4-(hidroximetil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (1,2 g, 4,83 mmol, 12,79 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M-56+H)$^+$ = 193,1

Etapa 5. Síntesis de (4-fluoro-4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (6)

A una solución de DMSO (125,87 mg, 1,61 mmol, 125,87 µl) en DCM (5 ml) se le añadió gota a gota una solución de cloruro de oxalilo (132,91 mg, 1,05 mmol, 91,66 µl) en DCM (5 ml) a -65 °C. La mezcla se agitó a -65 °C durante 10 min. A continuación, se añadió gota a gota una solución de (4-fluoro-4-(hidroximetil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (0,2 g, 805,50 µmol) en

DCM (5 ml) a -65 °C. La mezcla se agitó a -65 °C durante 20 min, y se añadió gota a gota TEA (407,54 mg, 4,03 mmol, 560,57 µl) a -65 °C y la mezcla resultante se calentó lentamente a 20 °C y se agitó a 20 °C durante 30 min. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente. La mezcla se diluyó con DCM (50 ml), se lavó con salmuera (10 ml x 3), y la capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar (4-fluoro-4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (180 mg, en bruto) en forma de un aceite incoloro, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS$(M+H)^+$ = 247,3

Etapa 6. Síntesis de (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-4-fluoropiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (7)

A una solución de (4-fluoro-4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (169,08 mg, 686,53 µmol), 3-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (100 mg, 343,27 µmol) en MeOH (10 ml) se le añadió HOAc (10,31 mg, 171,63 µmol, 9,82 µl) y la mezcla se agitó a 25 °C durante 30 min. A continuación, se añadió $NaBH_3CN$ (43,14 mg, 686,53 µmol) y la mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h más. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró. El producto en bruto se disolvió en EtOAc (50 ml) y se lavó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 60 ml/min) para proporcionar (4-((4-(4-(2,6-

dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-4-fluoropiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (110 mg, en bruto) en forma de un sólido de color blanco, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 522,2

Etapa 7. Síntesis de 3-(4-(4-((1-amino-4-fluoropiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (8)

A una solución de (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-4-fluoropiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (110 mg, 210,89 µmol) en DCM (5 ml) se le añadió TFA (1,54 g, 13,51 mmol, 1 ml) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(4-(4-((1-amino-4-fluoropiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (112 mg, en bruto, sal TFA) en forma de un aceite de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 422,2

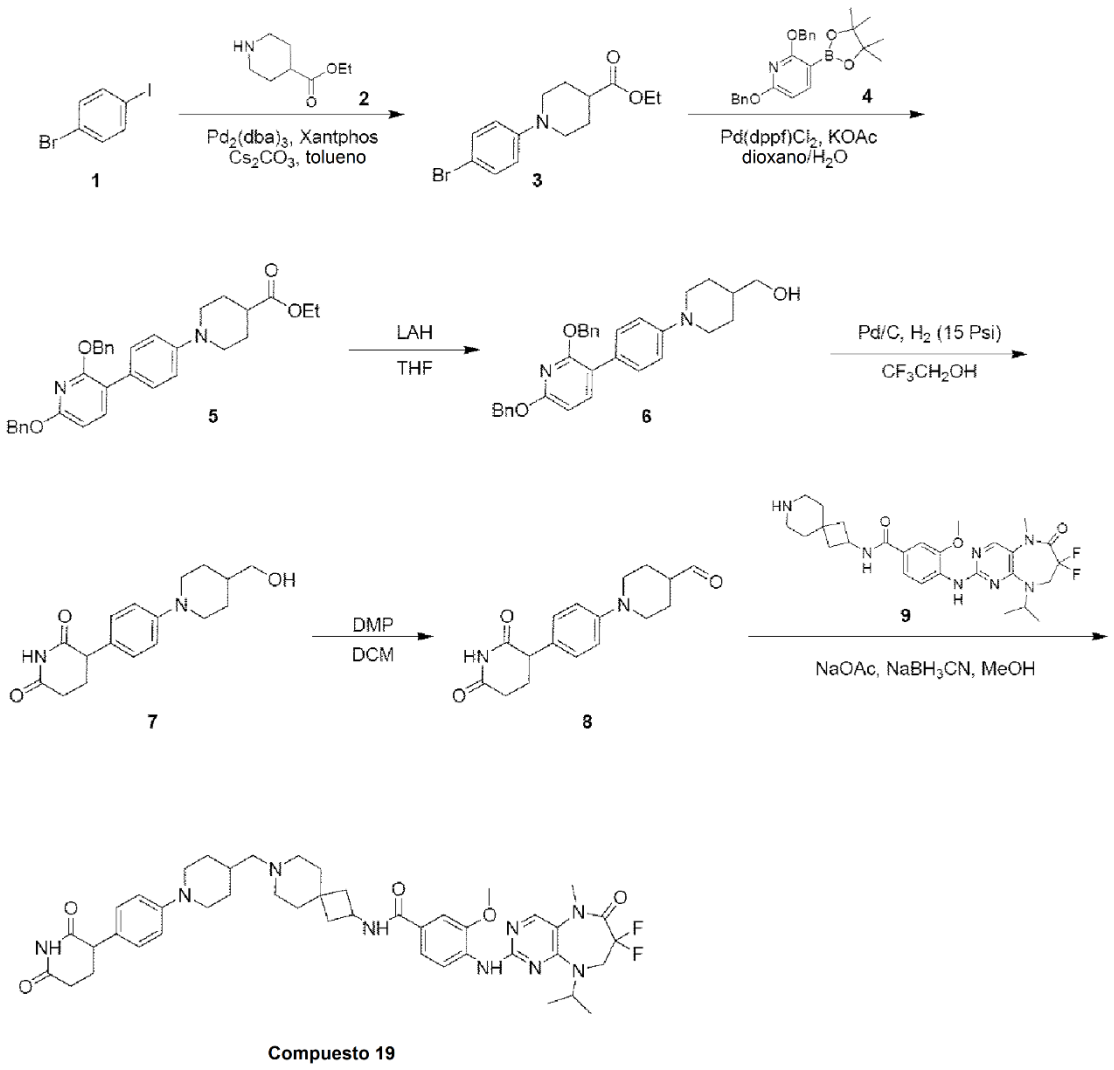
Etapa 8. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-4-fluoropiperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 18)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (95 mg, 225,44 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (102,86 mg, 270,53 µmol) y DIPEA (87,41 mg, 676,32 µmol, 117,80 µl). La mezcla se agitó a 25 °C durante 10 min. A continuación, se añadió 3-(4-(4-((1-amino-4-fluoropiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (108,65 mg, 202,90 µmol,

sal TFA) y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que la 3-(4-(4-((1-amino-4-fluoropiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona se había consumido completamente y un pico (~63 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 60 ml/min; eluyente de metanol al 0~50 %/EtOAc a 60 ml/min) seguido de HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 39 %-69 %, 9 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-4-fluoropiperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (23,9 mg, 28,39 µmol, 12,60 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 825,5

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,81 (s, 1H), 9,33 (s, 1H), 8,31 (dd, *J* = 3,0, 8,3 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,49-7,41 (m, 2H), 7,07-6,93 (m, 3H), 4,94-4,82 (m, 1H), 4,04 (t a, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,80 (dd, *J* = 4,8, 11,8 Hz, 1H), 3,30 (s, 3H), 3,05-2,86 (m, 8H), 2,85-2,50 (m, 8H), 2,27-2,13 (m, 1H), 2,05-1,71 (m, 5H), 1,24 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H).

Ejemplo 19. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 19)



Compuesto 19

Etapa 1. Síntesis de 1-(4-bromofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (3)

A una solución de 1-bromo-4-yodo-benceno (5 g, 17,67 mmol) y piperidin-4-carboxilato de etilo (2,50 g, 15,91 mmol) en tolueno (50 ml) se le añadieron $Pd_2(dba)_3$ (809,21 mg, 883,69 µmol), Xantphos (613,58 mg, 1,06 mmol) y Cs_2CO_3 (17,28 g, 53,02 mmol) en una atmósfera de N_2. La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®;

columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~30 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 1-(4-bromofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (1,7 g, 3,27 mmol, 18,49 % de rendimiento, 60 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo claro. $MS(M+H)^+$ = 312,3

Etapa 2. Síntesis de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (5)

A una solución de 1-(4-bromofenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (1 g, 3,20 mmol) y 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (1,20 g, 2,88 mmol) en dioxano (10 ml) y H_2O (2 ml) se le añadieron KOAc (943,07 mg, 9,61 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (234,37 mg, 320,31 µmol) en una atmósfera de N_2. La mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc (20 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~30 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (280 mg, 482,17 µmol, 15,05 % de rendimiento, 90 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 523,5

Etapa 3. Síntesis de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperidin-4-il)metanol (6)

A la suspensión de $LiAlH_4$ (14,52 mg, 382,68 µmol) en THF (3 ml) se le añadió gota a gota una solución de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (0,1 g, 191,34 µmol) en THF (3 ml) a 0 °C

en una atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se combinó con otro lote (escala de 0,18 g) para su tratamiento adicional. La mezcla de reacción combinada se inactivó mediante la adición de H_2O (0,4 ml), NaOH ac. al 15 % (0,4 ml) y H_2O (1,2 ml), la suspensión se diluyó con THF (50 ml), a continuación se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperidin-4-il)metanol (250 mg, 520,19 µmol, 93,96 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 481,5

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (7)

A una solución de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)fenil)piperidin-4-il)metanol (250 mg, 520,19 µmol) en CF_3CH_2OH (5 ml) se le añadió Pd/C (55,36 mg, 52,02 µmol, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se desgasificó y se purgó con H_2 3 veces, a continuación, la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (150 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 303,2

Etapa 5. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperidin-4-carbaldehído (8)

A una solución de 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (100 mg, 330,72 µmol) en DCM (1 ml) se le añadió DMP (210,41 mg, 496,09 µmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se

filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperidin-4-carbaldehído (100 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo.

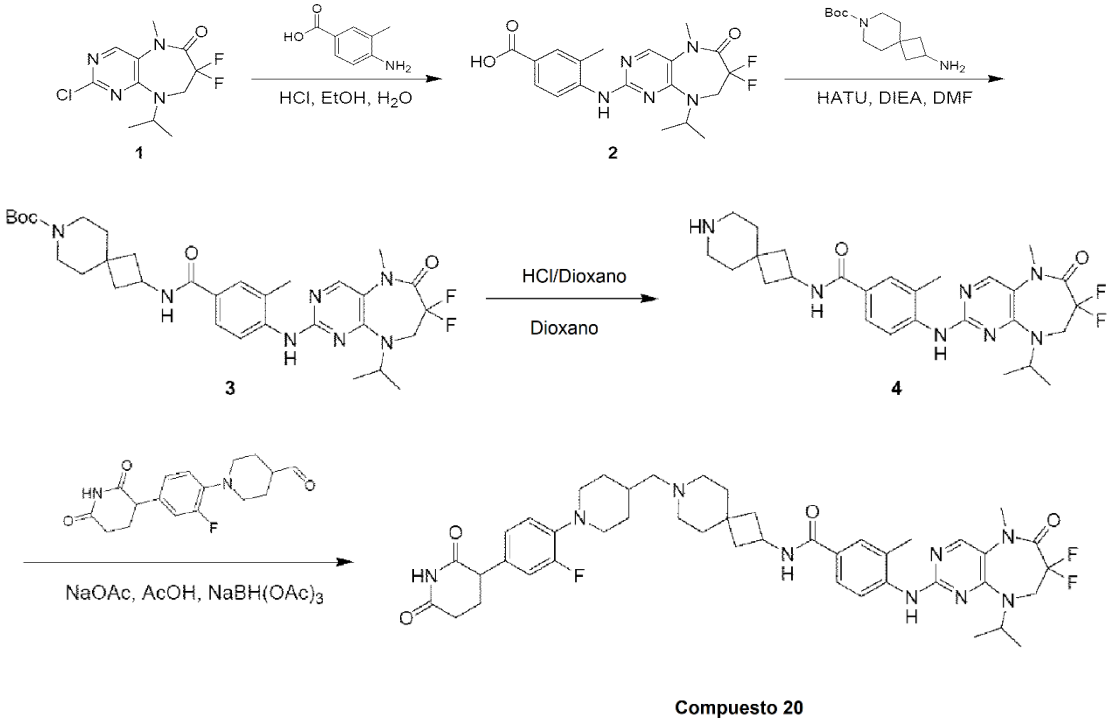
Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 19)

A una solución de 1-[4-(2,6-dioxo-3-piperidil) fenil]piperidin-4-carbaldehído (50 mg, 166,47 µmol) en MeOH (1 ml) se le añadieron 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (77,25 mg, 133,18 µmol, sal HCl) y NaOAc (20,48 mg, 249,71 µmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. A continuación, se añadió $NaBH_3CN$ (52,31 mg, 832,36 µmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 3 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se combinó con otro lote (escala de 50 mg) para su tratamiento adicional. La mezcla de reacción combinada se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a MeOH al 0~100 %/EtOAc a 80 ml/min) seguido de HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 47 %-77 %, 8 min) para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)fenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (17,8 mg, 20,21 µmol, 12,14 % de rendimiento, 94 % de

pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 828,8

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,76 (d a, *J* = 3,2 Hz, 1H), 8,42 (d a, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,33-8,27 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,53-7,47 (m, 2H), 7,02 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 6,87 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 4,88 (td, *J* = 6,9, 13,4 Hz, 1H), 4,45-4,34 (m, 1H), 4,04 (t a, *J* = 13,5 Hz, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,71 (dd, *J* = 5,0, 10,8 Hz, 1H), 3,64 (d a, *J* = 12,1 Hz, 2H), 3,30 (s, 3H), 2,65-2,57 (m, 3H), 2,45-2,41 (m, 1H), 2,31-2,06 (m, 9H), 2,05-1,96 (m, 1H), 1,85-1,72 (m, 4H), 1,68-1,49 (m, 5H), 1,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H), 1,21-1,11 (m, 2H).

Ejemplo 20. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metilbenzamida (Compuesto 20)



Etapa 1. Síntesis de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-

tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metilbenzoico (2)

A una mezcla de 2-cloro-7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (1 g, 3,44 mmol) en EtOH (8 ml) y H_2O (32 ml) se le añadieron HCl (12 M, 602,00 µl) y ácido 4-amino-3-metilbenzoico (520,00 mg, 3,44 mmol). La mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró al vacío para eliminar el EtOH y a continuación se filtró. La torta de filtro se concentró al vacío para proporcionar ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metilbenzoico (620 mg, en bruto) en forma de un polvo de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 406,3.

Etapa 2. Síntesis de 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metilbenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (3)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metilbenzoico (200 mg, 493,34 µmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (281,38 mg, 740,01 µmol) y DIPEA (191,28 mg, 1,48 mmol, 257,79 µl), y a continuación se añadió 2-amino-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (130,43 mg, 542,68 µmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (3 ml) y se extrajo con EtOAc (5 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage, columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc al

15~100 %/éter de petróleo a 20 ml/min) para proporcionar 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metilbenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (230 mg, 359,08 µmol, 72,78 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un polvo de color naranja. MS $(M+H)^+$ = 628,7

Etapa 3. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metil-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (4)

A una solución de 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metilbenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 159,31 µmol) en dioxano (2 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 2 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metil-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (110 mg, en bruto, HCl) en forma de un polvo de color blanco. MS $(M+H)^+$ = 528,3

Etapa 4. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metilbenzamida (Compuesto 20)

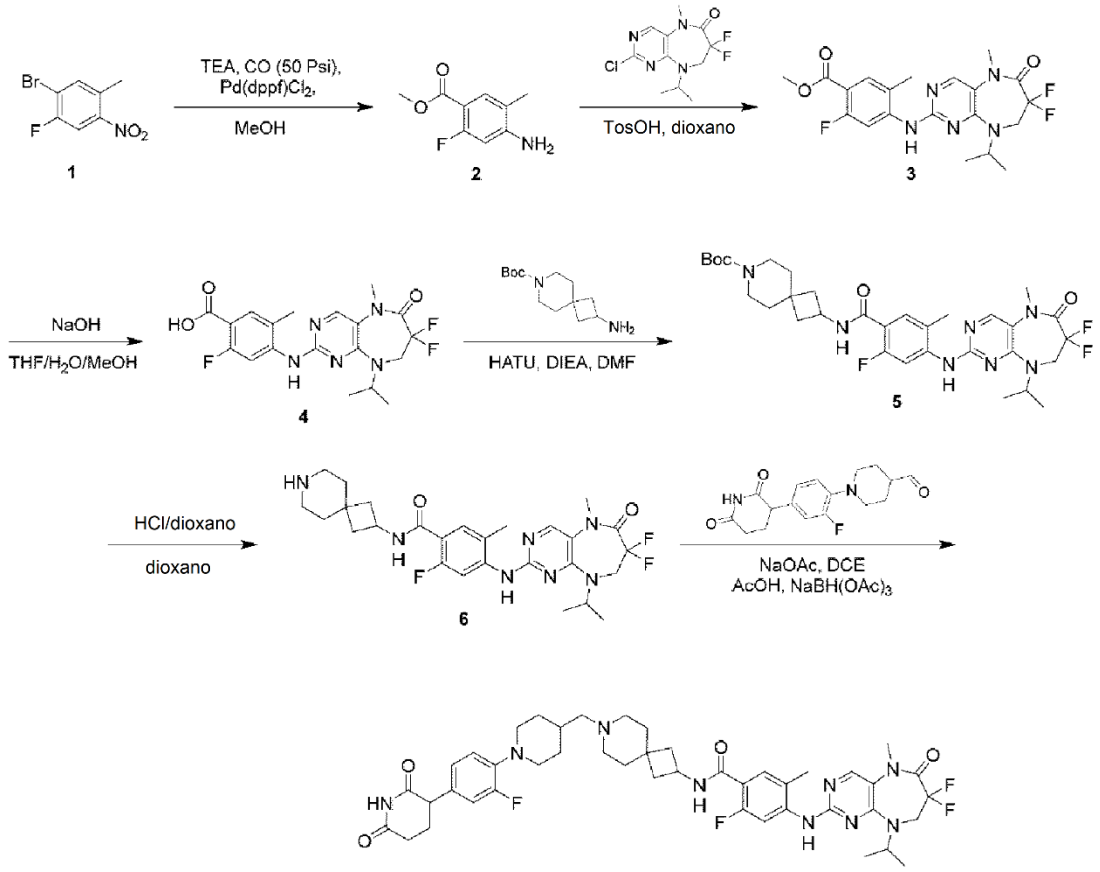
A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metil-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (100 mg, 177,28 µmol, HCl) en DCE (2 ml) se le añadió AcONa (14,54 mg, 177,28 µmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante

0,5 h. A continuación, se añadieron 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (67,72 mg, 212,74 µmol) y AcOH (10,65 mg, 177,28 µmol, 10,14 µl) y se agitaron durante 0,5 h. A continuación, se añadió $NaBH(OAc)_3$ (56,36 mg, 265,92 µmol). La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 17 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage, columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 4~100 %/éter de petróleo a 20 ml/min) para proporcionar el producto, que se purificó adicionalmente por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 40 %-70 %, 9 min) y se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metilbenzamida (5,2 mg, 6,16 µmol, 3,47 % de rendimiento, 98,3 % de pureza) en forma de un polvo de color blanco. MS $(M+H)^+$ = 830,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = ppm 10,82 (s, 1 H), 8,52 (s, 1H), 8,41 (d, *J* = 7,58 Hz, 1H), 8,16 (d, *J* = 0,86 Hz, 1H), 7,77-7,83 (m, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,66 (d, *J* = 8,31 Hz, 1H), 6,91-7,06 (m, 3H), 4,68-4,83 (m, 1 H), 4,34-4,47 (m, 1 H), 3,99 (t, *J* = 13,57 Hz, 2H), 3,80 (dd, *J* = 11,92, 4,58 Hz, 1H), 3,33-3,31 (m, 5 H), 2,59-2,70 (m, 4 H), 2,32-2,34 (m, 1 H), 2,33-2,31 (m, 4 H), 2,20-2,26 (m, 2 H), 2,10-2,19 (m, 5 H), 2,02-1,98 (m, 1H), 1,74-1,84 (m, 4H), 1,50-1,65 (m, 5 H), 1,21-1,30 (m, 2 H), 1,16 (d, *J* = 6,72 Hz, 6H).

Ejemplo 21. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-

tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-2-fluoro-5-metilbenzamida (Compuesto 21)



Compuesto 21

Etapa 1. Síntesis de 4-amino-2-fluoro-5-metilbenzoato de metilo (2)

A una solución de 1-bromo-2-fluoro-5-metil-4-nitrobenceno (1,5 g, 6,41 mmol) en MeOH (10 ml) se le añadieron $Pd(dppf)Cl_2$ (469,00 mg, 640,96 µmol) y TEA (1,95 g, 19,23 mmol, 2,68 ml). La mezcla se desgasificó con N_2 3 veces, a continuación se burbujeó CO en la mezcla. La mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de CO (50 psi) a 80 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (3 ml) y se extrajo

con EtOAc (5 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage, columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 4~50 %/éter de petróleo a 15 ml/min) para proporcionar 4-amino-2-fluoro-5-metilbenzoato de metilo (300 mg, 1,56 mmol, 24,27 % de rendimiento, 95 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 184,1

Etapa 2. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metilbenzoato de metilo (3)

A una solución de 4-amino-2-fluoro-5-metilbenzoato de metilo (300 mg, 1,64 mmol) en dioxano (10 ml) se le añadieron 2-cloro-7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-5, 7, 8, 9-tetrahidro-6H-pirimido[4, 5-b][1,4]diazepin-6-ona (476,09 mg, 1,64 mmol) y TsOH. H_2O (934,58 mg, 4,91 mmol). La mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (3 ml) y se extrajo con EtOAc (5 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage, columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 20~98 %/éter de petróleo a 20 ml/min) para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metilbenzoato de metilo (190 mg, 395,28 µmol, 24,14 % de rendimiento, 91 % de pureza) en forma de un polvo de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 438,4

Etapa 3. Síntesis de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-

metilbenzoico (4)

A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metilbenzoato de metilo (190 mg, 434,37 µmol) en H_2O (3 ml), THF (3 ml) y MeOH (3 ml) se le añadió NaOH (2 M, 1,52 ml). La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente. La mezcla de reacción se concentró al vacío para eliminar los disolventes orgánicos, a continuación se ajustó el pH a 1~2 con HCl 1 N. La mezcla resultante se filtró. El filtrado se concentró para proporcionar ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metilbenzoico (150 mg, en bruto, Li) en forma de un polvo de color amarillo. MS$(M+H)^+$ = 424,4

Etapa 4. Síntesis de 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metilbenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (5)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metilbenzoico (150 mg, 348,57 µmol, Li) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (198,81 mg, 522,86 µmol) y DIPEA (135,15 mg, 1,05 mmol, 182,14 µl), y a continuación se añadió 2-amino-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (92,15 mg, 383,43 µmol). La mezcla se agitó a 15 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (3 ml) y se extrajo con EtOAc (5 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage, columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de

gradiente de EtOAc al 4~100 %/éter de petróleo a 25 ml/min) para proporcionar 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6, 7, 8, 9-tetrahidro-5H-pirimido[4, 5-b][1, 4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metilbenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (240 mg, 334,51 µmol, 95,97 % de rendimiento, 90 % de pureza) en forma de un aceite incoloro. MS $(M+H)^+$ = 646,7

Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metil-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (6)

A una solución de 2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metilbenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (240 mg, 371,68 µmol) en dioxano (4 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 4 ml). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metil-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (220 mg, en bruto, HCl) en forma de un aceite de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 546,3

Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-2-fluoro-5-metilbenzamida (Compuesto 21)

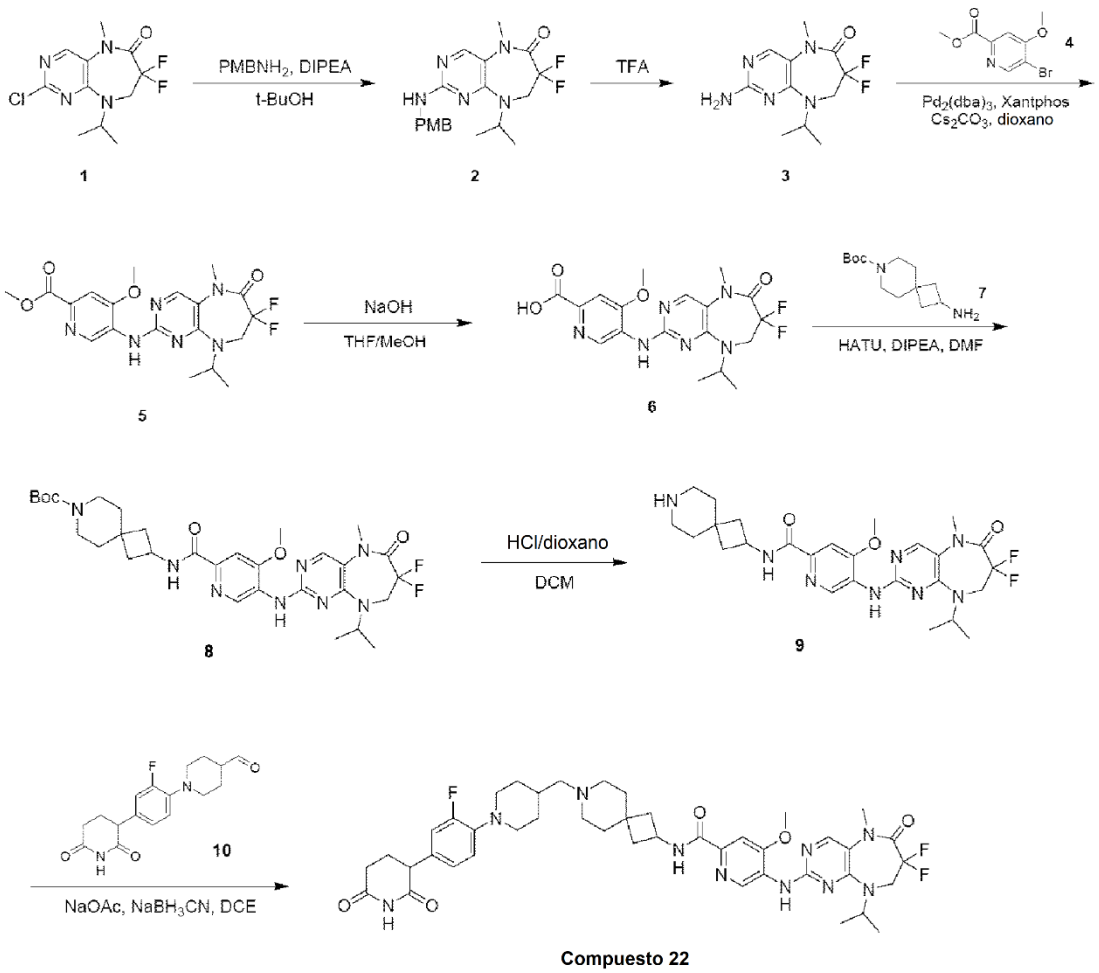
A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metil-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (220 mg, 377,97 µmol, HCl) en DCE (2 ml)

se le añadió NaOAc (37,21 mg, 453,56 µmol) y se agitó a 20 °C durante 0,5 h. A continuación, se añadieron 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (144,39 mg, 453,56 µmol), AcOH (11,35 mg, 188,98 µmol, 10,81 µl) y $NaBH(OAc)_3$ (120,16 mg, 566,95 µmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 15,5 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (3 ml) y se extrajo con EtOAc (5 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage, columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc de 4~98 %/éter de petróleo a 20 ml/min) para proporcionar el producto deseado, que se purificó adicionalmente por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 40 %-70 %, 9 min) y se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1, 4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-2-fluoro-5-metil-benzamida (24,3 mg, 27,00 µmol, 7,14 % de rendimiento, 94,2 % de pureza) en forma de un polvo de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 848,4

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,82 (s, 1 H), 8,54 (s, 1H), 8,26 (dd, *J* = 7,34, 2,57 Hz, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,81-7,89 (m, 1H), 7,42 (d, *J* = 8,31 Hz, 1H), 6,92-7,04 (m, 3H), 4,85 (dt, *J* = 13,24, 6,65 Hz, 1H), 4,31-4,41 (m, 1 H), 4,03 (t, *J* = 13,57 Hz, 2H), 3,80 (dd, *J* = 11,80, 4,71 Hz, 1H), 3,30-3,33 (m, 5 H), 2,54-2,71 (m, 4 H), 2,32-2,35 (m, 1 H), 2,26-2,29 (m, 4 H), 2,21-2,25 (m, 2H), 2,10-2,18 (m, 5 H), 1,95-2,02 (m, 1 H), 1,73-1,81 (m, 4 H), 1,49-1,64 (m, 5 H), 1,23-1,30 (m, 2 H), 1,21 (d, *J* = 6,72 Hz, 6H).

Ejemplo 22. Síntesis de 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-

tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-4-metoxipicolinamida (Compuesto 22)



Compuesto 22

Etapa 1. Síntesis de 7,7-difluoro-9-isopropil-2-((4-metoxibencil)amino)-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (2)

A una solución de 2-cloro-7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (2 g, 6,88 mmol) en t-BuOH (20 ml) se le añadieron (4-metoxifenil) metanamina (943,79 mg, 6,88 mmol, 890,37 µl), DIPEA (1,78 g, 13,76 mmol, 2,40 ml), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa

deseada. La mezcla se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se trituró con MTBE: EtOAc = 1:1 (10 ml) a 15 °C durante 10 min para proporcionar 7,7-difluoro-9-isopropil-2-((4-metoxibencil)amino)-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (1,9 g, 4,85 mmol, 70,55 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 392,0

Etapa 2. Síntesis de 2-amino-7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (3)

Una mezcla de 7,7-difluoro-9-isopropil-2-((4-metoxibencil)amino)-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (1,9 g, 4,85 mmol) en TFA (10 ml) se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró al vacío para eliminar la mayor parte del disolvente. El residuo se diluyó con EtOAc (30 ml), se lavó con una solución saturada de Na_2CO_3 (20 ml x 2), la fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 50~100 %/éter de petróleo a 40 ml/min) para proporcionar 2-amino-7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (1 g, 3,65 mmol, 75,56 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 272,0

Etapa 3. Síntesis de 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxipicolinato de metilo (5)

A una solución de 2-amino-7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (500 mg, 1,84 mmol) y 5-bromo-

4-metoxipicolinato de metilo (453,54 mg, 1,84 mmol) en dioxano (10 ml) se le añadieron $Pd_2(dba)_3$ (168,79 mg, 184,32 µmol), Xantphos (106,65 mg, 184,32 µmol) y Cs_2CO_3 (1,80 g, 5,53 mmol), y la mezcla resultante se desgasificó y se purgó con N_2 3 veces, y a continuación, y la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 50~100 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxipicolinato de metilo (630 mg, 1,37 mmol, 74,40 % de rendimiento, 95 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 437,1

Etapa 4. Síntesis de ácido 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxipicolínico (6)

A una solución de 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxipicolinato de metilo (200 mg, 458,28 µmol) en THF (2 ml) y MeOH (2 ml) se le añadió NaOH (2 M, 2 ml), la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa de hidrato deseada. La mezcla se ajustó a un pH = 2 usando HCl (12 M) y se concentró al vacío a 70 °C para proporcionar ácido 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxipicolínico (190 mg, en bruto) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 423,2

Etapa 5. Síntesis de 2-(5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxipicolinamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (8)

A una solución de ácido 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxipicolínico (190 mg, 449,83 µmol) en DMF (5 ml) se le añadieron HATU (256,56 mg, 674,74 µmol), DIPEA (290,68 mg, 2,25 mmol, 391,76 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. A continuación, se añadió 2-amino-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (108,11 mg, 449,83 µmol), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con agua (15 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 20~100 %/éter de petróleo a 40 ml/min) para proporcionar 2-(5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxipicolinamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (280 mg, 356,13 µmol, 79,17 % de rendimiento, 82 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 645,4

Etapa 6. Síntesis de 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)picolinamida (9)

A una solución de 2-(5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxipicolinamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (150 mg, 232,66 µmol) en DCM (5 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 2 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)picolinamida (130 mg, en bruto, HCl) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 545,3

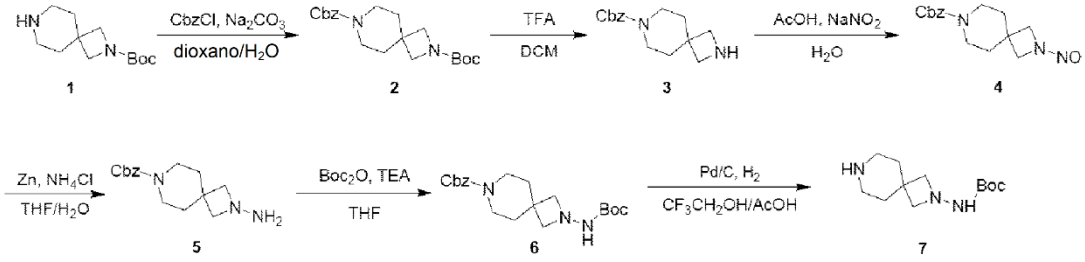
Etapa 7. Síntesis de 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-4-metoxipicolinamida (Compuesto 22)

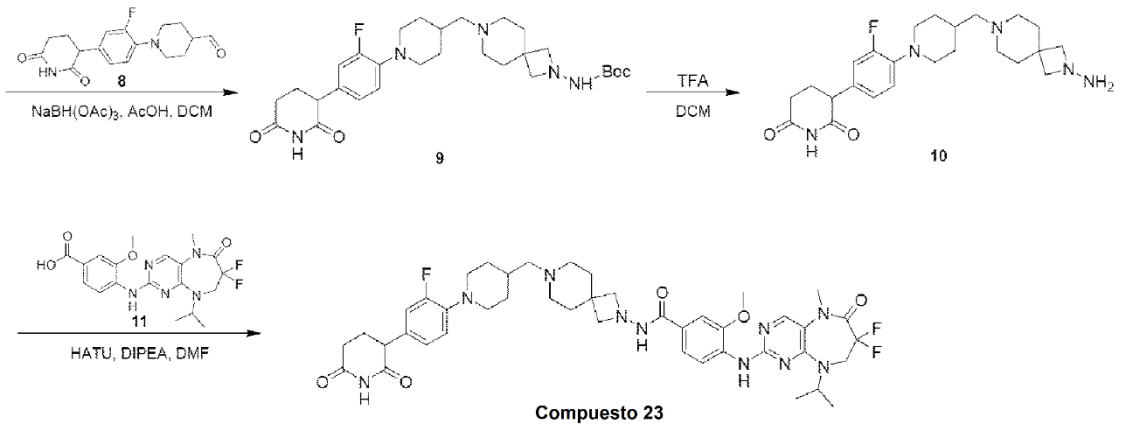
A una solución de 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-4-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)picolinamida (130 mg, en bruto, HCl) en DCE (2 ml) se le añadieron 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (85,47 mg, 268,48 µmol) y NaOAc (27,53 mg, 335,60 µmol). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. A continuación, a la mezcla se le añadió $NaBH(OAc)_3$ (237,32 mg, 1,12 mmol) a 25 °C, y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 15 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de $NaHCO_3$ (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó mediante TLC prep.

(SiO_2, DCM: MeOH = 9:1) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 * 25 mm * 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 43 %-78 %, 8 min). El eluyente se liofilizó para proporcionar 5-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-4-metoxipicolinamida (43,4 mg, 50,22 µmol, 22,45 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 847,5

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,81 (s, 1H), 9,12 (s, 1H), 8,76 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 8,23-8,17 (m, 2H), 7,64 (s, 1H), 7,05-6,91 (m, 3H), 4,88-4,74 (m, 1H), 4,49-4,37 (m, 1H), 4,09-3,93 (m, 5H), 3,84-3,75 (m, 1H), 3,32 (s, 3H), 3,31-3,29 (m, 2H), 2,71-2,57 (m, 3H), 2,49-2,41 (m, 2H), 2,37-2,25 (m, 2H), 2,24-2,17 (m, 2H), 2,16-2,08 (m, 4H), 2,04-1,96 (m, 1H), 1,95-1,87 (m, 2H), 1,82-1,72 (m, 2H), 1,68-1,51 (m, 5H), 1,30-1,14 (m, 8H).

Ejemplo 23. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 23)





Etapa 1. Síntesis de 2-(*terc*-butil) 2,7-diazaespiro[3.5]nonano-2,7-dicarboxilato de 7-bencilo (2)

A una solución de 2,7-diazaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (10 g, 44,19 mmol) en dioxano (100 ml) y H_2O (20 ml) se le añadieron Na_2CO_3 (14,05 g, 132,56 mmol) y CbzCl (9,05 g, 53,02 mmol, 7,54 ml) a 0 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 3 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (40 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (200 ml) y se extrajo con EtAOc (150 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~20 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 2-(*terc*-butil) 2,7-diazaespiro[3.5]nonano-2,7-dicarboxilato de 7-bencilo (17,1 g, 40,33 mmol, 91,26 % de rendimiento, 85 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 361,4

Etapa 2. Síntesis de 2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (3)

A una solución de 2-(*terc*-butil) 2,7-diazaespiro[3.5]nonano-2,7-dicarboxilato de 7-bencilo (10 g, 23,58 mmol, 85 % de pureza) en DCM (20 ml)

se le añadió TFA (13,44 g, 117,91 mmol, 8,73 ml) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 13 h. El análisis por LCMS mostró que quedaban trazas de material de partida y un pico (71 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar 2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (8,9 g, en bruto, sal TFA) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 261,1

Etapa 3. Síntesis de 2-nitroso-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (4)

A una solución de 2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (8,9 g, 34,19 mmol) en H_2O (100 ml) se le añadió $NaNO_2$ (7,08 g, 102,56 mmol) a 0 °C, a continuación se añadió gota a gota AcOH (8,21 g, 136,75 mmol, 7,82 ml) a 0 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 4 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (75 %) con la masa deseada. A esta mezcla de reacción se le añadió $NaHCO_3$ saturado (80 ml) a 0 °C para ajustar el pH = 8 y se extrajo con EtOAc (100 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar 2-nitroso-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (9,4 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 290,4

Etapa 4. Síntesis de 2-amino-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (5)

A una solución de 2-nitroso-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (9,4 g, 32,49 mmol) en THF (200 ml) y H_2O (20 ml) se le añadió NH_4Cl (6,95 g, 129,96 mmol) a 0 °C, a continuación se añadió lentamente Zn (8,50 g, 129,96 mmol) a 0 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El

análisis por TLC (SiO_2, éter de petróleo:EtOAc = 1:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente y que se formó una nueva mancha principal. La mezcla de reacción se diluyó con THF (400 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 2-amino-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (9 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 276,4

Etapa 5. Síntesis de 2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (6)

A una solución de 2-amino-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (8,9 g, 32,32 mmol) en THF (100 ml) se le añadieron TEA (9,81 g, 96,97 mmol, 13,50 ml) y $(Boc)_2O$ (10,58 g, 48,48 mmol, 11,14 ml) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que quedaba un 8 % del material de partida y un pico (47 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~33 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (6,4 g, 17,05 mmol, 52,74 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 376,4

Etapa 6. Síntesis de (2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (7)

A una solución de 2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de bencilo (3,4 g, 9,06 mmol) en CF_3CH_2OH (50 ml) y AcOH (5 ml) se le añadió Pd/C (1 g, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con H_2.

La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con CF_3CH_2OH (150 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar (2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (2,8 g, en bruto, sal HOAC) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 242,2

Etapa 7. Síntesis de (7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (9)

A una solución de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (600 mg, 1,88 mmol) y (2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (1,14 g, 3,77 mmol, sal HOAC) en DCM (10 ml) se le añadió AcOH (113,18 mg, 1,88 mmol, 107,79 µl), a continuación se añadió lentamente $NaBH(OAc)_3$ (1,20 g, 5,65 mmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (55 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (30 ml) y se extrajo con DCM (20 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar (7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (622 mg, 1,14 mmol, 60,70 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 544,4

Etapa 8. Síntesis de 3-(4-(4-((2-amino-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (10)

A una solución de (7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (622 mg, 1,14 mmol) en DCM (3 ml) se le añadió TFA (652,25 mg, 5,72 mmol, 423,54 µl) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 0,5 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar 3-(4-(4-((2-amino-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (638 mg, en bruto, sal TFA) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 444,4

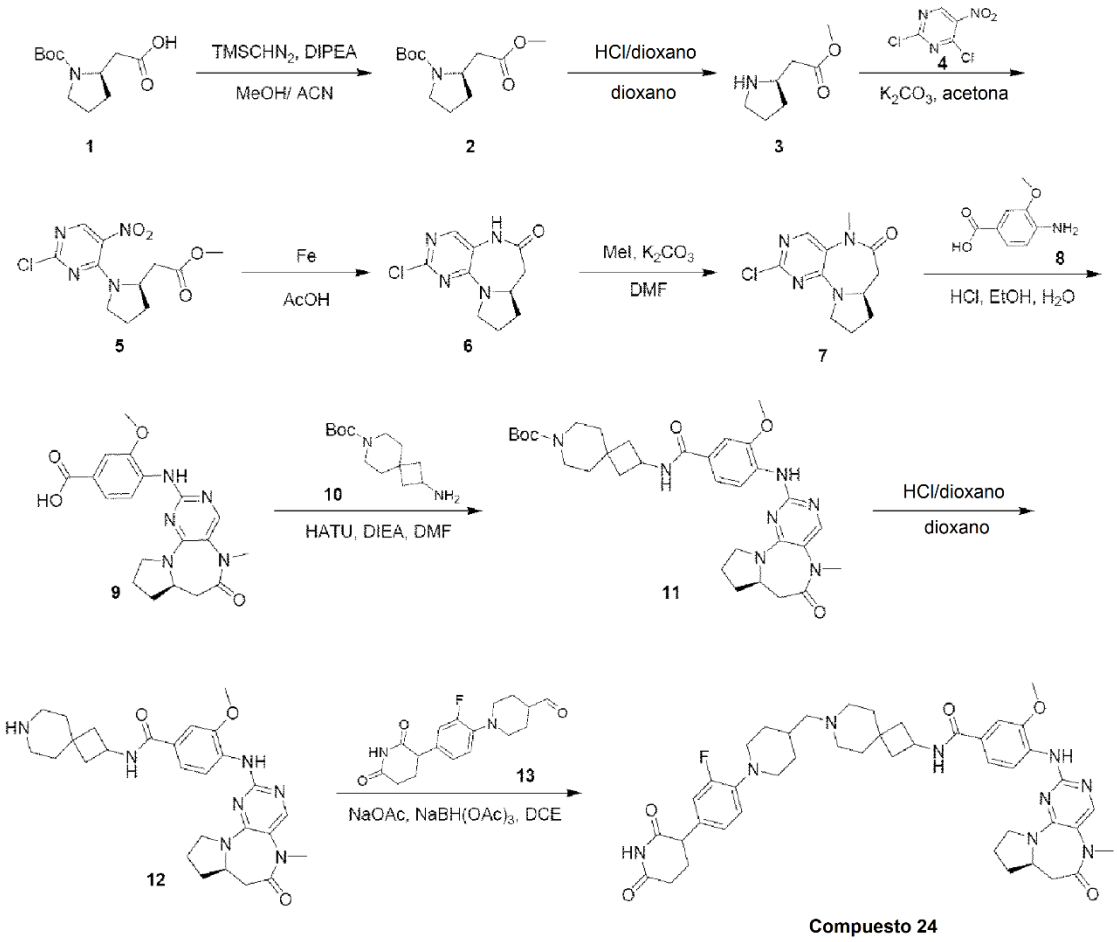
Etapa 9. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 23)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (450 mg, 1,07 mmol) en DMF (4 ml) se le añadieron HATU (446,64 mg, 1,17 mmol) y DIPEA (276,03 mg, 2,14 mmol, 372,01 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 10 min y se añadió una solución de 3-(4-(4-((2-amino-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (625,20 mg, 1,12 mmol, sal TFA) en DMF (4 ml) con DIPEA (414,05 mg, 3,20 mmol, 558,01 µl) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (44 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción

se diluyó con H_2O (20 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 25 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar el producto A (426 mg) y el producto B (207 mg). El producto A se trituró con solución de mezcla (10 ml, EtOAc:metanol = 10:1) a 20 °C durante 12 h y se filtró. La torta de filtro se secó al vacío para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (291,1 mg, 332,37 µmol, 31,12 % de rendimiento, 96,7 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 847,4

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,81 (s, 1H), 9,48 (s, 1H), 8,30 (d a, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,45-7,38 (m, 2H), 7,03-6,91 (m, 3H), 4,87 (td, *J* = 6,7, 13,4 Hz, 1H), 4,03 (t a, *J* = 13,5 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,79 (dd, *J* = 4,7, 11,6 Hz, 1H), 3,61-3,45 (m, 4H), 3,33-3,25 (m, 5H), 2,65-2,56 (m, 3H), 2,45-2,34 (m, 1H), 2,31-2,22 (m, 3H), 2,19 (dd a, *J* = 3,6, 12,6 Hz, 1H), 2,13 (d a, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,99 (td, *J* = 4,3, 8,7 Hz, 1H), 1,86-1,53 (m, 8H), 1,24 (d, *J* = 6,6 Hz, 8H).

Ejemplo 24. Síntesis de N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxi-4-(((R)-5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)benzamida (Compuesto 24)



Etapa 1. Síntesis de (R)-2-(2-metoxi-2-oxoetil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2)

A una solución de ácido (R)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il)acético (3 g, 13,08 mmol) y DIPEA (1,86 g, 14,39 mmol, 2,51 ml) en MeOH (50 ml) y MeCN (50 ml) se le añadió $TMSCHN_2$ (2 M, 13,08 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 3 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~30 %/éter de petróleo @100 ml/min) para proporcionar (R)-2-(2-metoxi-2-oxoetil)pirrolidin-1-

carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 7,81 mmol, 59,68 % de rendimiento, 95 % de pureza) en forma de un aceite incoloro. MS(M-100+H)$^+$ = 144,3

Etapa 2. Síntesis de (R)-2-(pirrolidin-2-il)acetato de metilo (3)

A una solución de (R)-2-(2-metoxi-2-oxoetil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 8,22 mmol) en dioxano (10 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 10 ml). La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar (R)-2-(pirrolidin-2-il)acetato de metilo (1,5 g, en bruto, sal HCl) en forma de un aceite incoloro. MS(M+H)$^+$ = 144,1

Etapa 3. Síntesis de (R)-2-(1-(2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)pirrolidin-2-il)acetato de metilo (5)

A una solución de 2,4-dicloro-5-nitropirimidina (1,78 g, 9,18 mmol) y (R)-2-(pirrolidin-2-il)acetato de metilo (1,5 g, 8,35 mmol, sal HCl) en acetona (30 ml) se le añadió K_2CO_3 (6,92 g, 50,10 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (50 ml), se ajustó el pH = 8 añadiendo HCl (1 M) y a continuación se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~40 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar (R)-2-(1-(2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)pirrolidin-2-il)acetato de metilo (2,4 g, 7,98 mmol, 95,59 % de rendimiento, 100 % de pureza) en forma de un aceite incoloro. MS(M+H)$^+$ = 301,0

Etapa 4. Síntesis de (R)-2-cloro-7a,8,9,10-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-

b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-6(7H)-ona (6)

A una solución de (R)-2-(1-(2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)pirrolidin-2-il)acetato de metilo (2,4 g, 7,98 mmol) en HOAc (20 ml) se le añadió Fe (2,23 g, 39,91 mmol), y la suspensión se agitó a 60 °C durante 4 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (100 ml) y se extrajo con EtOAc (30 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 50~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar (R)-2-cloro-7a,8,9,10-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-6(7H)-ona (1,3 g, 5,45 mmol, 69,09 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un sólido de color rojo. $MS(M+H)^+$ = 239,1

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 9,76 (s a, 1H), 7,76 (s, 1H), 3,99 (dt, *J* = 5,6, 9,9 Hz, 1H), 3,65-3,52 (m, 2H), 2,83 (dd, *J* = 10,1, 14,9 Hz, 1H), 2,60 (d a, *J* = 14,9 Hz, 1H), 2,18 (td, *J* = 5,7, 11,6 Hz, 1H), 1,94 (td, *J* = 6,1, 12,1 Hz, 1H), 1,88-1,74 (m, 1H), 1,67-1,54 (m, 1H)

Etapa 5. Síntesis de (R)-2-cloro-5-metil-7a,8,9,10-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-6(7H)-ona (7)

A una solución de (R)-2-cloro-7a,8,9,10-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-6(7H)-ona (1,3 g, 5,45 mmol) en DMF (10 ml) se le añadieron K_2CO_3 (1,51 g, 10,89 mmol) y MeI (850,42 mg, 5,99 mmol), y la suspensión se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (100 ml) y se extrajo con

EtOAc (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar (R)-2-cloro-5-metil-7a,8,9,10-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-6(7H)-ona (0,95 g, 3,61 mmol, 66,26 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un sólido de color gris. MS$(M+H)^+$ = 253,3

Etapa 6. Síntesis de ácido (R)-3-metoxi-4-((5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)benzoico (9)

A una solución de (R)-2-cloro-5-metil-7a,8,9,10-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-6(7H)-ona (0,85 g, 3,36 mmol) y ácido 4-amino-3-metoxibenzoico (787,19 mg, 4,71 mmol) en EtOH (2 ml) y H_2O (8 ml) se le añadió HCl (12 M, 560,61 µl), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se trituró con un disolvente de mezcla (EtOAC: ACN: EtOH: DMF = 30: 15: 15: 5, 5 ml) durante 10 minutos, la suspensión se filtró y la torta de filtro se lavó con un disolvente de mezcla (EtOAC: ACN: EtOH: DMF = 30: 15: 15: 5, 3 ml). La torta de filtro se recogió y se secó para proporcionar ácido (R)-3-metoxi-4-((5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)benzoico (1,3 g, 2,95 mmol, 87,70 % de rendimiento, 87 % de pureza) en forma de un sólido de color pardo claro. MS$(M+H)^+$ = 384,4

Etapa 7. Síntesis de (R)-2-(3-metoxi-4-((5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-

hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)benzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (11)

Una solución de ácido (R)-3-metoxi-4-((5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)benzoico (500 mg, 1,30 mmol), HATU (743,80 mg, 1,96 mmol) y DIPEA (505,65 mg, 3,91 mmol, 681,46 µl en DMF (10 ml) se agitó a 20 °C durante 20 min, a continuación se añadió 2-amino-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (344,78 mg, 1,43 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (100 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a MeOH al 0~100 %/EtOAc a 80 ml/min) para proporcionar (R)-2-(3-metoxi-4-((5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)benzamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (700 mg, 878,28 µmol, 67,35 % de rendimiento, 76 % de pureza) en forma de un sólido de color pardo. $MS(M+H)^+$ = 606,6.

Etapa 8. Síntesis de (R)-3-metoxi-4-((5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (12)

A una solución de (R)-2-(3-metoxi-4-((5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)benzamido)-

7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (700 mg, 1,16 mmol) en dioxano (3 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 2 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar (R)-3-metoxi-4-((5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (600 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 506,5

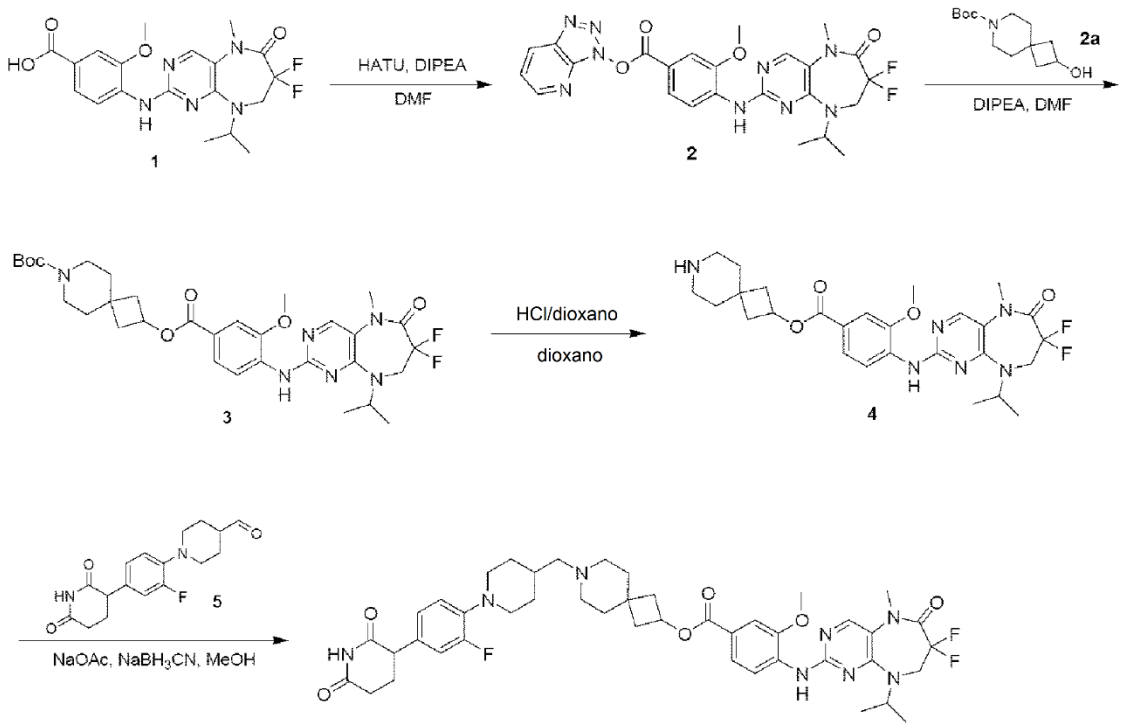
Etapa 9. Síntesis de N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxi-4-(((R)-5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)benzamida (Compuesto 24)

A una solución de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (50 mg, 157,06 µmol) en DCE (2 ml) se le añadieron (R)-3-metoxi-4-((5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (85,14 mg, 157,06 µmol, sal HCl) y NaOAc (19,33 mg, 235,60 µmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. A continuación, se añadió $NaBH(OAc)_3$ (166,44 mg, 785,32 µmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 3 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a MeOH al 0~100 %/EtOAc a 80 ml/min) seguido de HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 5 %-35 %, 10 min) para proporcionar N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-

il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxi-4-(((R)-5-metil-6-oxo-6,7,7a,8,9,10-hexahidro-5H-pirimido[5,4-b]pirrolo[1,2-d][1,4]diazepin-2-il)amino)benzamida (18,3 mg, 20,92 µmol, 13,32 % de rendimiento, 95 % de pureza, 0,5FA) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 808,6

^{1}H RMN (400 MHz, CD_3Cl) δ = 8,56 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,01 (s a, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,29 (s a, 1H), 6,97-6,86 (m, 3H), 6,21 (d a, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,60-4,51 (m, 1H), 4,02-3,91 (m, 5H), 3,74-3,67 (m, 2H), 3,45 (d a, *J* = 12,1 Hz, 2H), 3,33 (s, 3H), 2,80-2,57 (m, 11H), 2,56-2,40 (m, 5H), 2,30-2,20 (m, 3H), 2,10 (td, *J* = 6,3, 12,5 Hz, 1H), 1,93-1,85 (m, 4H), 1,80-1,72 (m, 4H), 1,68-1,57 (m, 1H), 1,53-1,41 (m, 2H)

Ejemplo 25. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoato de 7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-ilo (Compuesto 25)



Compuesto 25

Etapa 1. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoato de 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-ilo (2)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (0,5 g, 1,19 mmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (541,38 mg, 1,42 mmol) y DIPEA (460,04 mg, 3,56 mmol, 620,00 µl). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente, y un pico principal con la masa deseada. La mezcla se vertió en salmuera (80 ml) y se extrajo con EtOAc (30 ml x 5). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un residuo. El producto en bruto se trató con MTBE

(20 ml) y se agitó durante 0,5 h. A continuación, la mezcla se filtró. La torta de filtro se recogió y se secó, para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoato de 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-ilo (0,6 g, en bruto) en forma de un sólido de color pardo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS $(M+H)^+$ = 540,2

Etapa 2. Síntesis de 2-((4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoil)oxi)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (3)

Una mezcla de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoato de 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-ilo (0,6 g, 1,11 mmol), 2-hidroxi-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (268,39 mg, 1,11 mmol) y DIPEA (718,67 mg, 5,56 mmol, 968,56 µl) en DMF (10 ml) se agitó a 80 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (19 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en salmuera (50 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~50 %/éter de petróleo a 60 ml/min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 um; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 68 %-98 %, 10 min) y se liofilizó para proporcionar 2-((4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-

metoxibenzoil)oxi)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,15 g, 232,66 µmol, 20,92 % de rendimiento, 100 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 645,5

Etapa 3. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoato de 7-azaespiro[3.5]nonan-2-ilo (4)

A una solución de 2-((4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoil)oxi)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,15 g, 232,66 µmol) en dioxano (1 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 15,00 ml) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 0,5 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente, y un pico principal con la masa deseada. La solución de mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoato de 7-azaespiro[3.5]nonan-2-ilo (0,15 g, en bruto, HCl) en forma de un sólido de color blanco, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 545,3

Etapa 4. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoato de 7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-ilo (Compuesto 25)

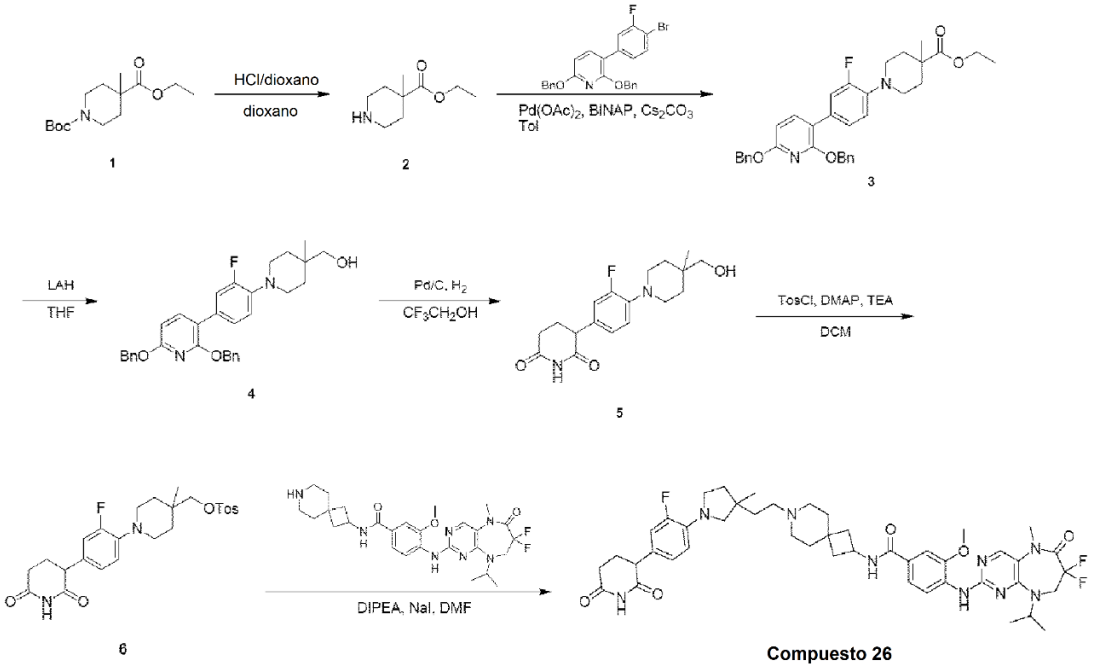
Una mezcla de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoato de 7-azaespiro[3.5]nonan-2-ilo (145 mg, 249,55 µmol, HCl) y NaOAc (20,47 mg, 249,55 µmol) en MeOH (2 ml) se agitó a 25 °C durante 20 min. A la mezcla se le

añadieron 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (111,22 mg, 349,37 µmol) y AcOH (14,99 mg, 249,55 µmol, 14,27 µl) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 30 min. A la mezcla de reacción se le añadió $NaBH_3CN$ (47,04 mg, 748,64 µmol) a 25 °C, La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente, y un pico (~40 %) con la masa deseada. La solución de reacción se concentró para eliminar el disolvente orgánico. El producto en bruto se disolvió con EtOAc (50 ml), se lavó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml) y HCl (20 ml, 0,2 M), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 x 50 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 57 %-87 %, 10 min) y se liofilizó para dar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó por HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 19 %-49 %, 10 min) y se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoato de 7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-ilo (92,1 mg, 106,96 µmol, 42,86 % de rendimiento, 99 % de pureza, 0,12FA) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 847,4

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,80 (s, 1H), 8,42 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,19 (s, 0,12H), 7,98 (s, 1H), 7,62 (dd, *J* = 1,4, 8,6 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,05-6,87 (m, 3H), 5,13 (c, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,89 (c, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,04 (t, *J* = 13,4 Hz, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,79 (dd, *J* = 5,0, 11,7 Hz, 1H), 3,32-3,23 (m, 5H), 2,70-2,57 (m, 3H), 2,40-2,07 (m, 10H), 2,05-1,95 (m, 1H), 1,88 (dd, *J* = 6,8, 12,5 Hz, 2H), 1,77 (d, *J* = 12,8 Hz, 2H), 1,68-1,55 (m, 5H), 1,29-1,15 (m,

8H).

Ejemplo 26. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-(2-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-3-metilpirrolidin-3-il)etil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 26)



Etapa 1. Síntesis de 4-metilpiperidin-4-carboxilato de etilo (2)

A una solución de 4-etil 4-metilpiperidin-1,4-dicarboxilato de 1-(*terc*-butilo) (1 g, 3,69 mmol) en dioxano (10 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 921,31 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada, la mezcla se concentró al vacío para proporcionar 4-metilpiperidin-4-carboxilato de etilo (2,2 g, en bruto, sal HCl) en forma de un polvo de color blanco. MS $(M+H)^+$ = 172,1

Etapa 2. Síntesis de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-metilpiperidin-4-carboxilato de etilo (3)

A una solución de 4-metilpiperidin-4-carboxilato de etilo (0,5 g, en bruto, sal HCl) y 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (1,86 g, 2,41 mmol, 60 % de pureza) en tolueno (20 ml) se le añadieron Cs_2CO_3 (2,35 g, 7,22 mmol), $Pd(OAc)_2$ (81,07 mg, 361,10 µmol) y BINAP (449,70 mg, 722,21 µmol), y la mezcla se agitó a 80 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró la masa deseada, la mezcla se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage, columna flash de sílice SepaFlash® de 25 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 4~25 %/éter de petróleo a 20 ml/min) para proporcionar 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-metilpiperidin-4-carboxilato de etilo (1,1 g, 1,71 mmol, 70,85 % de rendimiento, 86 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 555,3

Etapa 3. Síntesis de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-metilpiperidin-4-il)metanol (4)

A una solución de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-metilpiperidin-4-carboxilato de etilo (1,1 g, 1,98 mmol) en THF (4 ml) se le añadió $LiAlH_4$ (105,38 mg, 2,78 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (0,2 ml), NaOH (15 %, 0,2 ml) y H_2O (0,6 ml), a continuación se filtró y se secó sobre Na_2SO_4. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-metilpiperidin-4-il)metanol (1 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 513,3

Etapa 4. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)-4-metilpiperidin-1-

il)fenil)piperidin-2,6-diona (5)

A una solución de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-metilpiperidin-4-il)metanol (1 g, 1,95 mmol) en CF_3CH_2OH (4 ml) se le añadió Pd/C (2,69 g, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2, la suspensión se desgasificó y se purgó con H_2 3 veces, a continuación, la mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 16 h en una atmósfera de 15 psi de H_2. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se filtró, el filtrado se concentró al vacío para proporcionar 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)-4-metilpiperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (620 mg, en bruto) en forma de un polvo de color gris. $MS(M+H)^+$ = 335,1

Etapa 5. Síntesis de 4-metilbencenosulfonato de (1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-4-metilpiperidin-4-il)metilo (6)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)-4-metilpiperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (200 mg, 598,11 µmol) en DCM (10 ml) se le añadieron TosCl (171,04 mg, 897,17 µmol) y TEA (181,57 mg, 1,79 mmol, 249,75 µl) seguido de DMAP (14,61 mg, 119,62 µmol), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada, la mezcla se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage, columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 4~51 %/éter de petróleo a 20 ml/min) para proporcionar 4-metilbencenosulfonato de (1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-4-metilpiperidin-4-il)metilo (60 mg, 110,53 µmol, 18,48 % de rendimiento, 90 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 489,2

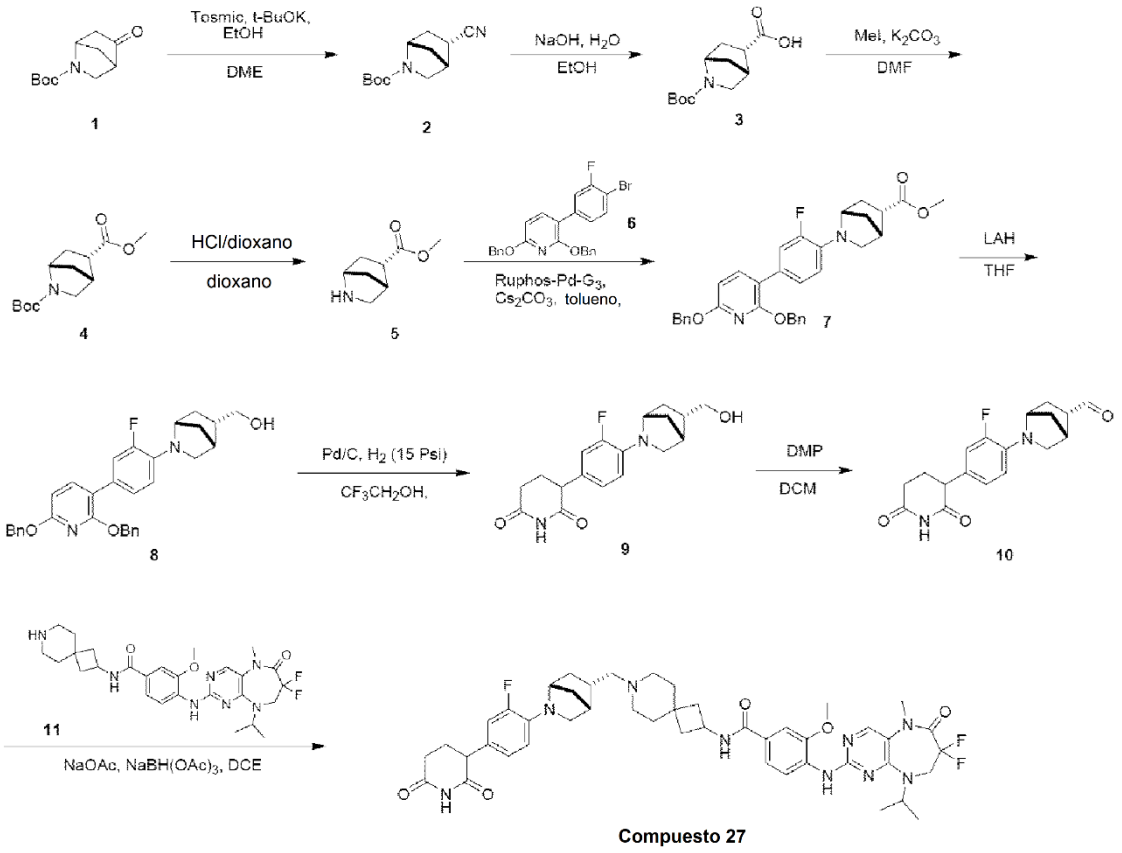
Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-(2-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-3-metilpirrolidin-3-il)etil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 26)

A una solución de 4-metilbencenosulfonato de (1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-4-metilpiperidin-4-il)metilo (60 mg, 122,81 µmol) en DMF (8 ml) se le añadieron 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (71,24 mg, 122,81 µmol, sal HCl), DIPEA (47,62 mg, 368,42 µmol, 64,17 µl) y NaI (3,68 mg, 24,56 µmol), y la mezcla se agitó a 80 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (3 ml) y se extrajo con EtOAc (5 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 * 50 mm * 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 42 %-72 %, 10 min) para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-(2-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-3-metilpirrolidin-3-il)etil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (23 mg, 24,10 µmol, 19,62 % de rendimiento, 90,1 % de pureza) en forma de un polvo de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 860,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,77 (s, 1H), 8,42 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 8,35-8,28 (m, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,53-7,48 (m, 2H), 6,93 (dd, *J* = 1,8, 15,3 Hz, 1H), 6,84 (dd, *J* = 1,6, 8,3 Hz, 1H), 6,63 (t, *J* = 9,1 Hz, 1H), 4,89 (td, *J* = 6,5, 13,4 Hz, 1H), 4,46-4,35 (m, 1H), 4,05 (t, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,73 (dd, *J* = 4,9, 11,4 Hz, 1H), 3,42 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,22-3,17 (m,

1H), 3,07 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 2,70-2,59 (m, 2H), 2,38-2,10 (m, 10H), 2,02-1,96 (m, 1H), 1,83-1,69 (m, 3H), 1,62-1,50 (m, 6H), 1,25 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H), 1,05 (s, 3H).

Ejemplo 27. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-(((1R,4R,5S)-2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-5-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (trans) (Compuesto 27)



Compuesto 27

Etapa 1. Síntesis de (1S,4R,5S)-5-ciano-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (trans) (2)

A una solución de 5-oxo-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,8 g, 8,52 mmol) y 1-(isocianometilsulfonil)-4-metil-benceno (2,16 g,

11,08 mmol) en DME (50 ml) y EtOH (511 mg, 11,09 mmol) se le añadió t-BuOK (1 M, 21,30 ml) a -10 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 3 h. El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 2:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente y dos nuevas manchas con polaridad inferior. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl ac. sat. (100 ml) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (50 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~18 %/éter de petróleo a 50 ml/min) para proporcionar (1S,4R,5R)-5-ciano-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (trans) (700 mg, 3,15 mmol, 36,96 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo y (1S,4R,5S)-5-ciano-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (cis) (650 mg, 2,92 mmol, 34,32 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 223,3

Etapa 2. Síntesis de ácido (1S,4R,5S)-2-(*terc*-butoxicarbonil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carboxílico (trans) (3)

A una solución de (1S,4R,5S)-5-ciano-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (trans) (600 mg, 2,70 mmol) en EtOH (20 ml) y H_2O (2 ml) se le añadió NaOH (539,85 mg, 13,50 mmol), y la mezcla se agitó a 80 °C durante 16 h. El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 2:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el etanol. El residuo se diluyó con agua, 10 ml, se acidificó con HCl 1 N a pH = 6, y se extrajo con EtOAc (30 ml x

2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (60 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar ácido (1S,4R,5S)-2-(*terc*-butoxicarbonil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carboxílico (trans) (630 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 242,1

Etapa 3. Síntesis de 5-metil (1S,4R,5S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-2,5-dicarboxilato de 2-(*terc*-butilo) (trans) (4)

A una solución de ácido (1S,4R,5S)-2-(*terc*-butoxicarbonil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carboxílico (trans) (630 mg, 2,61 mmol) en DMF (10 ml) se le añadieron MeI (400 mg, 2,82 mmol, 175,44 µl) y K_2CO_3 (541,29 mg, 3,92 mmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 1:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente, una nueva mancha principal con menor polaridad. La mezcla de reacción se diluyó con salmuera (30 ml) a 0 °C, y se extrajo con EtOAc (40 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (80 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~20 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 5-metil (1S,4R,5S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-2,5-dicarboxilato de 2-(*terc*-butilo) (trans) (550 mg, 2,15 mmol, 82,51 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 256,1

Etapa 4. Síntesis de (1S,4R,5S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carboxilato de metilo (trans) (5)

A una solución de 5-metil (1S,4R,5S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-2,5-

dicarboxilato de 2-(*terc*-butilo) (trans) (550 mg, 2,15 mmol) en dioxano (5 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 5 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por TLC indicó que el material de partida se había consumido completamente. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar (1S,4R,5S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carboxilato de metilo (trans) (400 mg, en bruto, HCl) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 156,1

Etapa 5. Síntesis de (1S,4R,5S)-2-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carboxilato de metilo (trans) (7)

A una solución de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (896,41 mg, 1,93 mmol) y (1S,4R,5S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carboxilato de metilo (trans) (370 mg, en bruto, HCl) en tolueno (18 ml) se le añadieron Cs_2CO_3 (1,89 g, 5,79 mmol), RuPhos Pd G_3 (161,46 mg, 193,06 µmol), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico (45 %) con la masa deseada. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~50 %/éter de petróleo a 40 ml/min) para proporcionar (1S,4R,5S)-2-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carboxilato de metilo (trans) (410 mg, 761,22 µmol, 39,43 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 539,2

Etapa 6. Síntesis de ((1S,4R,5S)-2-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-5-il)metanol (trans) (8)

A una suspensión de (1S,4R,5S)-2-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carboxilato de metilo (trans) (360 mg,

668,39 µmol) en THF (10 ml) se le añadió LAH (50 mg, 1,32 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 15 °C durante 2 horas. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de H_2O (0,2 ml), NaOH (ac. al 15 %, 0,2 ml) y H_2O (0,6 ml), la mezcla se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 20~80 %/éter de petróleo a 40 ml/min) para proporcionar ((1S,4R,5S)-2-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-5-il)metanol (trans) (340 mg, 539,37 µmol, 80,70 % de rendimiento, 81 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 511,3

Etapa 7. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-((1S,4R,5S)-5-(hidroximetil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-2-il)fenil)piperidin-2,6-diona (trans) (9)

Una mezcla de ((1S,4R,5S)-2-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-5-il)metanol (trans) (140 mg, 274,19 µmol) y Pd/C (14 mg, 10 % de pureza) en CF_3CH_2OH (5 ml) se desgasificó y se purgó con H_2 3 veces, y a continuación, la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró un pico con la masa deseada. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 3-(3-fluoro-4-((1S,4R,5S)-5-(hidroximetil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-2-il)fenil)piperidin-2,6-diona (trans) (90 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 333,1

Etapa 8. Síntesis de (1S,4R,5S)-2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carbaldehído (trans) (10)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-((1S,4R,5S)-5-(hidroximetil)-2-

azabiciclo[2.2.1]heptan-2-il)fenil)piperidin-2,6-diona (trans) (90 mg, en bruto) en DCM (2 ml) se le añadió DMP (137,82 mg, 324,94 µmol, 100,60 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por TLC indicó que el material de partida se había consumido completamente y se detectaron nuevas manchas con polaridad inferior. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar (1S,4R,5S)-2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carbaldehído (trans) (90 mg, en bruto) en forma de un aceite de color pardo. MS(M+H)$^+$ = 331,1

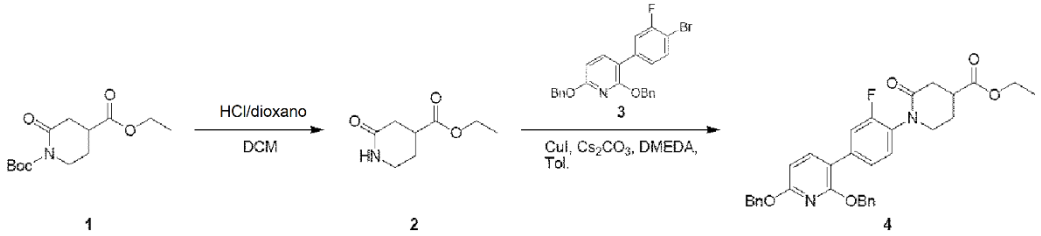
Etapa 9. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-(((1R,4R,5S)-2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-5-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (trans) (Compuesto 27)

A una solución de (1S,4R,5S)-2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-5-carbaldehído (trans) (90 mg, 272,44 µmol) y 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (148,10 mg, 255,31 µmol, HCl) en DCE (2 ml) se le añadió NaOAc (22,35 mg, 272,44 µmol), la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h, se añadió $NaBH(OAc)_3$ (173,22 mg, 817,31 µmol), la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico (34 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó con $NaHCO_3$ (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó mediante TLC prep. (SiO_2, DCM: MeOH = 9:1) y se purificó

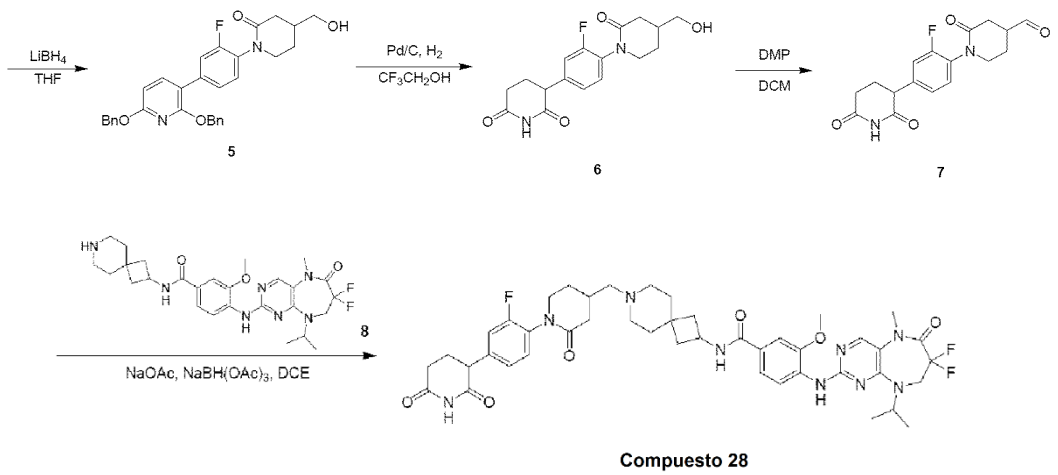
de nuevo por HPLC de fase inversa (columna: Waters Xbridge 150 * 25 mm * 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 47 %-77 %, 8 min). El eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-(((1R,4R,5S)-2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-5-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (trans) (57,3 mg, 62,78 µmol, 23,04 % de rendimiento, 94 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS$(M+H)^+$ = 858,6

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,77 (s, 1H), 8,40 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,32-8,27 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,54-7,45 (m, 2H), 6,93-6,87 (m, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,65-6,59 (t, *J* = 9,1 Hz, 1H), 4,94-4,82 (m, 1H), 4,45-4,33 (m, 1H), 4,10-3,99 (m, 3H), 3,93 (s, 3H), 3,74-3,67 (m, 1H), 3,61-3,54 (m, 1H), 3,30 (s, 3H), 2,84-2,77 (m, 1H), 2,76-2,69 (m, 1H), 2,65-2,59 (m, 2H), 2,40-2,35 (m, 2H), 2,27-2,22 (m, 2H), 2,17-2,11 (m, 3H), 2,05-1,97 (m, 2H), 1,86-1,76 (m, 4H), 1,61-1,50 (m, 6H), 1,31-1,17 (m, 8H).

Ejemplo 28. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-oxopiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 28)



1 2 4



Compuesto 28

Etapa 1. Síntesis de 2-oxopiperidin-4-carboxilato de etilo (2)

A una solución de 4-etil 2-oxopiperidin-1,4-dicarboxilato de 1-(*terc*-butilo) (2 g, 7,37 mmol) en DCM (10 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 3 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 3:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente y una nueva mancha principal con polaridad inferior. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar 2-oxopiperidin-4-carboxilato de etilo (1,26 g, en bruto) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 172,1.

Etapa 2. Síntesis de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-oxopiperidin-4-carboxilato de etilo (4)

A una solución de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (1,68 g, 3,61 mmol), 2-oxopiperidin-4-carboxilato de etilo (500 mg, en bruto) y CuI (458,57 mg, 2,41 mmol) en Tol. (20 ml) se le añadieron DMEDA (212,26 mg, 2,41 mmol, 259,16 µl) y Cs_2CO_3 (1,57 g, 4,82 mmol) en una atmósfera de N_2, la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se

purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 20~100 %/éter de petróleo a metanol al 10 %/EtOAc a 40 ml/min) para proporcionar 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-oxopiperidin-4-carboxilato de etilo (500 mg, 901,54 µmol, 37,44 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 555,2.

Etapa 3. Síntesis de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-(hidroximetil)piperidin-2-ona (5)

A una suspensión de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-oxopiperidin-4-carboxilato de etilo (400 mg, 721,23 µmol) en THF (8 ml) se le añadió gota a gota $LiBH_4$ (2 M, 734,50 µl) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 6 horas. El análisis por LCMS mostró un pico (17 %) con la masa deseada y quedó un 76 % del material de partida. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl (10 ml) a 0 °C, y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 20~100 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-(hidroximetil)piperidin-2-ona (300 mg, 561,87 µmol, 77,90 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 513,3.

Etapa 4. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)-2-oxopiperidin-1-

il)fenil)piperidin-2,6-diona (6)

Una mezcla de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-(hidroximetil)piperidin-2-ona (200 mg, 390,19 µmol) y Pd/C (20 mg, 10 % de pureza) en CF_3CH_2OH (10 ml) se desgasificó y se purgó con H_2 3 veces, a continuación, la mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)-2-oxopiperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (130 mg, en bruto) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 335,1.

Etapa 5. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-oxopiperidin-4-carbaldehído (7)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)-2-oxopiperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (130 mg, en bruto) en DCM (2 ml) se le añadió DMP (197,90 mg, 466,59 µmol, 144,45 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por TLC indicó que el material de partida se había consumido completamente y se detectó una nueva mancha. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-oxopiperidin-4-carbaldehído (130 mg, en bruto) en forma de un aceite de color pardo, que se usó en la siguiente etapa directamente. $MS(M+H)^+$ = 333,3.

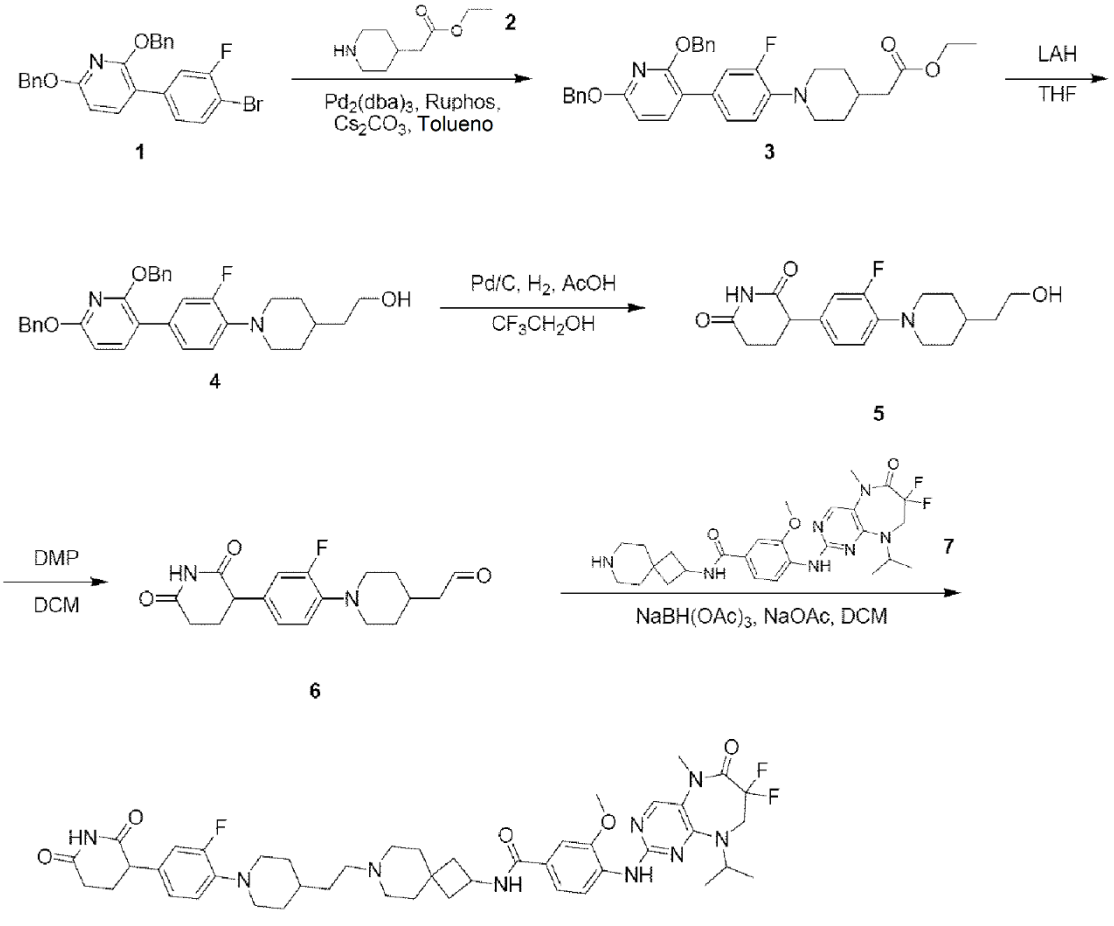
Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-oxopiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 28)

A una solución de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-oxopiperidin-4-carbaldehído (130 mg, en bruto) y 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (212,65 mg, 366,59 µmol, HCl) en DCE (2 ml) se le añadió NaOAc (32,09 mg, 391,18 µmol), la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h, se añadió $NaBH(OAc)_3$ (248,72 mg, 1,17 mmol), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de $NaHCO_3$ (5 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó mediante TLC prep. (SiO_2, DCM: MeOH = 9:1) y se purificó de nuevo por HPLC de fase inversa (columna: Waters Xbridge 150*25 mm * 5 um; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 38 %-68 %, 8 min). El eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-oxopiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (50,8 mg, 58,48 µmol, 14,95 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 860,6.

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,87 (s, 1H), 8,42 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 8,33-8,28 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,53-7,47 (m, 2H), 7,34-7,28 (m, 1H), 7,21-7,17 (m, 1H), 7,12-7,07 (m, 1H), 4,94-4,82 (m, 1H), 4,47-4,33 (m, 1H), 4,04 (t, *J* = 13,4 Hz, 2H), 3,96-3,87 (m, 4H), 3,63-3,54 (m, 1H), 3,53-3,46 (m, 1H), 3,30 (s, 3H), 2,73-2,62 (m, 2H), 2,57-2,54 (m, 2H), 2,35-2,32 (m, 1H), 2,29-2,13

(m, 8H), 2,10-1,97 (m, 3H), 1,87-1,76 (m, 2H), 1,66-1,52 (m, 5H), 1,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H).

Ejemplo 29. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-(2-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)etil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 29)



Etapa 1. Síntesis de 2-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)acetato de etilo (3)

A la solución de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (2 g, 4,31 mmol) y 2-(piperidin-4-il)acetato de etilo (737,57 mg, 4,31 mmol) en tolueno

(50 ml) se le añadieron RuPhos (401,99 mg, 861,46 µmol), Pd_2 $(dba)_3$ (394,43 mg, 430,73 µmol) y Cs_2CO_3 (4,21 g, 12,92 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 12 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (45 %) con la masa deseada, la mezcla se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~20 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 2-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)acetato de etilo (0,7 g, 1,10 mmol, 25,49 % de rendimiento, 87 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 555,3

Etapa 2. Síntesis de 2-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)etanol (4)

A la suspensión de LAH (100 mg, 2,64 mmol) en THF (10 ml) se le añadió 2-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)acetato de etilo (700 mg, 1,26 mmol) en THF (5 ml) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico (79 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (0,1 ml), una solución de NaOH (15 %, 0,1 ml) y H_2O (0,3 ml) a 0 °C, a continuación, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar 2-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)etanol (0,6 g, 1,17 mmol, 92,74 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 513,2

Etapa 3. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-(4-(2-hidroxietil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (5)

A la solución de 2-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)etanol (0,6 g, 1,17 mmol) en CF_3CH_2OH (20 ml) se le

añadieron AcOH (70,29 mg, 1,17 mmol, 66,94 µl) y Pd/C (100 mg, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2, A continuación, la mezcla se agitó a 20-25 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el reactivo 1 se había consumido, la mezcla se filtró y se filtró para proporcionar el producto en bruto (0,5 g, en bruto) en forma de un sólido de color negro. El producto en bruto de 400 mg se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~60 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 3-(3-fluoro-4-(4-(2-hidroxietil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (60 mg, 179,43 µmol, 15,33 % de rendimiento, 100 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 335,2

Etapa 4. Síntesis de 2-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)acetaldehído (6)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(4-(2-hidroxietil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (60 mg, 179,43 µmol) en DCM (3 ml) se le añadió DMP (114,16 mg, 269,15 µmol, 83,33 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por TLC (EtOAc: éter de petróleo = 2:1) mostró que la 3-(3-fluoro-4-(4-(2-hidroxietil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona se había consumido completamente y se había formado una nueva mancha, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 2-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)acetaldehído (60 mg, en bruto) se obtuvo en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 333,4

Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-(2-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)etil)-7-azaespiro[3.5]nonan-

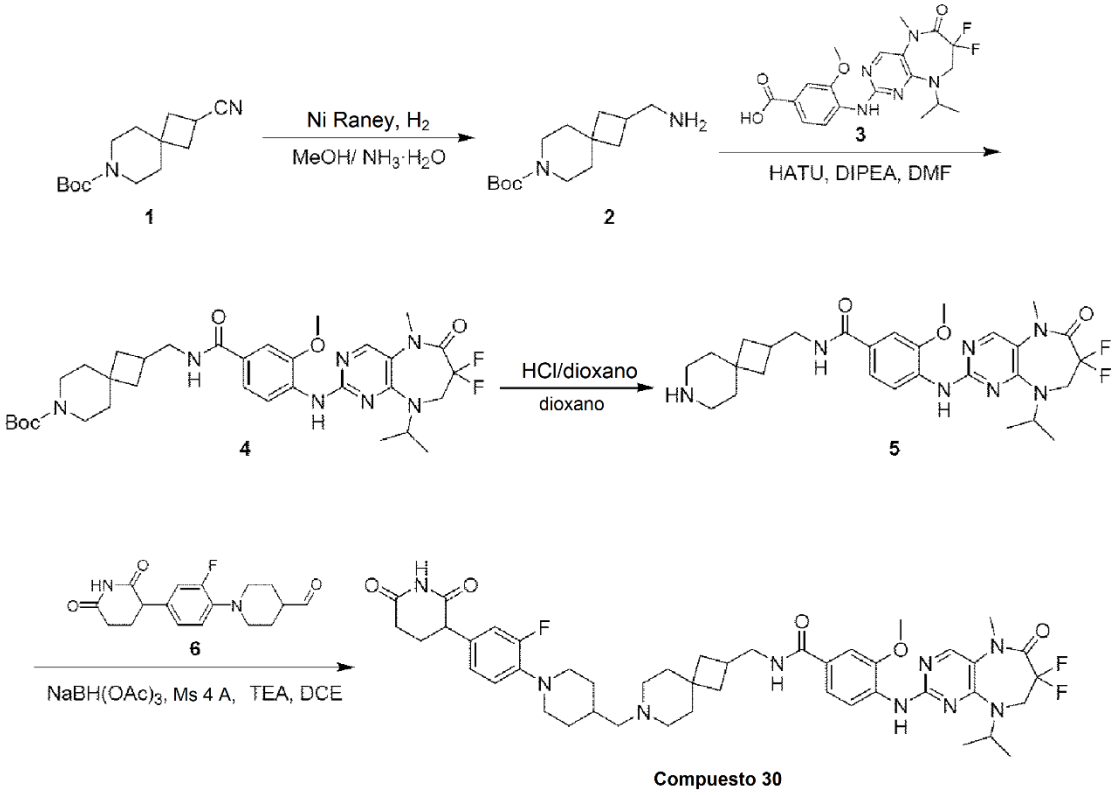
2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 29)

A una solución de 2-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil) piperidin-4-il)acetaldehído (59 mg, 177,51 µmol) en DCM (5 ml) se le añadió 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (92,67 mg, 159,76 µmol, HCl) y NaOAc (21,84 mg, 266,27 µmol), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. A continuación, a la mezcla se le añadió $NaBH(OAc)_3$ (188,11 mg, 887,57 µmol) a 20 °C, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 15 h. El análisis por LCMS mostró un pico (24 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en agua (20 ml), se extrajo con DCM (10 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Phenomenex luna C18 150 * 25 mm * 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 18 %-48 %, 10 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-(2-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)etil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (13,6 mg, 14,71 µmol, 8,29 % de rendimiento, 93 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 860,4.

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,81 (s, 1H), 8,43 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 8,31-8,27 (m, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,54-7,48 (m, 2H), 7,06-6,91 (m, 3H), 4,96-4,82 (m, 1H), 4,48-4,33 (m, 1H), 4,05 (t, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,80 (dd, *J* = 4,8, 11,6 Hz, 1H), 3,30-3,26 (m, 5H), 2,70-2,57 (m, 3H), 2,48-2,45 (m, 1H), 2,39-2,28 (m, 5H), 2,26-2,10 (m, 5H), 2,09-2,00 (m, 1H), 1,85-1,73 (m, 4H), 1,64-1,53 (m, 4H), 1,45-1,39 (m, 2H), 1,38-1,30 (m, 2H), 1,25 (d, *J* = 6,6 Hz,

6H).

Ejemplo 30. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)metil)-3-metoxibenzamida (Compuesto 30)



Etapa 1. Síntesis de 2-(aminometil)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (2)

A una solución de 2-ciano-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,5 g, 2,00 mmol) en MeOH (10 ml) y $NH_3.H_2O$ (1 ml) se le añadió Ni Raney (342,24 mg, 3,99 mmol) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con H_2. La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h en una atmósfera de H_2 (50 psi). El análisis por LCMS mostró que el material de

partida se había consumido completamente y un pico (69 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con MeOH (100 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 2-(aminometil)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (512 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M-56+H)$^+$ = 199,1

Etapa 2. Síntesis de 2-((4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)metil)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (4)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (600 mg, 1,42 mmol) en DMF (4 ml) se le añadieron HATU (595,52 mg, 1,57 mmol) y DIPEA (552,06 mg, 4,27 mmol, 744,02 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 10 min y se añadió una solución de 2-(aminometil)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (507,05 mg, 1,99 mmol) en DMF (4 ml), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que todo el material de partida se había consumido completamente y un pico (69 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (15 ml) y se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (15 ml x 3), se secó sobre Na_2SO, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~80 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 2-((4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)metil)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de

terc-butilo (916 mg, 1,39 mmol, 97,81 % de rendimiento) en forma de un sólido de color naranja. MS(M+H)$^+$ = 658,3

Etapa 3. Síntesis de N-((7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)metil)-4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamida (5)

A una solución de 2-((4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)metil)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (916 mg, 1,39 mmol) en dioxano (4 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 12 ml) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (76 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar N-((7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)metil)-4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamida (830 mg, en bruto, sal HCl) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 558,4

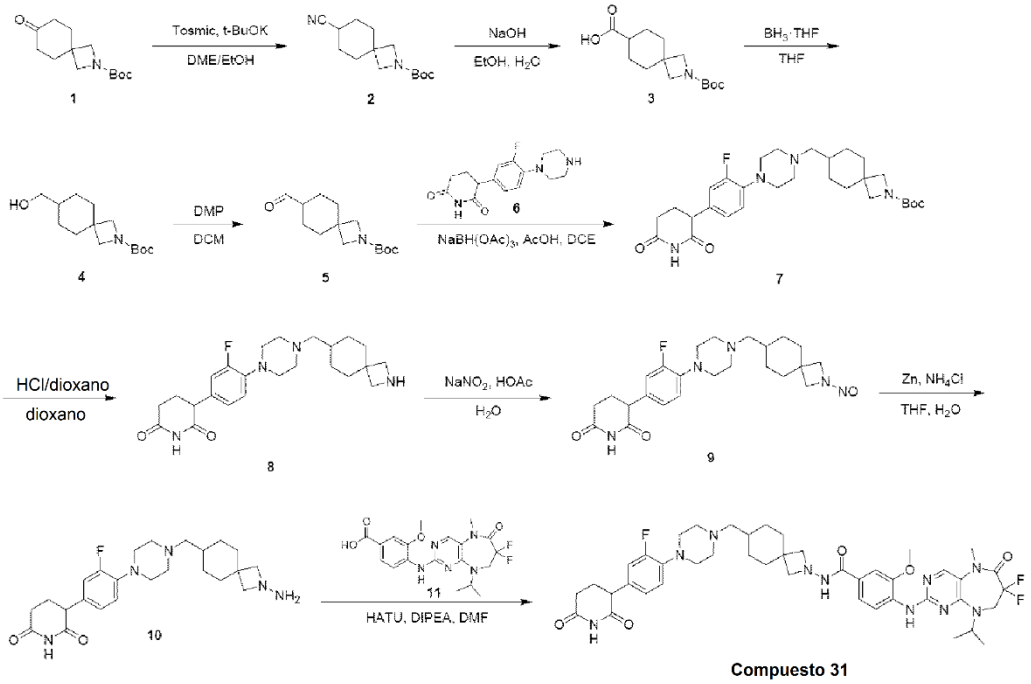
Etapa 4. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)metil)-3-metoxibenzamida (Compuesto 30)

A una solución de N-((7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)metil)-4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamida (223,95 mg, 376,95 µmol, sal HCl) en DCE (8 ml) se le añadieron TEA (476,79 mg, 4,71 mmol, 655,84 µl) y 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (150 mg, 471,19 µmol),

MS 4 A (100 mg) a 20 °C. A continuación, se añadió lentamente $NaBH(OAc)_3$ (299,59 mg, 1,41 mmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído se había consumido completamente y un pico (32 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 * 25 mm * 4 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 33 %-53 %, 7 min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Phenomenex C18 75 * 30 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 15 %-45 %, 7 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)metil)-3-metoxibenzamida (56,9 mg, 62,86 µmol, 13,34 % de rendimiento, 95 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 860,4

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,80 (s, 1H), 8,36-8,28 (m, 2H), 8,22-8,17 (m, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,54-7,45 (m, 2H), 7,06-6,88 (m, 3H), 4,94-4,82 (m, 1H), 4,03 (t a, *J* = 13,5 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,78 (dd, *J* = 4,8, 11,8 Hz, 1H), 3,32 (s, 4H), 3,31-3,26 (m, 4H), 2,66-2,56 (m, 3H), 2,48-2,44 (m, 1H), 2,41-2,11 (m, 7H), 2,04-1,94 (m, 1H), 1,87-1,71 (m, 4H), 1,68-1,59 (m, 1H), 1,55 (s a, 2H), 1,52-1,42 (m, 4H), 1,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 8H).

Ejemplo 31. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-2-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 31)



Etapa 1. Síntesis de 7-ciano-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2)

A una solución de 7-oxo-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,35 g, 5,64 mmol) y 1-(isocianometilsulfonil)-4-metil-benceno (1,43 g, 7,33 mmol) en DME (20 ml) y EtOH (337,85 mg, 7,33 mmol) se le añadió t-BuOK (1 M, 14,10 ml) a -10 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 3 h. El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 2:1, Fr = 0,66) indicó que el material de partida se había consumido completamente y se formó una nueva mancha. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl ac. sat. (30 ml) a 0 °C, a continuación se extrajo con EtOAc (50 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~25 %/éter de petróleo a 50 ml/min)

para proporcionar 7-ciano-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,4 g, 5,59 mmol, 99,14 % de rendimiento) en forma de un aceite incoloro. $MS(M+H)^+$ = 251,3

^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 3,60 (d, *J* = 14,5 Hz, 4H), 2,63 (s a, 1H), 1,97-1,64 (m, 9H), 1,45 (s, 9H)

Etapa 2. Síntesis de ácido 2-(*terc*-butoxicarbonil)-2-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxílico (3)

A una solución de 7-ciano-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,4 g, 5,59 mmol) en EtOH (15 ml) se le añadió una solución de NaOH (939,47 mg, 23,49 mmol) en H_2O (1,5 ml). La mezcla se agitó a 80 °C durante 16 h. El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 1:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente y se formó una mancha principal. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el etanol. El residuo se diluyó con agua (15 ml) y se acidificó con HCl 1 N a pH = 6. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (50 ml x 3), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar ácido 2-(*terc*-butoxicarbonil)-2-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxílico (1,15 g, 4,27 mmol, 76,35 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 270,3

Etapa 3. Síntesis de 7-(hidroximetil)-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (4)

A una solución de ácido 2-(*terc*-butoxicarbonil)-2-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxílico (950 mg, 3,53 mmol) en THF (20 ml) se le añadió BH_3. THF (1 M, 7,05 ml) a 0 °C en una atmósfera de N_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 3 h.

El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 1:1, Fr = 0,32) indicó que el material de partida se había consumido completamente y que se habían formado dos nuevas manchas. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl ac. sat. (20 ml) a 0 °C, a continuación se extrajo con EtOAc (50 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~40 %/éter de petróleo a 50 ml/min) para proporcionar 7-(hidroximetil)-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (600 mg, 2,35 mmol, 66,62 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 256,4

Etapa 4. Síntesis de 7-formil-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (5)

A una solución de 7-(hidroximetil)-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (600 mg, 2,35 mmol) en DCM (10 ml) se le añadió DMP (1,20 g, 2,82 mmol, 872,94 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 2:1, Fr = 0,61) indicó que el material de partida se había consumido completamente y que se había formado una nueva mancha principal con polaridad inferior. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar 7-formil-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (600 mg, en bruto) en forma de un sólido de color rojo. $MS(M+H)^+$ = 254,3

Etapa 5. Síntesis de 7-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (7)

A una solución de 7-formil-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-

butilo (600 mg, 2,37 mmol) y 3-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (689,96 mg, 2,37 mmol) en DCE (15 ml) se le añadió HOAc (142,23 mg, 2,37 mmol, 135,45 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. A continuación, se añadió $NaBH(OAc)_3$ (2,51 g, 11,84 mmol) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 5 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 70~100 %/éter de petróleo a 50 ml/min) para proporcionar 7-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (430 mg, 813,38 µmol, 28,67 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 529,6

Etapa 6. Síntesis de 3-(4-(4-((2-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (8)

A una solución de 7-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-2-azaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (380 mg, 718,80 µmol) en dioxano (5 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 5 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico (43 %) con la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(4-(4-((2-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (0,38 g, en bruto, sal HCl) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 429,5

Etapa 7. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-(4-((2-nitroso-2-azaespiro[3.5]nonan-7-

il)metil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (9)

A una solución de 3-(4-(4-((2-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (0,38 g, 817,20 µmol, sal HCl) en H_2O (8 ml) se le añadió $NaNO_2$ (226 mg, 3,28 mmol) seguido de AcOH (245,37 mg, 4,09 mmol, 233,91 µl) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró que quedaba un 27 % de la masa deseada y un 19 % del material de partida. Se añadió $NaNO_2$ (169,15 mg, 2,45 mmol) a 20 °C, a continuación AcOH (294,00 mg, 4,90 mmol, 280 µl) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que quedaba un 52 % de la masa deseada y un 8 % del material de partida. La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. La mezcla se inactivó con $NaHCO_3$ (20 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). La capa orgánica combinada se concentró a presión reducida. El producto en bruto se diluyó con MTBE (5 ml) y EtOAc (5 ml) y a continuación se filtró. La torta de filtro se lavó con EtOAc (3 ml), la torta de filtro se recogió y se secó a presión reducida para proporcionar 3-(3-fluoro-4-(4-((2-nitroso-2-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (150 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 458,5

Etapa 8. Síntesis de 3-(4-(4-((2-amino-2-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (10)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(4-((2-nitroso-2-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (0,11 g, 240,42 µmol) en THF (3 ml) y H_2O (3 ml) se le añadió NH_4Cl (128 mg, 2,39 mmol), a continuación se añadió lentamente Zn (150 mg, 2,29 mmol) a 0 °C y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2,5 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido y un pico con la masa deseada. La mezcla se filtró y la torta de filtro

se lavó con THF (20 ml) y MeOH (10 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El producto en bruto se diluyó con THF (5 ml) y MeOH (5 ml) y a continuación se filtró. La torta de filtro se lavó con MeOH (5 ml). El filtrado combinado se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(4-(4-((2-amino-2-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (150 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 444,2

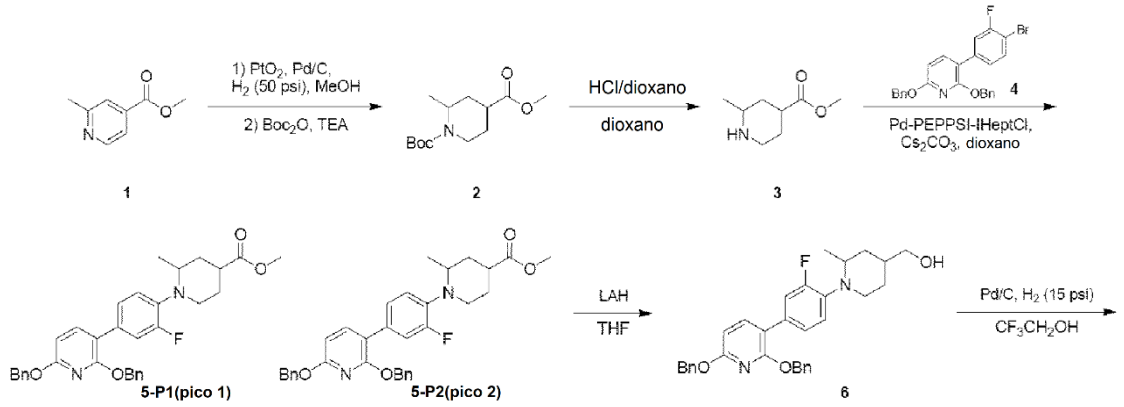
Etapa 9. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-2-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 31)

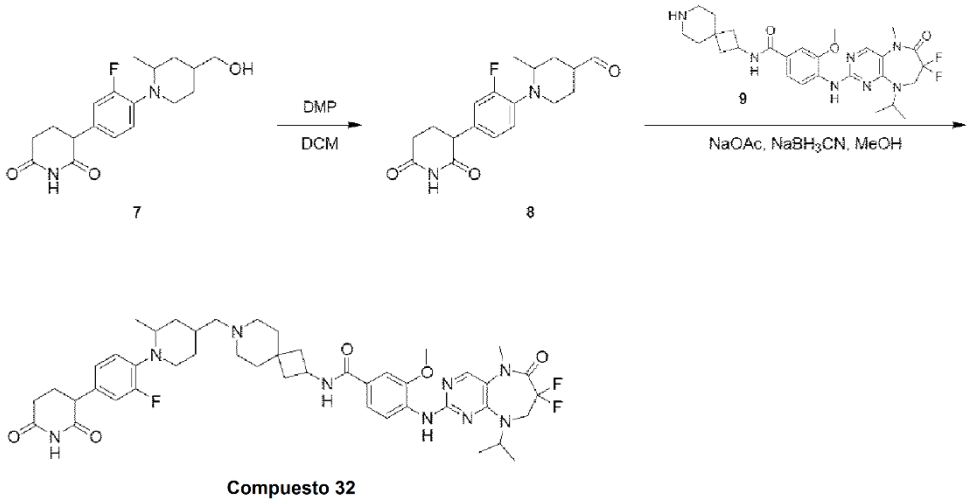
A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (150 mg, 355,96 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (162,42 mg, 427,15 µmol) y DIPEA (230,03 mg, 1,78 mmol, 310,01 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min. A continuación, se añadió una solución de 3-(4-(4-((2-amino-2-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (150 mg, 338,18 µmol) en DMF (2 ml) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de MeOH al 30 %/EtOAc a 50 ml/min), a continuación se purificó de nuevo por TLC prep. (diclorometano:metanol = 10:1) para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-

pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)-2-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (10 mg, 10,27 µmol, 2,89 % de rendimiento, 87 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 847,1

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,84-10,80 (m, 1H), 9,47 (s, 1H), 8,31-8,27 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,44-7,40 (m, 2H), 7,05-6,99 (m, 1H), 6,98-6,94 (m, 2H), 4,92-4,83 (m, 1H), 4,04 (t a, *J* = 13,2 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,83-3,76 (m, 1H), 3,54-3,46 (m, 4H), 3,32 (s, 3H), 3,31-3,29 (m, 4H), 3,02-2,97 (m, 4H), 2,65-2,59 (m, 1H), 2,47-2,43 (m, 1H), 2,21-2,10 (m, 3H), 2,03-1,92 (m, 3H), 1,75-1,66 (m, 2H), 1,52-1,35 (m, 3H), 1,24 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H), 0,94-0,79 (m, 2H).

Ejemplo 32. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 32)





Etapa 1. Síntesis de 4-metil 2-metilpiperidin-1,4-dicarboxilato de 1-(*terc*-butilo) (2)

A una solución de 2-metilisonicotinato de metilo (4 g, 26,46 mmol) en MeOH (50 ml) se le añadieron PtO_2 (600,88 mg, 2,65 mmol) y Pd/C (1 g, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2 a 15 °C. La suspensión se desgasificó al vacío y se purgó con H_2 varias veces. La mezcla se agitó en una atmósfera de H_2 (50 psi) a 50 °C durante 32 h. A continuación, se añadieron Boc_2O (8,66 g, 39,69 mmol, 9,12 ml) y TEA (5,36 g, 52,92 mmol, 7,37 ml) y la mezcla resultante se agitó a 15 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (50 %) con la masa deseada. La suspensión se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (200 ml), y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 4~10 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 4-metil 2-metilpiperidin-1,4-dicarboxilato de 1-(*terc*-butilo) (4,25 g, 16,52 mmol, 62,42 % de rendimiento) en forma de un aceite incoloro. MS(M-56+H)$^+$ = 202,0

Etapa 2. Síntesis de 2-metilpiperidin-4-carboxilato de metilo (3)

A una solución de 4-metil 2-metilpiperidin-1,4-dicarboxilato de 1-(*terc*-butilo) (3,5 g, 13,60 mmol) en dioxano (10 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 20 ml), y la mezcla se agitó a 15 °C a 2 h. El análisis por TLC (SiO_2, éter de petróleo: EtOAc = 5:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente y que se había formado una nueva mancha. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar 2-metilpiperidin-4-carboxilato de metilo (3,2 g, sal HCl) en forma de un sólido de color blanco. MS(M-56+H)$^+$ = 158,1

Etapa 3. Síntesis de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-carboxilato de metilo (5-P1 y 5-P2)

Una mezcla de 2-metilpiperidin-4-carboxilato de metilo (3,1 g, 16,01 mmol, sal HCl), 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (4,46 g, 9,60 mmol), Cs_2CO_3 (15,65 g, 48,02 mmol), y Pd-PEPPSI-IHeptCl (202,42 mg, 208,09 µmol) en dioxano (100 ml) se agitó a 100 °C durante 24 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (33 %) con la masa deseada. La mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (400 ml), y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 4~7 %/éter de petróleo a 200 ml/min) seguido de HPLC prep. (columna: Phenomenex luna C18 150 * 40 mm * 15 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 48 %-78 %, 10 min) para proporcionar dos lotes de los eluyentes (pico 1 y pico 2). Dos lotes de los eluyentes se liofilizaron respectivamente para proporcionar 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-carboxilato de metilo (pico 1) (329 mg,

608,56 µmol, 3,80 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo y 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-carboxilato de metilo (pico 2) (175 mg, 323,70 µmol, 2,02 % de rendimiento) en forma de un aceite de color pardo. El pico 1 se usó en la siguiente etapa. MS(M+H)$^+$ = 541,4.

Etapa 4. Síntesis de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-il)metanol (6)

A una solución de LAH (105,31 mg, 2,77 mmol) en THF (8 ml) se le añadió gota a gota una solución de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-carboxilato de metilo (500 mg, 924,86 µmol) en THF (8 ml) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 15 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal (94 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con THF (20 ml) a 20 °C. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (0,1 ml), NaOH (ac. al 15 %, 0,1 ml) y H_2O (0,3 ml), la suspensión se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-il)metanol (375 mg) en forma de un aceite de color gris. MS(M+H)$^+$ = 513,4.

Etapa 5. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)-2-metilpiperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (7)

A una solución de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-il)metanol (375 mg, 731,55 µmol) en CF_3CH_2OH (15 ml) y THF (6 ml) se le añadió Pd/C (150 mg, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó al vacío y se purgó con H_2 varias veces. La mezcla se agitó a 15 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y se

detectó la masa deseada. La suspensión se filtró y la torta de filtro se lavó con CF_3CH_3OH (100 ml) y THF (100 ml), y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)-2-metilpiperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (420 mg) en forma de una goma de color púrpura. $MS(M+H)^+$ = 335,3

Etapa 6. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-carbaldehído (8)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)-2-metilpiperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (420 mg, 1,26 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió DMP (799,11 mg, 1,88 mmol, 583,29 µl) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 15 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente. La mezcla de reacción se filtró y la torta de filtro se lavó con DCM (10 ml), y el filtrado se concentró al vacío a 30 °C para proporcionar 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-carbaldehído (410 mg) en forma de un aceite de color pardo. $MS(M+H)^+$ = 333,1

Etapa 7. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 32)

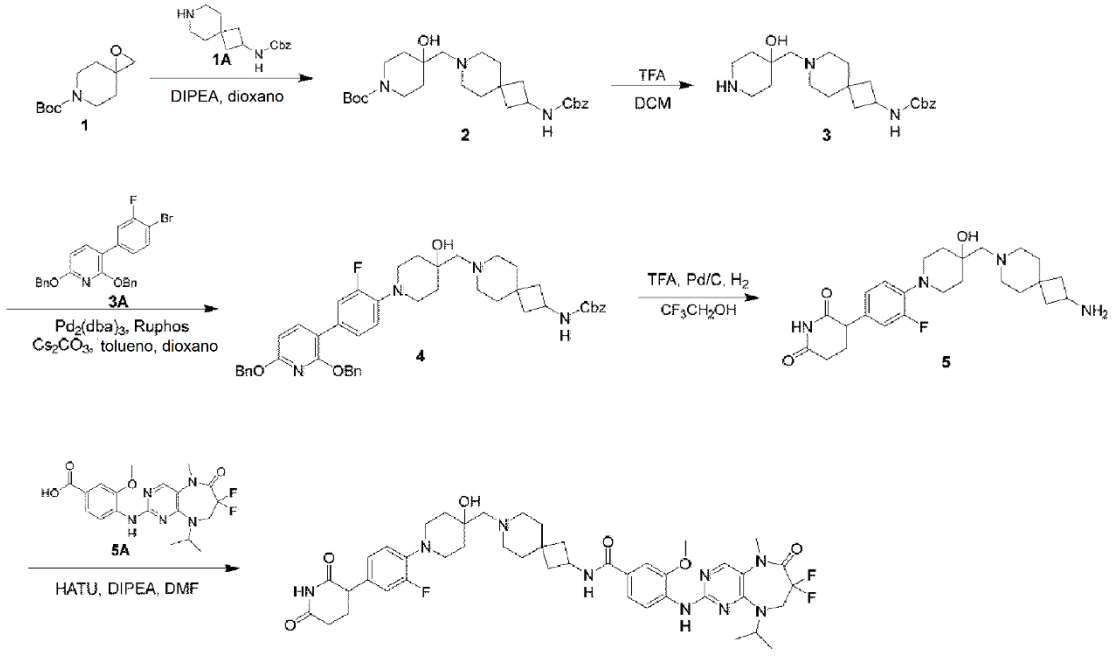
A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (429,33 mg, 740,14 µmol, sal HCl) en MeOH (10 ml) se le añadió NaOAc (404,78 mg, 4,93 mmol), a continuación se añadió 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-carbaldehído (410 mg, 1,23 mmol) y la mezcla se agitó a 15 °C durante 30 minutos. Se añadió $NaBH_3CN$ (232,56 mg, 3,70 mmol) y la mezcla resultante

se agitó a 15 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 1~50 %/éter de petróleo a 100 ml/min) seguido de cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de MeOH al 30~100 %/EtOAc a 80 ml/min) para proporcionar el producto A (0,2 g, 20 % de pureza) y el producto B (0,2 g, en bruto). El producto en bruto A (0,2 g, 20 % de pureza) se purificó por HPLC prep. (columna: Phenomenex C18 75 * 30 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 10 %-40 %, 7 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar el producto C (26 mg, 84 % de pureza, FA). El producto en bruto B (0,2 g, en bruto) se purificó por HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 * 25 mm * 4 um; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 24 %-44 %, 7 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar para proporcionar un producto D (28 mg, 82 % de pureza, TFA). El producto C (26 mg, 84 % de pureza, FA) y D (28 mg, 82 % de pureza, TFA) se combinaron y se diluyeron con agua (10 ml), se ajustó el pH = 7 con $NaHCO_3$ ac. sat. y a continuación se extrajeron con DCM (10 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por TLC prep. (diclorometano: metanol = 8/1) para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2-metilpiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (18,8 mg, 21,21 µmol, 33,77 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$

= 860,6.

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,83 (s, 1H), 8,44-8,39 (m, 1H), 8,32-8,28 (m, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,52-7,46 (m, 2H), 7,22-7,17 (m, 1H), 7,06-7,01 (m, 1H), 7,00-6,96 (m, 1H), 4,92-4,83 (m, 1H), 4,44-4,35 (m, 1H), 4,03 (t a, *J* = 13,5 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,86-3,80 (m, 1H), 3,29 (s, 3H), 3,05-2,92 (m, 2H), 2,70-2,61 (m, 1H), 2,44-2,36 (m, 2H), 2,27-1,96 (m, 9H), 1,87-1,49 (m, 10H), 1,27-1,20 (m, 7H), 0,99-0,88 (m, 1H), 0,85 (d a, *J* = 5,3 Hz, 3H).

Ejemplo 33. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-4-hidroxipiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 33)



Compuesto 33

Etapa 1. Síntesis de 4-((2-(((benciloxi)carbonil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il) metil)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2)

A una solución de 1-oxa-6-azaespiro[2.5]octano-6-carboxilato de *terc*-butilo (2,33 g, 10,93 mmol) en dioxano (25 ml) se le añadieron DIPEA (2,36 g, 18,22 mmol, 3,17 ml) y (7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de bencilo (1 g, 3,64 mmol). La mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con agua 50 ml, se extrajo con EtOAc (50 ml x 3), las capas orgánicas combinadas se lavaron con 25 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~90 %/éter de petróleo a 60 ml/min) para proporcionar 4-((2-(((benciloxi)carbonil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (800 mg, 1,33 mmol, 36,46 % de rendimiento, 81 % de pureza) en forma de un sólido de color pardo. MS $(M+H)^+$ = 488,3.

Etapa 2. Síntesis de (7-((4-hidroxipiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il) carbamato de bencilo (3)

A una solución de 4-((2-(((benciloxi)carbonil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (700 mg, 1,44 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió TFA (3,08 g, 27,01 mmol, 2,00 ml). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar (7-((4-hidroxipiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il) carbamato de bencilo (1 g, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 387,3.

Etapa 3. Síntesis de (7-((1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-

hidroxipiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de bencilo (4)

La mezcla de (7-((4-hidroxipiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de bencilo (800 mg, en bruto, TFA), 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (958,57 mg, 2,06 mmol), $Pd_2(dba)_3$(189,04 mg, 206,44 µmol), Cs_2CO_3 (2,02 g, 6,19 mmol) y RuPhos (192,67 mg, 412,89 µmol) en tolueno (3 ml) y dioxano (0,5 ml) se desgasificó y se purgó con N_2 3 veces, y la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 50~70 %/éter de petróleo a 40 ml/min) para proporcionar (7-((1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-hidroxipiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de bencilo (200 mg, 259,43 µmol, 12,57 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 771,5

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(4-((2-amino-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)-4-hidroxipiperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (5)

A la solución de (7-((1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-4-hidroxipiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)carbamato de bencilo (140 mg, 181,60 µmol) en CF_3CH_2OH (5 ml) se le añadieron TFA (41,41 mg, 363,20 µmol, 26,89 µl) y Pd/C (14 mg, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con H_2. La mezcla se agitó en una atmósfera de H_2 (15 psi) a 20-25 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La suspensión se filtró a través

de un lecho de Celite y la torta de filtro se lavó con CF_3CH_2OH (20 ml). Los filtrados combinados se concentraron a sequedad para proporcionar 3-(4-(4-((2-amino-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)-4-hidroxipiperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (100 mg, 174,64 µmol, 96,17 % de rendimiento, TFA) en forma de un sólido de color amarillo $MS(M+H)^+$ = 459,3.

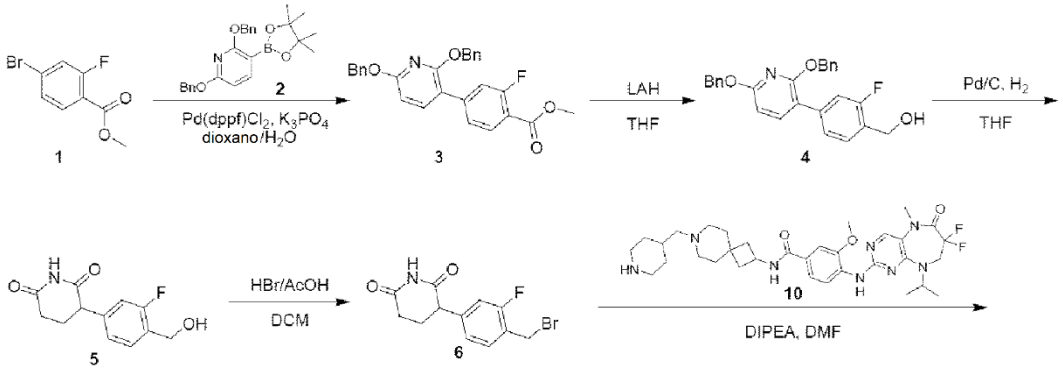
Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-4-hidroxipiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 33)

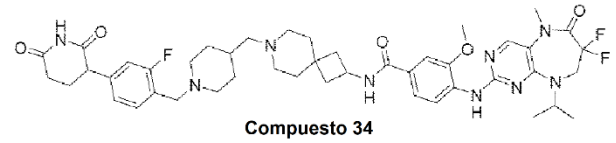
A la solución de 3-(4-(4-((2-amino-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)-4-hidroxipiperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (70 mg, 122,25 µmol, TFA) y ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (51,52 mg, 122,25 µmol) en DMF (5 ml) se le añadieron HATU (55,78 mg, 146,70 µmol) y DIPEA (47,40 mg, 366,75 µmol, 63,88 µl), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico (35 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en agua (100 ml), se extrajo con DCM (50 ml x 3), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 µltra 150 * 50 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 14 %-44 %, 7 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 * 50 mm * 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 40 %-70 %, 10 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-

pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-4-hidroxipiperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (19 mg, 21,60 µmol, 17,67 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 862,4.

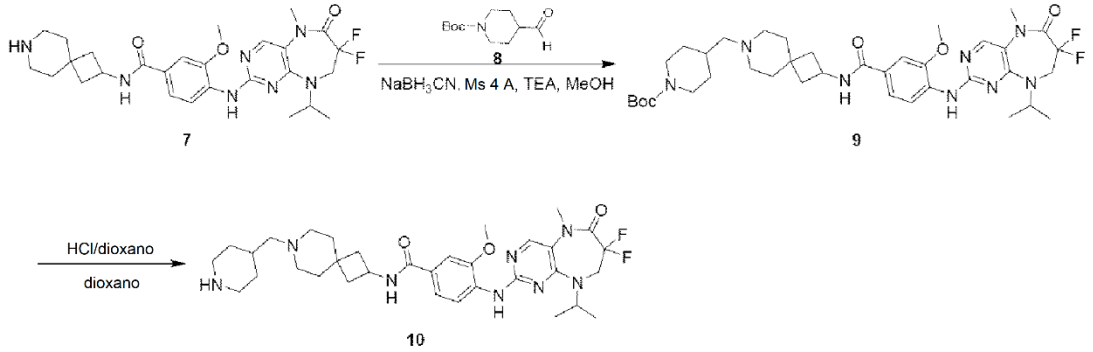
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,82 (s, 1H), 8,42 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 8,36-8,29 (m, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,56-7,45 (m, 2H), 7,06-6,89 (m, 3H), 4,95-4,82 (m, 1H), 4,46-4,33 (m, 1H), 4,11-4,00 (m, 3H), 3,95 (s, 3H), 3,80 (dd, *J* = 3,0, 10,7 Hz, 1H), 3,36-3,28 (m, 5H), 3,13-2,89 (m, 4H), 2,68-2,59 (m, 1H), 2,48-2,41 (m, 3H), 2,27-2,12 (m, 5H), 2,08-1,97 (m, 1H), 1,85-1,78 (m, 2H), 1,76-1,67 (m, 2H), 1,64-1,51 (m, 6H), 1,25 (d, *J* = 5,7 Hz, 6H).

Ejemplo 34. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorobencil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 34)





Compuesto 34



Etapa 1. Síntesis de 4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorobenzoato de metilo (3)

A una solución de 4-bromo-2-fluorobenzoato de metilo (3 g, 12,87 mmol) y 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (5,37 g, 12,87 mmol) en dioxano (100 ml) y H_2O (20 ml) se le añadieron $Pd(dppf)Cl_2$ (941,98 mg, 1,29 mmol) y K_3PO_4 (8,20 g, 38,62 mmol) a 20 °C en una atmósfera de N_2 y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 12 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (45 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~5 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorobenzoato de metilo (2,5 g, 5,47 mmol, 42,48 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+ = 444,2$

Etapa 2. Síntesis de (4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)metanol (4)

A una suspensión de LAH (427,93 mg, 11,27 mmol) en THF (20 ml) se le añadió gota a gota una solución de 4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorobenzoato de metilo (2,5 g, 5,64 mmol) en THF (10 ml) a 20 °C en una atmósfera de N_2 y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (92 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (0,45 ml), NaOH ac. (15 %, 0,45 ml) y H_2O (1,35 ml). La mezcla de reacción se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar (4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)metanol (2,3 g, en bruto) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 416,3

Etapa 3. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-(hidroximetil)fenil)piperidin-2,6-diona (5)

A una solución de (4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)metanol (2,3 g, 5,54 mmol) en THF (30 ml) se le añadió Pd/C (1 g, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con H_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con THF (100 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 3-(3-fluoro-4-(hidroximetil)fenil)piperidin-2,6-diona (1,8 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 238,1

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(bromometil)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (6)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(hidroximetil)fenil)piperidin-2,6-diona (0,6 g, 2,53 mmol) en DCM (6 ml) se le añadió HBr/AcOH (2 ml, 33 % de pureza)

a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar 3-(4-(bromometil)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (760 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 300,2

Etapa 5. Síntesis de 4-((2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (9)

A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (300 mg, 517,18 µmol, sal HCl) en MeOH (10 ml) se le añadieron TEA (523,33 mg, 5,17 mmol, 719,85 µl) y MS 4 A (200 mg), 4-formilpiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (165,45 mg, 775,77 µmol) a 20 °C. A continuación, se añadió $NaBH_3CN$ (97,50 mg, 1,55 mmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que todo el material de partida se había consumido completamente y un pico (71 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a diclorometano al 0~15 %/metanol a 100 ml/min) para proporcionar 4-((2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (352 mg, 475,11 µmol, 91,87 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 741,3

Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-(piperidin-4-ilmetil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (10)

A una solución de 4-((2-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (352 mg, 475,11 µmol) en dioxano (2 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 9,71 ml) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (87 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-(piperidin-4-ilmetil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (322 mg, en bruto, sal HCl) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 641,3

Etapa 7. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorobencil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 34)

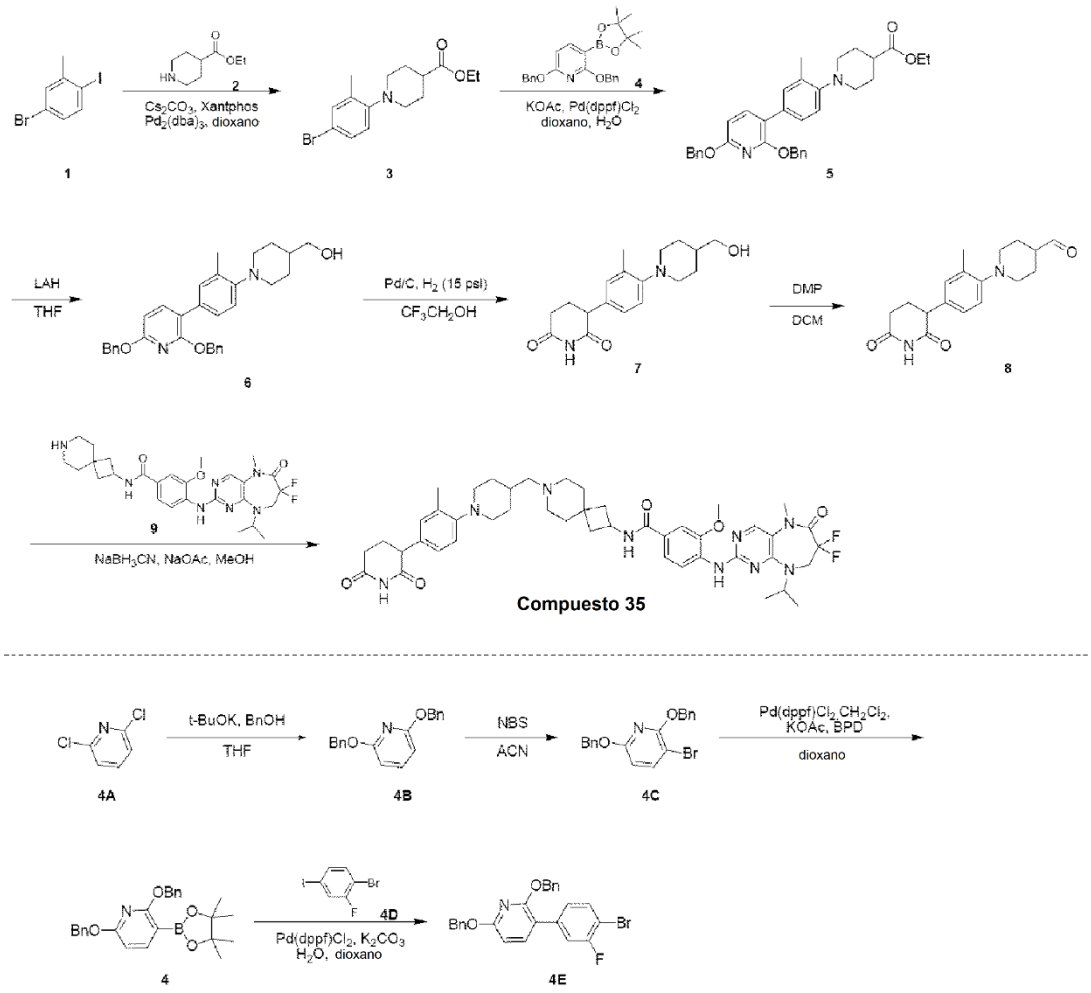
A una solución de 3-(4-(bromometil)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (500 mg, 1,67 mmol) y 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b] [1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-(piperidin-4-ilmetil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (322 mg, 475,47 µmol, sal HCl) en DMF (6 ml) se le añadió DIPEA (645,95 mg, 5,00 mmol, 870,55 µl) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que todo el material de partida se había consumido completamente y un pico

(32 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (20 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (20 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a diclorometano al 0~50 %/EtOH a 100 ml/min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 * 25 mm * 4 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 22 %-42 %, 7 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorobencil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (146,5 mg, 129,26 µmol, 7,76 % de rendimiento, 96 % de pureza, 2TFA) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 860,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,91 (s, 1H), 10,02-9,84 (m, 1H), 9,41-9,26 (m, 1H), 8,52 (d a, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,30-8,20 (m, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,58-7,53 (m, 1H), 7,53-7,48 (m, 1H), 7,29 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H), 7,22 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 4,94-4,83 (m, 1H), 4,46-4,39 (m, 1H), 4,34 (s a, 2H), 4,07 (t a, *J* = 13,3 Hz, 2H), 3,99 (dd a, *J* = 4,8, 12,1 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,52-3,35 (m, 4H), 3,32 (s, 3H), 3,26-3,15 (m, 1H), 3,10-2,75 (m, 6H), 2,74-2,65 (m, 1H), 2,58-2,52 (m, 1H), 2,43-2,34 (m, 1H), 2,30-2,21 (m, 1H), 2,20-2,10 (m, 1H), 2,05 (td, *J* = 4,1, 8,2 Hz, 1H), 2,02-1,91 (m, 4H), 1,90-1,75 (m, 4H), 1,43 (c, *J* = 11,1 Hz, 2H), 1,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H).

Ejemplo 35. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-

2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 35)



Etapa 1. Síntesis de 1-(4-bromo-2-metilfenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (3)

Una mezcla de 4-bromo-1-yodo-2-metilbenceno (25,8 g, 86,89 mmol), piperidin-4-carboxilato de etilo (13,66 g, 86,89 mmol, 13,39 ml), Xantphos (1,76 g, 3,04 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (2,39 g, 2,61 mmol) y Cs_2CO_3 (42,47 g, 130,33 mmol) en dioxano (300 ml) se agitó a 80 °C durante 16 horas en una atmósfera de N_2. El análisis por TLC (SiO_2, éter de petróleo: EtOAc = 20: 1) indicó

que quedaba 4-bromo-1-yodo-2-metilbenceno y se detectó una nueva mancha principal con polaridad inferior. La mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (500 ml), y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 330 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~3 %/éter de petróleo a 100 ml/min), el eluyente se concentró al vacío para proporcionar 1-(4-bromo-2-metilfenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (2,2 g, 6,74 mmol, 7,76 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo claro. $MS(M+H)^+$ = 326,0.

Etapa 2. Síntesis de 2,6-bis(benciloxi)piridina (4B)

A una solución de t-BuOK (576,26 g, 5,14 mol) en THF (2 L) se le añadió gota a gota fenilmetanol (222,14 g, 2,05 mol, 213,59 ml) a 0 °C, la mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 horas, y a continuación se añadió 2,6-dicloropiridina (152 g, 1,03 mol) a 0 °C durante un período de 0,5 horas. La mezcla resultante se agitó a 75 °C durante 65 horas. El análisis por LCMS mostró un 20 % de 2-(benciloxi)-6-cloropiridina y un pico (68 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en H_2O (1 l) y se extrajo con EtOAc (1 l x 3). Las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío para eliminar la mayor parte del THF, la suspensión se diluyó con EtOAc (1,5 l) y la mezcla se lavó con H_2O (1 l x 2). La capa orgánica se concentró al vacío. El residuo se trituró con éter de petróleo (300 ml) a 15 °C durante 10 minutos, la suspensión se filtró y la torta de filtro se recogió y se secó para proporcionar 2,6-bis(benciloxi)piridina (243,3 g, 804,21 mmol, 78,30 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 292,1.

Etapa 3. Síntesis de 2,6-bis(benciloxi)-3-bromopiridina (4C)

A una solución de 2,6-bis(benciloxi)piridina (234,3 g, 804,21 mmol) en

ACN (1,5 l) se le añadió NBS (143,14 g, 804,21 mmol), y la mezcla se agitó a 80 °C durante 3 horas. El análisis por LCMS mostró que quedaban trazas de material de partida y un pico (83 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para eliminar la mayor parte del disolvente. El residuo se diluyó con EtOAc (1,5 l) y se lavó con H_2O (1,2 l x 2). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se trituró con éter de petróleo (300 ml) a 15 °C durante 10 minutos, la suspensión se filtró y la torta de filtro se recogió y se secó para proporcionar 2,6-bis(benciloxi)-3-bromopiridina (295,3 g, 797,59 mmol, 99,18 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 370,0, 372,0.

Etapa 4. Síntesis de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (4)

A una solución de 2,6-bis(benciloxi)-3-bromopiridina (100 g, 270,10 mmol) en dioxano (1,5 l) se le añadieron BPD (102,88 g, 405,14 mmol), KOAc (53,02 g, 540,19 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$. CH_2Cl_2 (4,41 g, 5,40 mmol), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 36 horas en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que la 2,6-bis(benciloxi)-3-bromopiridina se había consumido completamente y un pico (38 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (700 ml). Los filtrados combinados se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2, éter de petróleo/EtOAc = 50/1 a 10/1) para proporcionar 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (80,2 g, 192,19 mmol, 71,15 % de rendimiento) en forma de un sólido de color verde claro. $MS(M+H)^+$ = 418,0.

Etapa 5. Síntesis de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (4E)

A una solución de 1-bromo-2-fluoro-4-yodobenceno (7 g, 23,26 mmol) y

2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (10 g, 23,96 mmol) en dioxano (80 ml) y H_2O (15 ml) se le añadieron K_2CO_3 (6,43 g, 46,53 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (1,70 g, 2,33 mmol) en una atmósfera de N_2, y la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 horas en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que el 1-bromo-2-fluoro-4-yodobenceno se había consumido completamente y un pico (43 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para eliminar la mayor parte del dioxano. El residuo se diluyó con H_2O (250 ml) y se extrajo con EtOAc (150 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 330 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~4 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (6,14 g, 13,22 mmol, 56,84 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo claro. $MS(M+H)^+$ = 464,0.

Etapa 6. Síntesis de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (5)

A una solución de 1-(4-bromo-2-metilfenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (2,2 g, 6,74 mmol), 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (3,94 g, 9,44 mmol) y KOAc (1,99 g, 20,23 mmol) en dioxano (60 ml) y H_2O (10 ml) se le añadió $Pd(dppf)Cl_2$ (246,72 mg, 337,19 µmol), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 horas en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que el 1-(4-bromo-2-metilfenil)piperidin-4-carboxilato de etilo se había consumido completamente y un pico (40 %) con la masa deseada. La mezcla se combinó con otro lote (escala de 460 mg) y se concentró al vacío para eliminar la mayor parte del disolvente. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida

sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~4 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (1,95 g, 3,63 mmol, 53,88 % de rendimiento) en forma de un aceite de color pardo claro. MS(M+H)$^+$ = 537,3.

Etapa 7. Síntesis de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-il)metanol (6)

A una suspensión de LAH (141,45 mg, 3,73 mmol) en THF (10 ml) se le añadió gota a gota una solución de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (1 g, 1,86 mmol) en THF (10 ml) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 15 °C durante 4 horas. El análisis por LCMS mostró que quedaban trazas de material de partida y un pico (87 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con THF (20 ml) a 20 °C y la mezcla resultante se inactivó con H_2O (0,2 ml), una solución de NaOH (ac. al 15 %, 0,2 ml) y H_2O (0,6 ml), la suspensión se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-il)metanol (890 mg) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 495,2.

Etapa 8. Síntesis de 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)-3-metilfenil)piperidin-2,6-diona (7)

A una solución de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-il)metanol (890 mg, 1,80 mmol) en CF_3CH_2OH (20 ml) se le añadió Pd/C (100 mg, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2, la suspensión se desgasificó y se purgó con H_2 varias veces, y la mezcla se agitó a 15 °C durante 32 horas en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente. La mezcla de

reacción se filtró, y la torta de filtro se lavó con CF_3CH_2OH (60 ml). Los filtrados combinados se concentró al vacío para proporcionar 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)-3-metilfenil)piperidin-2,6-diona (625 mg) en forma de un sólido de color verde. MS(M+H)$^+$ = 317,2.

Etapa 9. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-carbaldehído (8)

A una solución de 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)-3-metilfenil)piperidin-2,6-diona (420 mg, 1,33 mmol) en DCM (10 ml) se le añadió DMP (731,94 mg, 1,73 mmol, 534,26 µl) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 15 °C durante 2 horas. El análisis por LCMS mostró que quedaban trazas de material de partida y la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró. La torta de filtro se lavó con DCM (20 ml). Los filtrados combinados se concentraron al vacío a 20 °C para proporcionar 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-carbaldehído (410 mg) en forma de un aceite de color pardo, que se usó directamente. MS(M+H)$^+$ = 315,2.

Etapa 10. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 35)

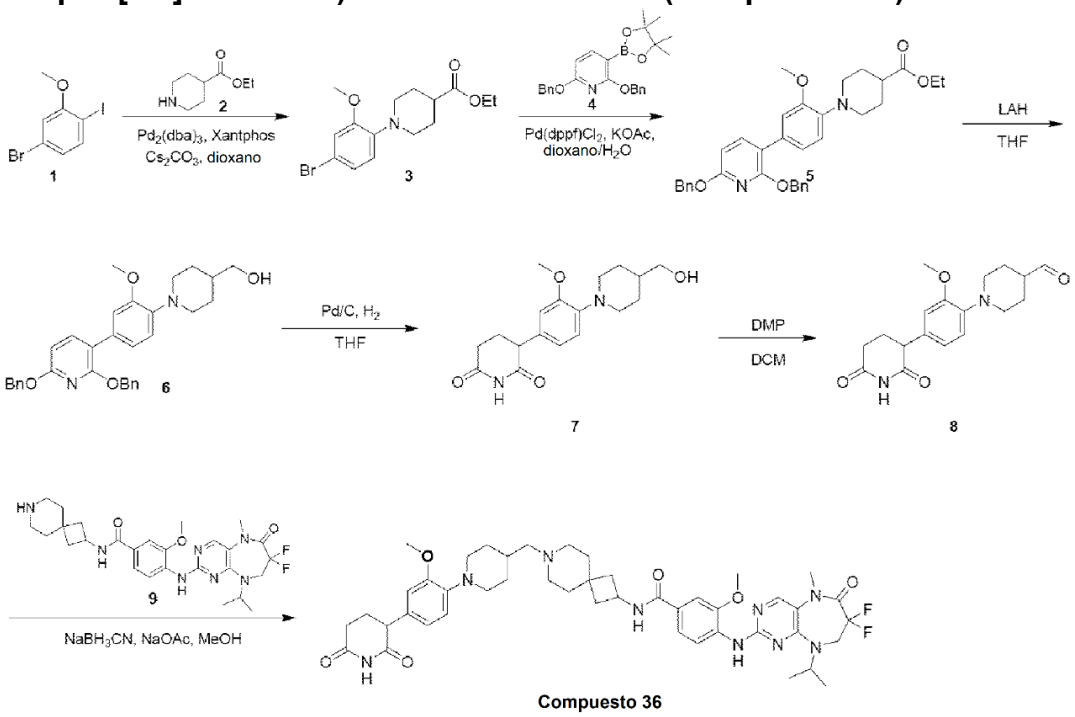
A la mezcla de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (302,60 mg, 521,67 µmol, sal HCl) y NaOAc (320,96 mg, 3,91 mmol) en MeOH (10 ml) se le añadió 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-carbaldehído (410 mg, 1,30 mmol), la mezcla se agitó a 15 °C durante 30 minutos, a continuación se añadió $NaBH_3CN$ (245,87 mg,

3,91 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 15 °C durante 16 horas. El análisis por LCMS mostró que el 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-carbaldehído se había consumido completamente y un pico (52 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se combinó con otro lote (escala de 200 mg), se diluyó con H_2O (50 ml) y a continuación se extrajo con EtOAc (50 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 13 %-43 %, 10 min), y dos lotes de los eluyentes se liofilizaron para proporcionar dos lotes del producto en bruto. Lote 1: El análisis por LCMS indicó que el producto en bruto 1, el producto en bruto 1 se purificó por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 m; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 52 %-82 %, 8 min) para proporcionar el eluyente 1. Lote 2: El análisis por LCMS indicó que el producto en bruto 2, el producto en bruto 2 se purificó por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 46 %-76 %, 8 min) para proporcionar el eluyente 2, dos lotes de los eluyentes se combinaron y se liofilizaron para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metilfenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (50,8 mg, 57,92 µmol, 4,44 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanquecino. MS$(M+H)^+$ = 842,1.

^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 8,47 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,04 (s, 1H), 8,01-7,91 (m, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,45 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 7,25 (d a, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,03-6,94 (m, 3H), 6,18 (d a, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,05-4,91 (m, 1H), 4,64-4,48 (m,

1H), 3,98 (s, 3H), 3,94-3,83 (m, 2H), 3,72 (dd, *J* = 5,3, 9,1 Hz, 1H), 3,41 (s, 3H), 3,11 (d a, *J* = 12,0 Hz, 2H), 2,77-2,69 (m, 1H), 2,67-2,56 (m, 3H), 2,48-2,31 (m, 5H), 2,30-2,25 (m, 5H), 2,25-2,16 (m, 3H), 1,83 (d a, *J* = 12,2 Hz, 2H), 1,71 (d a, *J* = 7,7 Hz, 4H), 1,67 (s a, 3H), 1,41-1,30 (m, 8H).

Ejemplo 36. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 36)



Etapa 1. Síntesis de 1-(4-bromo-2-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (3)

A una solución de 4-bromo-1-yodo-2-metoxibenceno (10 g, 31,96 mmol) y piperidin-4-carboxilato de etilo (5,02 g, 31,96 mmol, 4,93 ml) en dioxano (100 ml) se le añadieron $Pd_2(dba)_3$ (877,88 mg, 958,68 µmol) Xantphos (647,16 mg, 1,12 mmol) y Cs_2CO_3 (15,62 g, 47,93 mmol) a 20 °C en una atmósfera de N_2, y

la mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico (18 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~5 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 1-(4-bromo-2-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (3,1 g, 9,06 mmol, 28,35 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 342,1, 344,1

Etapa 2. Síntesis de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (5)

A una solución de 1-(4-bromo-2-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (3,1 g, 9,06 mmol) y 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (5,29 g, 12,68 mmol) en dioxano (60 ml) y H_2O (10 ml) se le añadieron KOAc (2,67 g, 27,17 mmol) y Pd(dppf) Cl_2 (331,40 mg, 452,92 µmol) a 20 °C en una atmósfera de N_2 y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 12 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que todo el material de partida se había consumido completamente y un pico (45 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (60 ml) y se extrajo con EtOAc (60 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~33 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (1,9 g, 3,44 mmol, 37,98 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 553,3

Etapa 3. Síntesis de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-il)metanol (6)

A una suspensión de LAH (260,97 mg, 6,88 mmol) en THF (20 ml) a 20 °C en una atmósfera de N_2 se le añadió gota a gota una solución de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (1,9 g, 3,44 mmol) en THF (10 ml) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por TLC (SiO_2, éter de petróleo: EtOAc = 2:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente y que se había formado una nueva mancha. La mezcla de reacción se diluyó con THF (50 ml). A continuación, la mezcla resultante se inactivó con H_2O (0,3 ml), NaOH (ac. al 15 %, 0,3 ml) y H_2O (0,9 ml) y se filtró. El filtrado se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para proporcionar (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-il)metanol (1,7 g, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo claro. $MS(M+H)^+$ = 511,6

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)-3-metoxifenil)piperidin-2,6-diona (7)

A una solución de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-il)metanol (1,7 g, 3,33 mmol) en THF (20 ml) se le añadió Pd/C (0,8 g, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con H_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con THF (60 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)-3-metoxifenil)piperidin-2,6-diona (1,2 g, en bruto) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 333,3

Etapa 5. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-

carbaldehído (8)

A una solución de 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)-3-metoxifenil)piperidin-2,6-diona (300 mg, 902,55 µmol) en DCM (10 ml) se le añadió DMP (574,21 mg, 1,35 mmol, 419,13 µl) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (77 %) con una masa de hidrato. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-carbaldehído (300 mg, en bruto) en forma de un aceite de color púrpura. MS(M+H)$^+$ = 349,2

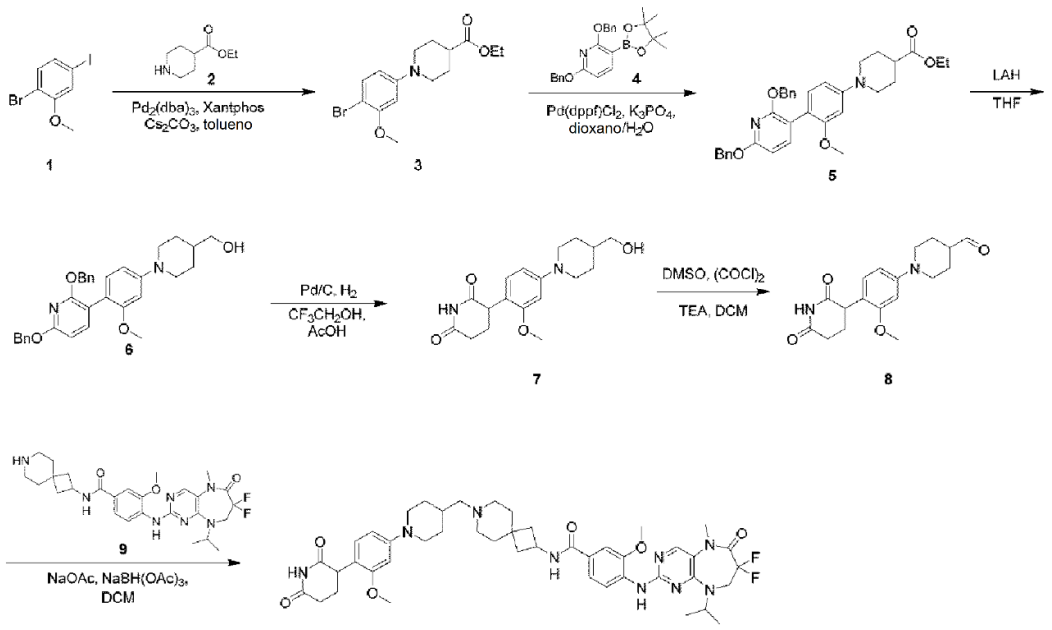
Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 36)

A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (379,25 mg, 653,80 µmol, sal HCl) en MeOH (10 ml) se le añadió NaOAc (201,13 mg, 2,45 mmol). A continuación, se añadió 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-carbaldehído (270 mg, 817,25 µmol) seguido de $NaBH_3CN$ (154,07 mg, 2,45 mmol) a 20 °C, y la mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-carbaldehído se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (15 ml) y se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice

SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a diclorometano al 0~20 %/metanol a 100 ml/min) seguido de HPLC prep. (columna: 3_Phenomenex Luna C18 75 * 30 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 16 %-36 %, 9 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar el producto puro B y el producto impuro C. El producto impuro C se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: 3_Phenomenex Luna C18 75 * 30 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 15 %-35 %, 9 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar el producto D. El producto B y el producto D se combinaron y se liofilizaron para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metoxifenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (24,1 mg, 23,31 µmol, 2,85 % de rendimiento, 94 % de pureza, TFA) en forma de un sólido de color blanquecino. MS(M+H)$^+$ = 858,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,82 (s, 1H), 9,04-8,91 (m, 1H), 8,51 (d a, *J* = 7,1 Hz, 1H), 8,29-8,14 (m, 2H), 7,55-7,47 (m, 2H), 7,10-6,97 (m, 1H), 6,91 (s a, 1H), 6,79 (d a, *J* = 7,8 Hz, 1H), 4,89 (td, *J* = 6,7, 13,4 Hz, 1H), 4,47-4,40 (m, 1H), 4,30-3,95 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,83-3,79 (m, 4H), 3,43 (d a, *J* = 7,6 Hz, 4H), 3,32 (s, 3H), 3,06 (s a, 2H), 3,01-2,92 (m, 1H), 2,90-2,77 (m, 2H), 2,65-2,61 (m, 1H), 2,44-2,34 (m, 2H), 2,31-2,11 (m, 3H), 2,06-1,94 (m, 4H), 1,91-1,75 (m, 6H), 1,56-1,40 (m, 2H), 1,24 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H).

Ejemplo 37. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 37)



Compuesto 37

Etapa 1. Síntesis de 1-(4-bromo-3-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (3)

A una solución de 1-bromo-4-yodo-2-metoxibenceno (3 g, 9,59 mmol) y piperidin-4-carboxilato de etilo (1,51 g, 9,59 mmol, 1,48 ml) en tolueno (50 ml) se le añadieron Cs_2CO_3 (9,37 g, 28,76 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (175,58 mg, 191,74 µmol) y Xantphos (166,41 mg, 287,60 µmol), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 14 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (93 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~30 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 1-(4-bromo-3-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (1,4 g, 4,09 mmol, 42,67 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 342,2

Etapa 2. Síntesis de 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-3-

metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (5)

A la solución de 1-(4-bromo-3-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (1,4 g, 4,09 mmol) y 2,6-bis(benciloxi)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (2,22 g, 5,32 mmol) en dioxano (50 ml) y H_2O (10 ml) se le añadieron K_3PO_4 (2,61 g, 12,27 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (299,33 mg, 409,08 µmol), y la mezcla resultante se agitó a 90 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (65 %) con la masa deseada, la mezcla se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~10 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (1,5 g, 2,71 mmol, 66,35 % de rendimiento, 100 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 553,3

Etapa 3. Síntesis de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-il) metanol (6)

A la suspensión de LAH (0,2 g, 5,27 mmol) en THF (30 ml) se le añadió 1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-carboxilato de etilo (1,5 g, 2,71 mmol) en THF (10 ml) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico (91 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (0,2 ml), una solución de NaOH (15 %, 0,2 ml) y H_2O (0,6 ml) a 0 °C, a continuación, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-il) metanol (1,3 g, 2,55 mmol, 93,80 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 511,3

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)-2-metoxifenil)piperidin-2,6-diona (7)

A una solución de (1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-il) metanol (500 mg, 979,20 µmol) en CF_3CH_2OH (10 ml) se le añadieron AcOH (58,80 mg, 979,20 µmol, 56,00 µl) y Pd/C (50 mg, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2, y la mezcla se agitó a 20-25 °C durante 12 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró un pico con la masa deseada. La suspensión se filtró a través de un lecho de Celite y la torta de filtro se lavó con CF_3CH_2OH (20 ml), los filtrados combinados se concentraron para proporcionar 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)-2-metoxifenil)piperidin-2,6-diona (0,4 g, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. MS$(M+H)^+$ = 333,2.

Etapa 5. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-carbaldehído (8)

A una solución de DMSO (47,01 mg, 601,70 µmol, 47,01 µl) en DCM (1 ml) se le añadió gota a gota una solución de $(COCl)_2$ (57,28 mg, 451,27 µmol, 39,50 µl) en DCM (1 ml) a -70 °C. La mezcla se agitó a 70 °C durante 10 min. A continuación, se añadió gota a gota una solución de 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)-2-metoxifenil)piperidin-2,6-diona (100 mg, 300,85 µmol) en DCM (2 ml) a -70 °C. La mezcla se agitó a -70 °C durante 20 min. A continuación, se añadió gota a gota TEA (152,21 mg, 1,50 mmol, 209,37 µl) a -70 °C. La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 10 min. El análisis por TLC (éter de petróleo/EtOAc = 1/1) mostró que la 3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)-2-metoxifenil)piperidin-2,6-diona se había consumido completamente y que se había formado una nueva mancha, la mezcla se filtró y

el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-carbaldehído (100 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo.

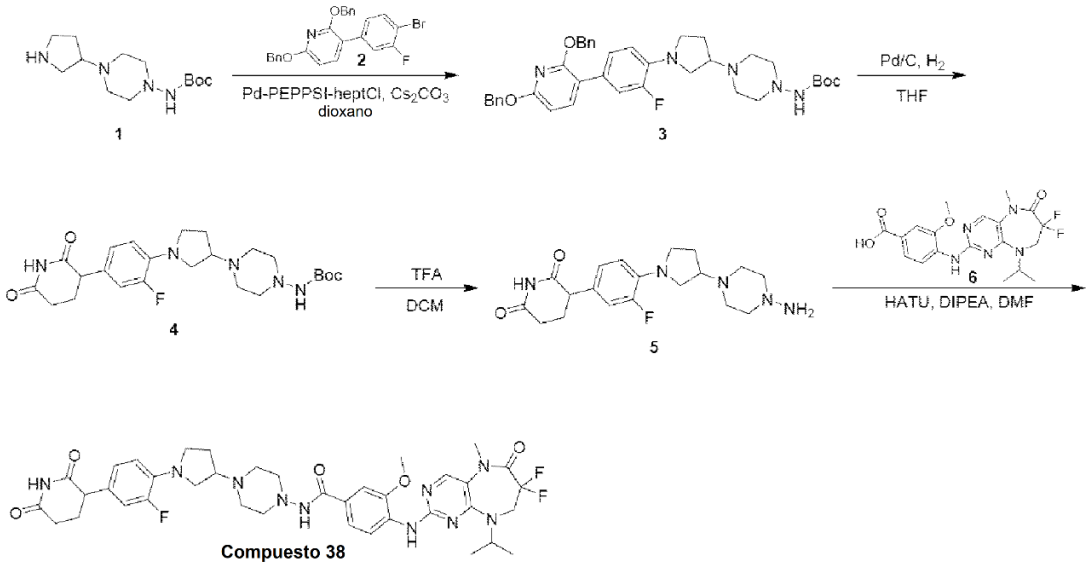
Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 37)

A la solución de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-carbaldehído (100 mg, 302,68 µmol) y 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (105,35 mg, 181,61 µmol, HCl) en DCM (3 ml) se le añadieron NaOAc (37,25 mg, 454,03 µmol) y $NaBH(OAc)_3$ (192,45 mg, 908,05 µmol), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (53 %) con la masa deseada, la mezcla se vertió en agua (20 ml), se extrajo con DCM (10 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 Ultra 150 * 50 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 13 %-43 %, 7 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metoxifenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (25,8 mg, 28,27 µmol, 9,34 % de rendimiento, 92 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 858,5.

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,68 (s, 1H), 8,43 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H),

8,34-8,29 (m, 1H), 8,24-8,20 (m, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,53-7,49 (m, 2H), 6,91 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,53 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,48-6,42 (m, 1H), 4,94-4,85 (m, 1H), 4,46-4,37 (m, 1H), 4,05 (t, *J* = 13,5 Hz, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,80-3,76 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,70-3,66 (m, 2H), 3,33-3,31 (m, 3H), 2,67-2,60 (m, 3H), 2,45-2,39 (m, 2H), 2,32-2,22 (m, 3H), 2,19-2,13 (m, 5H), 1,87-1,76 (m, 5H), 1,63-1,54 (m, 5H), 1,26-1,18 (m, 8H).

Ejemplo 38. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)piperazin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 38)



Etapa 1. Síntesis de (4-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)piperazin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (3)

A una solución de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (250 mg, 538,42 µmol) y (4-(pirrolidin-3-il)piperazin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (174,69 mg, 646,10 µmol) en dioxano (5 ml) se le añadieron Pd-PEPPSI-heptCl (26,19 mg, 26,92 µmol) y Cs_2CO_3 (526,28 mg, 1,62 mmol) a 20 °C en una

atmósfera de N_2, y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 12 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (32 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar (4-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)piperazin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (175 mg, 262,32 µmol, 48,72 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un aceite incoloro. MS(M+H)$^+$ = 654,3

Etapa 2. Síntesis de (4-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)piperazin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (4)

A una solución de (4-(1-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)piperazin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (175 mg, 267,67 µmol) en THF (8 ml) se le añadió Pd/C (50 mg, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con H_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (62 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con THF (10 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar (4-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)piperazin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (56 mg, 117,76 µmol, 43,99 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 476,2

Etapa 3. Síntesis de 3-(4-(3-(4-aminopiperazin-1-il)pirrolidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (5)

A una solución de (4-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)pirrolidin-

3-il)piperazin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (56 mg, 117,76 µmol) en DCM (1 ml) se le añadió TFA (67,14 mg, 588,79 µmol, 43,59 µl) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 20 min. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (75 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar 3-(4-(3-(4-aminopiperazin-1-il)pirrolidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (60 mg, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 376,2

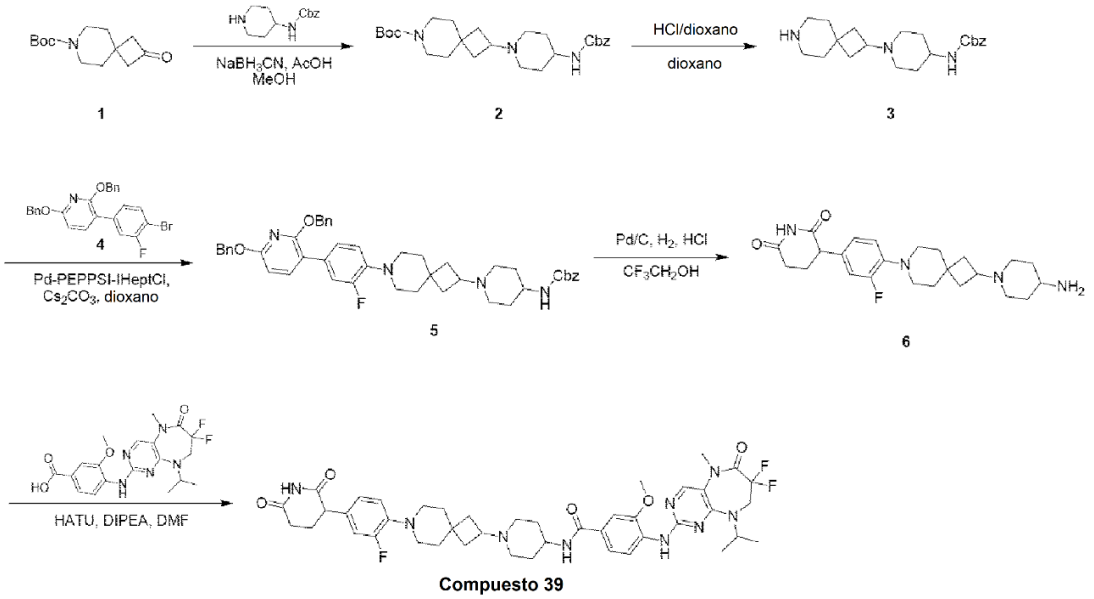
Etapa 4. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)piperazin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 38)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (50 mg, 118,65 µmol) en DMF (1 ml) se le añadieron HATU (49,63 mg, 130,52 µmol) y DIPEA (30,67 mg, 237,31 µmol, 41,33 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 10 min y se añadió una solución de 3-(4-(3-(4-aminopiperazin-1-il)pirrolidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (58,08 mg, 118,65 µmol, sal TFA) en DMF (1 ml) con DIPEA (46,01 mg, 355,96 µmol, 62,00 µl), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (80 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (12 ml) y se extrajo con EtOAc (12 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 * 25 mm * 4 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 27 %-47 %, 7 min) y el

eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)piperazin-1-il)-3-metoxibenzamida (56,3 mg, 52,00 µmol, 43,83 % de rendimiento, 93 % de pureza, 2TFA) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 779,4

^{1}H RMN (400 MHz, CD_3CN) δ = 9,58 (s a, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,27 (s a, 1H), 8,07 (d a, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,47-7,36 (m, 2H), 6,98-6,89 (m, 2H), 6,80-6,72 (m, 1H), 4,96 (td, *J* = 6,7, 13,3 Hz, 1H), 4,00 (t a, *J* = 12,3 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,91-3,85 (m, 1H), 3,79 (d a, *J* = 10,1 Hz, 1H), 3,70 (dd, *J* = 5,5, 11,1 Hz, 1H), 3,66-3,59 (m, 2H), 3,54 (s a, 2H), 3,42-3,15 (m, 10H), 2,69-2,54 (m, 2H), 2,46-2,27 (m, 2H), 2,24-2,09 (m, 2H), 1,23 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H).

Ejemplo 39. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(7-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 39)



Compuesto 39

Etapa 1. Síntesis de 2-(4-(((benciloxi)carbonil)amino)piperidin-1-il)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (2)

A una solución de 2-oxo-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (600 mg, 2,51 mmol) y piperidin-4-ilcarbamato de bencilo (587,42 mg, 2,51 mmol) en MeOH (8 ml) se le añadió AcOH (150,56 mg, 2,51 mmol, 143,39 µl) a 0 °C. A continuación, se añadió lentamente $NaBH_3CN$ (472,67 mg, 7,52 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (80 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 25 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (HCl)-ACN]; % de B: 22 %-52 %, 10 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 2-(4-(((benciloxi)carbonil)amino)piperidin-1-il)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (560 mg, 1,13 mmol, 45,21 % de rendimiento, 100 % de pureza, sal HCl) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 458,3

Etapa 2. Síntesis de (1-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-4-il)carbamato de bencilo (3)

A una solución de 2-(4-(((benciloxi)carbonil)amino)piperidin-1-il)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (160 mg, 349,65 µmol) en dioxano (6 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 4,00 ml). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar (1-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-4-

il)carbamato de bencilo (137 mg, en bruto, sal HCl) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS(M+H)$^+$ = 358,2

Etapa 3. Síntesis de (1-(7-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-4-il)carbamato de bencilo (5)

Una mezcla de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (180 mg, 387,66 µmol), (1-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-4-il)carbamato de bencilo (137 mg, 383,23 µmol, sal HCl), Pd-PEPPSI-IHeptCl (22,50 mg, 23,13 µmol,) y Cs_2CO_3 (675,00 mg, 2,07 mmol) en dioxano (8 ml) se desgasificó y se purgó con N_2 3 veces, a continuación la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (27 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de metanol al 0~25 %:diclorometano, 60 ml/min) para proporcionar (1-(7-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-4-il)carbamato de bencilo (200 mg, 269,94 µmol, 69,63 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 741,3

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 7,81 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,50-7,36 (m, 17H), 7,29 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,12-7,03 (m, 1H), 6,59 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 5,47 (s, 2H), 5,42 (s, 2H), 5,06 (s, 2H), 3,67-3,63 (m, 1H), 3,04-2,92 (m, 4H), 2,80-2,74 (m, 1H), 2,05-1,97 (m, 2H), 1,80-1,71 (m, 6H), 1,67-1,62 (m, 2H), 1,61-1,54 (m, 2H), 1,42 (s, 4H).

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(2-(4-aminopiperidin-1-il)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (6)

A una solución de (1-(7-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-7-

azaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-4-il)carbamato de bencilo (70 mg, 94,48 µmol) en CF_3CH_2OH (5 ml) se le añadieron HCl (1 M, 105,00 µl) y Pd/C (30 mg, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2, la suspensión se desgasificó y se purgó con H_2 3 times. A continuación, la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró que el reactivo se había consumido completamente y un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(4-(2-(4-aminopiperidin-1-il)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (43 mg, en bruto, sal HCl) en forma de un aceite de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 429,2

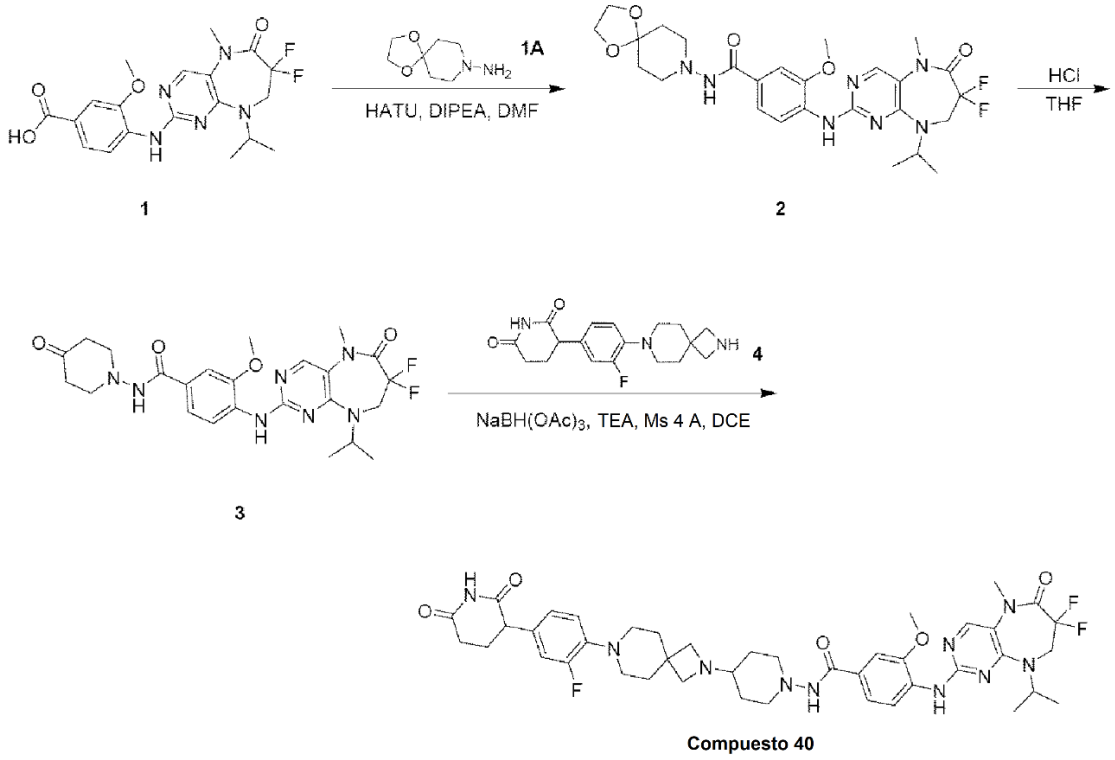
Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(7-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 39)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (40 mg, 94,92 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (65 mg, 170,95 µmol), DIPEA (74,20 mg, 574,11 µmol, 100 µl) y 3-(4-(2-(4-aminopiperidin-1-il)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (43 mg, 92,47 µmol, sal HCl) a 20 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico (69 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (10 ml) y a continuación se extrajo con EtOAc (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se combinó con otro lote (escala de 45 mg) para su purificación. El residuo

combinado se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de metanol al 0~25 %:diclorometano, 60 ml/min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 12 %-42 %, 7 min; Temp. de la columna: 30 °C), el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(7-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (52,0 mg, 59,03 µmol, 62,18 % de rendimiento, 96 % de pureza, 0,3FA) en forma de un sólido de color blanco. MS $(M+H)^+$ = 832,1

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,81 (s, 1H), 8,31 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,14-8,07 (m, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,57-7,38 (m, 2H), 7,08-6,81 (m, 3H), 4,96-4,79 (m, 1H), 4,04 (t, *J* = 13,5 Hz, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,83-3,73 (m, 2H), 3,33 (s, 3H), 2,98-2,90 (m, 2H), 2,89-2,76 (m, 4H), 2,76-2,69 (m, 1H), 2,67-2,57 (m, 1H), 2,54-2,52 (m, 1H), 2,24-2,13 (m, 1H), 2,04-1,91 (m, 3H), 1,90-1,74 (m, 4H), 1,73-1,66 (m, 2H), 1,65-1,42 (m, 6H), 1,25 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H).

Ejemplo 40. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(7-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 40)



Etapa 1. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(1,4-dioxa-8-azaespiro[4.5]decan-8-il)benzamida (2)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (5,33 g, 12,64 mmol) en DMF (15 ml) se le añadieron HATU (5,29 g, 13,91 mmol) y DIPEA (4,90 g, 37,93 mmol, 6,61 ml). La mezcla se agitó a 20 °C durante 10 min y se añadió una solución de 1,4-dioxa-8-azaespiro[4.5]decan-8-amina (2 g, 12,64 mmol) en DMF (15 ml), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 0,5 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un 72 % del pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (100 ml) y se extrajo con EtOAc (100 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró.

El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(1,4-dioxa-8-azaespiro[4.5]decan-8-il)benzamida (3,6 g, 6,28 mmol, 49,69 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS(M+H)$^+$ = 562,3

Etapa 2. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(4-oxopiperidin-1-il)benzamida (3)

Dos lotes: A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(1,4-dioxa-8-azaespiro[4.5]decan-8-il)benzamida (200 mg, 356,14 µmol) en THF (2 ml) se le añadió HCl (2 M, 890,35 µl) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 16 h. Lote 1, El análisis por LCMS mostró que quedaba un 31 % del material de partida y se detectó un pico al 61 % con la masa deseada. Lote 2, El análisis por LCMS mostró que quedaba un 16 % del material de partida y se detectó un pico al 80 % con la masa deseada. Se combinaron dos lotes y se diluyeron con Na_2CO_3 saturado (15 ml) a esta mezcla de reacción a 20 °C para ajustar el pH = 8 y se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(4-oxopiperidin-1-il)benzamida (348 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 518,3

Etapa 3. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-

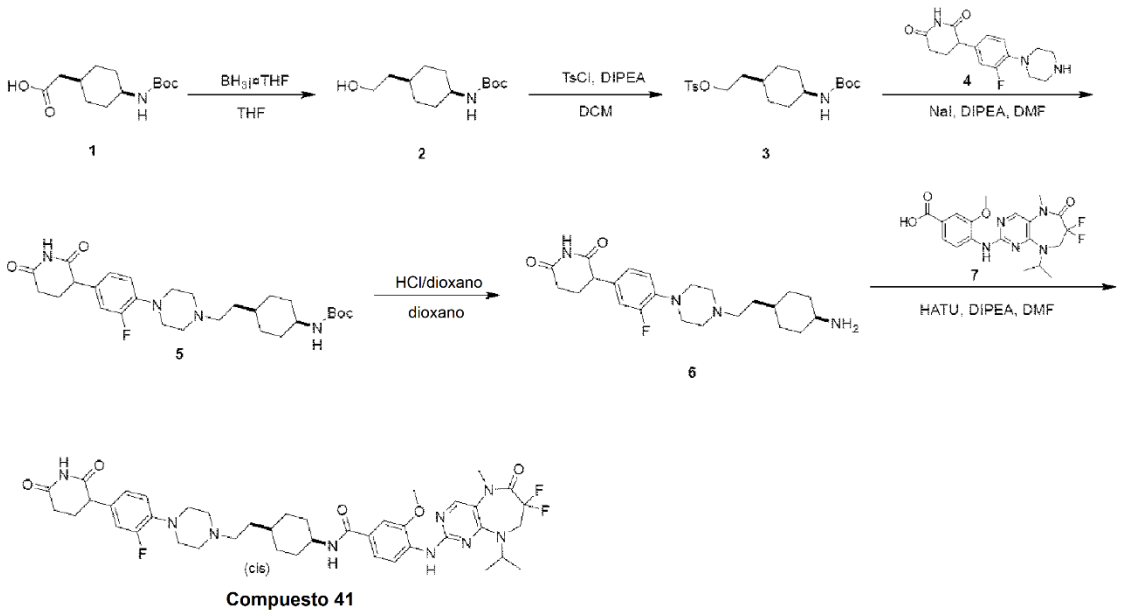
tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(7-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 40)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)fenil)piperidin-2,6-diona (321,55 mg, 874,16 µmol, HCl) en DCE (10 ml) se le añadieron MS 4 A (700 mg), TEA (680,42 mg, 6,72 mmol, 935,93 µl) y 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(4-oxopiperidin-1-il)benzamida (348 mg, 672,43 µmol). A continuación, se añadió lentamente $NaBH(OAc)_3$ (427,55 mg, 2,02 mmol) a 20 °C y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que todo el material de partida se había consumido completamente y un 39 % del pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 * 25 mm * 4 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 27 %-47 %, 7 min) seguido de liofilización para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(7-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (276,8 mg, 245,24 µmol, 36,47 % de rendimiento, 94 % de pureza, 2TFA) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 833,4

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,81 (s, 1H), 10,13-10,01 (m, 1H), 9,53 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 8,26-8,18 (m, 1H), 7,48-7,41 (m, 2H), 7,08-6,91 (m, 3H), 4,91-4,88 (m, 1H), 4,10 (t, *J* = 13,3 Hz, 2H), 4,06-3,95 (m, 4H), 3,93 (s, 3H), 3,84-3,77 (m, 1H), 3,36-3,23 (m, 4H), 3,10 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 3,01 (s, 2H), 2,93-2,80 (m, 4H), 2,70-2,60 (m, 1H), 2,48-2,41 (m, 2H), 2,25-2,13 (m, 1H), 2,04-1,95 (m,

4H), 1,91 (s, 2H), 1,57-1,42 (m, 2H), 1,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H)

Ejemplo 41. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1s,4s)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (cis) (Compuesto 41)



Compuesto 41

Etapa 1. Síntesis de ((1s,4s)-4-(2-hidroxietil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (2)

A una solución de ácido 2-((1s,4s)-4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)ciclohexil)acético (cis) (0,5 g, 1,94 mmol) en THF (10 ml) se le añadió BH_3.THF (1 M, 5 ml) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 1:1) mostró que el material de partida se había consumido y que se había formado una nueva mancha. La mezcla se inactivó con agua (20 ml) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar ((1s,4s)-4-

(2-hidroxietil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (480 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 244,4

Etapa 2. Síntesis de 4-metilbencenosulfonato de 2-((1s,4s)-4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)ciclohexil)etilo (cis) (3)

A una solución de ((1s,4s)-4-(2-hidroxietil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (480 mg, 1,97 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron DIPEA (764,81 mg, 5,92 mmol, 1,03 ml) y TosCl (451,27 mg, 2,37 mmol), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un pico (48 %) con la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml). La capa orgánica se lavó con agua (10 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 5 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 7~22 %/éter de petróleo a 50 ml/min) para proporcionar 4-metilbencenosulfonato de 2-((1s,4s)-4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)ciclohexil)etilo (cis) (480 mg, 1,17 mmol, 59,38 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M-100+H)$^+$ = 298,1

Etapa 3. Síntesis de ((1s,4s)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (5)

A una solución de 4-metilbencenosulfonato (cis) de 2-((1s,4s)-4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)ciclohexil)etilo (480 mg, 1,21 mmol) y 3-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (0,3 g, 1,03 mmol) en DMF (6 ml) se le añadieron DIPEA (400,68 mg, 3,10 mmol, 540 µl) y NaI (15,44 mg, 103,00 µmol), y la mezcla se agitó a 60 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un pico (53 %) con la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo

con EtOAc (10 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 5 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 70~90 %/éter de petróleo a 50 ml/min) para proporcionar ((1s,4s)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (0,2 g, 329,05 µmol, 31,95 % de rendimiento, 85 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 517,5

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(4-(2-((1s,4s)-4-aminociclohexil)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (cis) (6)

A una solución de ((1s,4s)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (cis) (0,15 g, 246,78 µmol, 85 % de pureza) en dioxano (2 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 5 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido y la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(4-(4-(2-((1s,4s)-4-aminociclohexil)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (cis) (110 mg, en bruto, sal HCl) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 417,5

Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1s,4s)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (cis) (Compuesto 41)

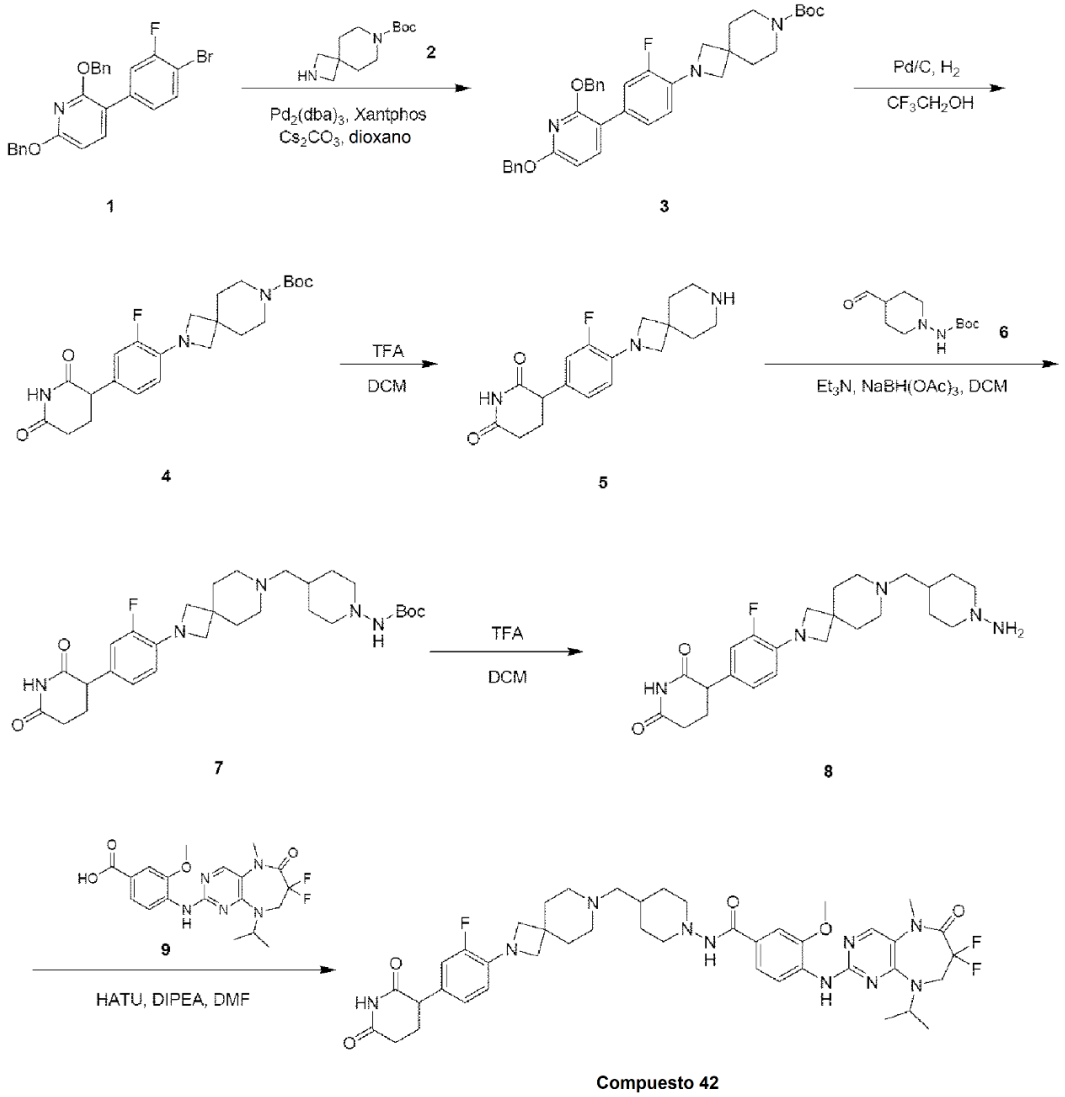
A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (90 mg, 213,58 µmol) y HATU (97,45 mg, 256,29 µmol) en DMF (1,5 ml) se le añadió

DIPEA (44,52 mg, 344,47 µmol, 60 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 15 min. A continuación, se añadió una solución de 3-(4-(4-(2-((1s,4s)-4-aminociclohexil)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (cis) (110 mg, 242,83 µmol, sal HCl) y DIPEA (89,04 mg, 688,93 µmol, 120 µl) en DMF (1,5 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico (64 %) con la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 * 25 mm * 4 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 32 %-52 %, 7 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1s,4s)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (cis) (54,8 mg, 48,11 µmol, 22,53 % de rendimiento, 92 % de pureza, sal 2TFA) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 820,1

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,83 (s, 1H), 9,47-9,45 (m, 1H), 8,27-8,14 (m, 3H), 8,02-7,94 (m, 1H), 7,53-7,47 (m, 2H), 7,13-7,00 (m, 3H), 4,93-4,85 (m, 1H), 4,12-4,01 (m, 3H), 3,94 (s, 3H), 3,86-3,82 (m, 1H), 3,62-3,58 (m, 2H), 3,55-3,49 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 3,27-3,15 (m, 4H), 3,07-2,99 (m, 2H), 2,68-2,61 (m, 2H), 2,26-2,15 (m, 1H), 2,03-1,95 (m, 1H), 1,76-1,47 (m, 11H), 1,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H).

Ejemplo 42. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-

il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 42)



Etapa 1. Síntesis de 2-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (3)

A una solución de 2,6-bis(benciloxi)-3-(4-bromo-3-fluorofenil)piridina (1,5 g, 3,23 mmol) y 2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo; clorhidrato (848,89 mg, 3,23 mmol) en dioxano (20 ml) se le añadieron $Pd_2(dba)_3$ (295,82 mg, 323,05 µmol), Xantphos (373,84 mg, 646,10 µmol) y Cs_2CO_3 (3,16 g, 9,69 mmol) a 20 °C en una atmósfera de N_2. La mezcla se agitó a 100 °C

durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (28 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en agua (50 ml), se extrajo con EtOAc (50 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~20 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 2-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,7 g, 1,15 mmol, 35,54 % de rendimiento, 100 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS$(M+H)^+$ = 610,4

Etapa 2. Síntesis de 2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (4)

A una solución de 2-(4-(2,6-bis(benciloxi)piridin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro [3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,7 g, 1,15 mmol) en CF_3CH_2OH (20 ml) se le añadió Pd/C (100 mg, 1,15 mmol, 10 % de pureza) en una atmósfera de N_2, la suspensión se desgasificó y se purgó con H_2 3 veces, la mezcla se agitó en una atmósfera de H_2 (15 psi) a 20-25 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico con la masa deseada. La suspensión se filtró a través de un lecho de Celite y la torta de filtro se lavó con CF_3CH_2OH (50 ml), y los filtrados combinados se concentraron a sequedad para proporcionar 2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (450 mg, 1,01 mmol, 88,11 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS$(M\text{-Boc}+H)^+$ = 332,2

^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 7,83 (s, 1H), 6,79-6,70 (m, 2H), 6,36 (t, *J* = 8,9 Hz, 1H), 3,69-3,58 (m, 4H), 3,62-3,56 (m, 1H), 3,34-3,30 (m, 4H), 2,71-2,54 (m, 2H), 2,23-2,08 (m, 2H), 1,72-1,67 (m, 4H), 1,39 (s, 9H)

Etapa 3. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-(2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)fenil)piperidin-2,6-diona (5)

A la solución de 2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro [3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (250 mg, 579,38 µmol) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (1,54 g, 13,51 mmol, 1 ml), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado un 87 % de la masa deseada. La mezcla se concentró a sequedad para proporcionar 3-(3-fluoro-4-(2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)fenil)piperidin-2,6-diona (250 mg, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 332,2

Etapa 4. Síntesis de (4-((2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (7)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)fenil)piperidin-2,6-diona (200 mg, en bruto, TFA) en DCM (10 ml) se le añadieron (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (200 mg, 876,09 µmol) y Et_3N (90,87 mg, 898,06 µmol, 125,00 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h, a continuación a la mezcla se le añadió $NaBH(OAc)_3$ (285,50 mg, 1,35 mmol) a 20 °C, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 15 h. El análisis por LCMS mostró un pico (52 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en agua (50 ml), se extrajo con DCM (50 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de MeOH al 0~10 %/EtOAc a 80 ml/min) para proporcionar (4-((2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (0,1 g, 183,93 µmol, 40,96 % de rendimiento, pureza N/D) en forma de un aceite de

color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 544,1.

Etapa 5. Síntesis de 3-(4-(7-((1-aminopiperidin-4-il)metil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (8)

A la solución de (4-((2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro [3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (0,1 g, 183,93 µmol) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (770,00 mg, 6,75 mmol, 0,5 ml), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (62 %) con la masa deseada, la mezcla se concentró para proporcionar 3-(4-(7-((1-aminopiperidin-4-il)metil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (0,1 g, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 444,3.

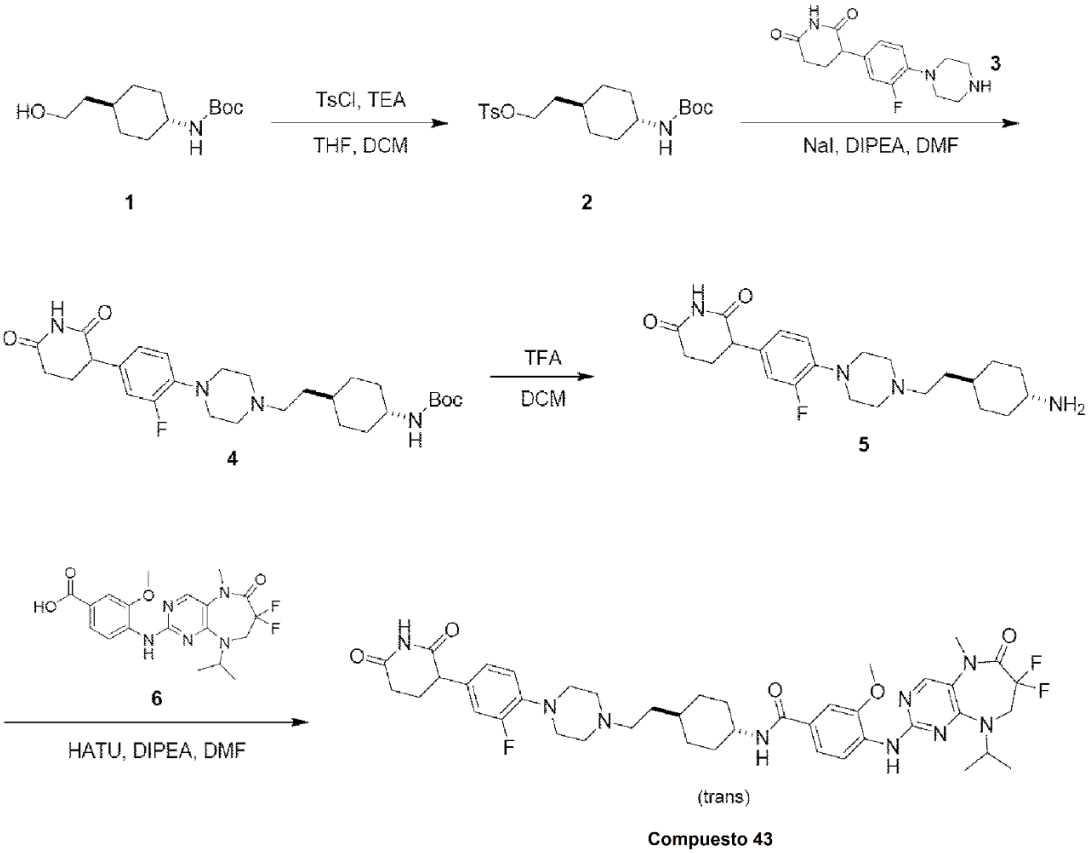
Etapa 6. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 42)

A la solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (75,58 mg, 179,35 µmol, 1 equiv.) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (75,01 mg, 197,28 µmol) y DIPEA (92,72 mg, 717,39 µmol, 124,96 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h, se añadió 3-(4-(7-((1-aminopiperidin-4-il)metil)-2,7-diazaespiro [3.5]nonan-2-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (0,1 g, en bruto, TFA), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 0,5 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada, la mezcla se vertió en agua (20 ml), se extrajo con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El

residuo se purificó por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 * 50 mm * 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 38 %-68 %, 10 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido [4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((2-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (19 mg, 20,64 µmol, 11,51 % de rendimiento, 92 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS$(M+H)^+$ = 847,4.

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,78 (s, 1H), 9,27 (s, 1H), 8,30 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,47-7,42 (m, 2H), 6,93 (dd, *J* = 1,6, 13,9 Hz, 1H), 6,86 (dd, *J* = 1,7, 8,1 Hz, 1H), 6,55-6,45 (m, 1H), 4,94-4,83 (m, 1H), 4,04 (t, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,77-3,71 (m, 1H), 3,65-3,60 (m, 4H), 3,31-3,30 (m, 7H), 3,05-2,99 (m, 2H), 2,80-2,71 (m, 2H), 2,65-2,58 (m, 1H), 2,47-2,44 (m, 2H), 2,36-2,31 (m, 2H), 2,19-2,11 (m, 3H), 2,03-1,93 (m, 2H), 1,80-1,70 (m, 4H), 1,56-1,47 (m, 1H), 1,25 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H).

Ejemplo 43. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (trans) (Compuesto 43)



Compuesto 43

Etapa 1. Síntesis de 4-metilbencenosulfonato de 2-((1r,4r)-4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)ciclohexil)etilo (trans) (2)

A una solución de ((1r,4r)-4-(2-hidroxietil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (200 mg, 821,89 µmol) en THF (2 ml) se le añadieron TEA (249,50 mg, 2,47 mmol, 343,19 µl) y una solución de TosCl (235,04 mg, 1,23 mmol) en DCM (2 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 horas. El análisis por TLC (éter de petróleo:EtOAc = 2:1, Fr = 0,72) indicó que quedaba un 15 % de ((1r,4r)-4-(2-hidroxietil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo y una nueva mancha principal con menor polaridad. La mezcla de reacción se inactivó con agua (20 ml) a 0 °C y a continuación se extrajo con EtOAc (30 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se

filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~30 %/éter de petróleo a 50 ml/min) para dar 4-metilbencenosulfonato de 2-((1r,4r)-4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)ciclohexil)etilo (280 mg, 704,35 µmol, 85,70 % de rendimiento) en forma de un aceite incoloro. MS(M+H)$^+$ = 358,5

Etapa 2. Síntesis de ((1r,4r)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (trans) (4)

A una solución de 4-metilbencenosulfonato de 2-((1r,4r)-4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)ciclohexil)etilo (170 mg, 427,64 µmol) y 3-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (124,58 mg, 427,64 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron DIPEA (110,54 mg, 855,29 µmol, 148,98 µl) y NaI (32,05 mg, 213,82 µmol). La mezcla se agitó a 60 °C durante 16 h. El análisis por LC-MS mostró que quedaba un 32 % de 3-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona, se mostraron varios picos nuevos por LC-MS y se detectó un 34 % del compuesto deseado. La mezcla de reacción se inactivó con agua (20 ml) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (50 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 50 ml/min) para dar ((1r,4r)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (60 mg, 91,75 µmol, 21,45 % de rendimiento, 79 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 517,3

Etapa 3. Síntesis de 3-(4-(4-(2-((1r,4r)-4-aminociclohexil)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (trans) (5)

A una solución de ((1r,4r)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (60 mg, 91,75 µmol, 79 % de pureza) en DCM (1 ml) se le añadió TFA (364,98 mg, 3,20 mmol, 237,00 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. El análisis por LC-MS mostró que el ((1r,4r)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo se había consumido completamente y un pico (70 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente para dar 3-(4-(4-(2-((1r,4r)-4-aminociclohexil)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (48 mg, 90,47 µmol, 98,61 % de rendimiento, TFA) en forma de un aceite de color amarillo, y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. $MS(M+H)^+$ = 417,1

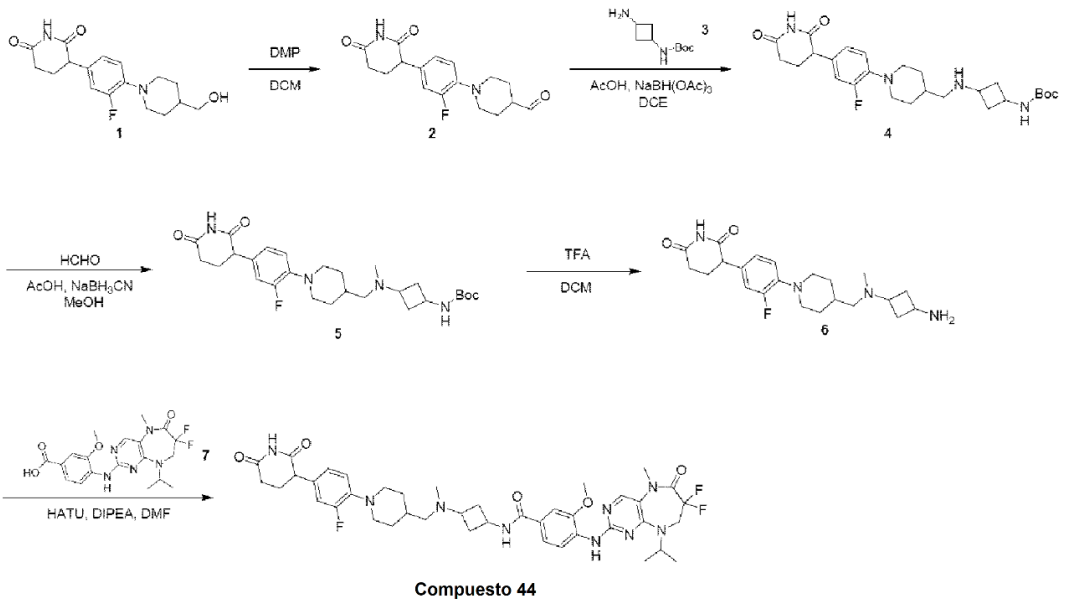
Etapa 4. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (trans) (Compuesto 43)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (34,31 mg, 81,42 µmol) en DMF (1 ml) se le añadieron HATU (51,60 mg, 135,71 µmol) y DIPEA (35,08 mg, 271,41 µmol, 47,28 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora, a continuación se añadió 3-(4-(4-(2-((1r,4r)-4-aminociclohexil)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (48 mg, 90,47 µmol, TFA), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 horas. El análisis por

LC-MS mostró que la 3-(4-(4-(2-((1r,4r)-4-aminociclohexil)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona se había consumido completamente y un pico (34 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó con agua (20 ml) a 25 °C y se extrajo con EtOAc (50 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 * 25 mm * 4 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 30 %- 50 %, 10 min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 * 25 mm * 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 45 %-75 %, 8 min) y seguido de liofilización para dar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (20 mg, 23,90 µmol, 26,42 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 820,3

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,80 (s, 1H), 8,30 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,04 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,55-7,45 (m, 2H), 7,07-6,91 (m, 3H), 4,90-4,84 (m, 1H), 4,03 (t, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,84-3,71 (m, 2H), 3,36 (s, 3H), 3,30 (s, 3H), 3,07-2,93 (m, 4H), 2,72-2,58 (m, 2H), 2,47-2,46 (m, 1H), 2,39-2,30 (m, 3H), 2,25-2,13 (m, 1H), 2,05-1,94 (m, 1H), 1,90-1,74 (m, 4H), 1,43-1,29 (m, 4H), 1,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H), 1,11-0,98 (m, 2H).

Ejemplo 44. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclobutil)-3-metoxibenzamida (Compuesto 44)



Compuesto 44

Etapa 1. Síntesis de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (2)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (210 mg, 655,52 µmol) en DCM (2 ml) se le añadió DMP (361,44 mg, 852,17 µmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 3 h. El análisis por LC-MS mostró que la 3-(3-fluoro-4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para dar 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (208 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo, y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS(M+H)$^+$ = 319,0

Etapa 2. Síntesis de (3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)amino)ciclobutil)carbamato de *terc*-butilo (4)

A una solución de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (208 mg, 653,39 µmol) y (3-aminociclobutil)carbamato de *terc*-

butilo (121,69 mg, 653,39 µmol) en DCE (4 ml) se le añadió HOAc (39,24 mg, 653,39 µmol, 37,37 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. A continuación, se añadió $NaBH(OAc)_3$ (692,40 mg, 3,27 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 horas. El análisis por LC-MS mostró que 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído se había consumido completamente y un pico (36 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó con agua (30 ml) a 0 °C y a continuación se extrajo con EtOAc (40 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a EtOAc/MeOH = 10:1 a 50 ml/min) para dar (3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)amino)ciclobutil)carbamato de *terc*-butilo (200 mg, 409,34 µmol, 62,65 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 489,1

Etapa 3. Síntesis de (3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclobutil)carbamato de *terc*-butilo (5)

A una solución de (3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)amino)ciclobutil)carbamato de *terc*-butilo (150 mg, 307,00 µmol) y HCHO (124,57 mg, 1,54 mmol, 114,28 µl, 37 % de pureza) en MeOH (2 ml) se le añadió HOAc (18,44 mg, 307,00 µmol, 17,56 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora, y a continuación se añadió $NaBH_3CN$ (57,88 mg, 921,01 µmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 horas más. El análisis por LC-MS mostró que (3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-

il)metil)amino)ciclobutil)carbamato de *terc*-butilo se había consumido completamente y un pico (47 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de $NaHCO_3$ acuoso saturado (20 ml) a 0 °C y a continuación se extrajo con EtOAc (40 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar (3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclobutil)carbamato de *terc*-butilo (150 mg, 220,84 µmol, 71,93 % de rendimiento, 74 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo, y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. $MS(M+H)^+$ = 503,5

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(4-(((3-aminociclobutil)(metil)amino)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (6)

A una solución de (3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclobutil)carbamato de *terc*-butilo (150 mg, 220,84 µmol, 74 % de pureza) en DCM (1 ml) se le añadió TFA (1,07 g, 9,37 mmol, 693,75 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. El análisis por LC-MS mostró que (3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclobutil)carbamato de *terc*-butilo se había consumido completamente y un pico (94 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente para dar 3-(4-(4-(((3-aminociclobutil)(metil)amino)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (100 mg, 193,60 µmol, 87,66 % de rendimiento, TFA) en forma de un aceite de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 403,2

Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-

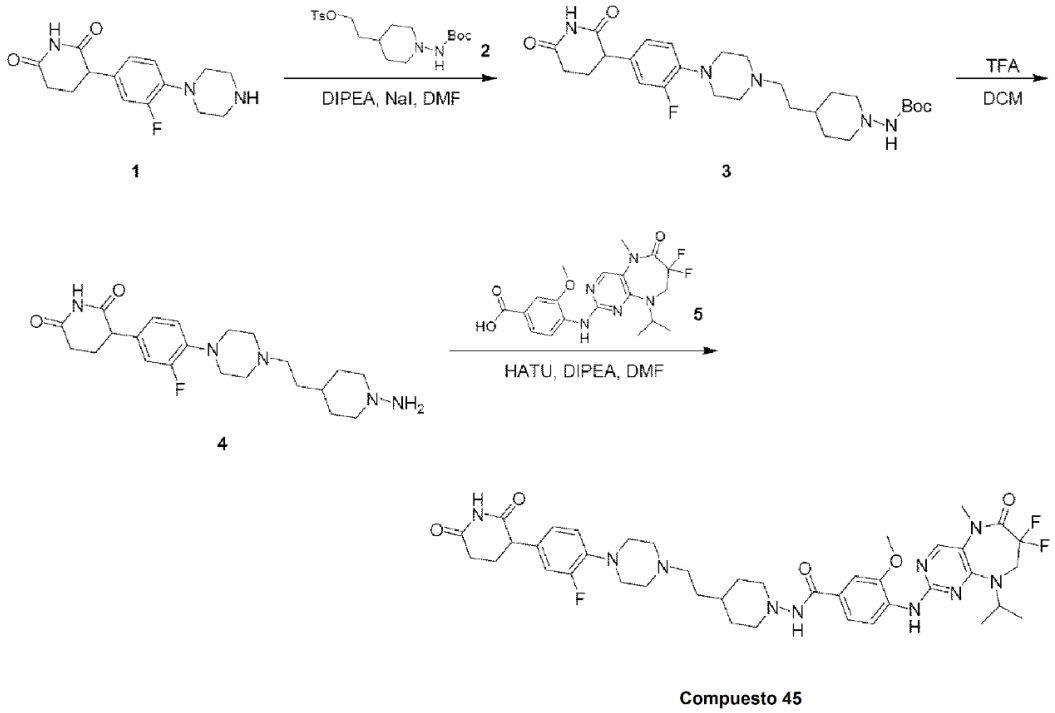
tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclobutil)-3-metoxibenzamida (Compuesto 44)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (73,42 mg, 174,24 µmol) en DMF (1 ml) se le añadieron HATU (110,42 mg, 290,40 µmol) y DIPEA (125,11 mg, 968,00 µmol, 168,61 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. A continuación, se añadió 3-(4-(4-(((3-aminociclobutil)(metil)amino)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (100 mg, 193,60 µmol, TFA), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 horas. El análisis por LC-MS mostró que el 3-(4-(4-(((3-aminociclobutil)(metil)amino)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona se había consumido completamente y se detectó un pico (32 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó mediante $NaHCO_3$ acuoso saturado (20 ml) a 0 °C y a continuación se extrajo con EtOAc (40 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: 3_Phenomenex Luna C18 75 * 30 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 19 %-39 %, 9 min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 * 25 mm * 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 41 %-71 %, 8 min) y seguido de liofilización para dar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(3-(((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)(metil)amino)ciclobutil)-3-metoxibenzamida (35 mg, 42,13 µmol, 21,76 % de rendimiento, 97 % de pureza)

en forma de un sólido de color blanco. MS $(M+H)^+$ = 806,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,80 (s, 1H), 8,55-8,41 (m, 1H), 8,35-8,27 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,93-7,81 (m, 1H), 7,59-7,46 (m, 2H), 7,05-6,91 (m, 3H), 4,95-4,81 (m, 1H), 4,40-4,26 (m, 1H), 4,13-3,97 (m, 2H), 3,96-3,89 (m, 3H), 3,81-3,77 (m, 1H), 3,33-3,32 (m, 2H), 3,29-3,28(m, 6H), 2,98-2,91 (m, 1H), 2,65-2,59 (m, 2H), 2,41-2,39 (m, 1H), 2,22-2,12 (m, 4H), 2,10-2,07 (m, 3H), 2,05-1,95 (m, 2H), 1,86-1,79 (m, 2H), 1,63-1,51 (m, 1H), 1,33-1,19 (m, 8H).

Ejemplo 45. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 45)



Etapa 1. Síntesis de (4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (3)

A una solución de 3-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona

(100 mg, 343,27 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron 4-metilbencenosulfonato de 2-(1-((*terc*-butoxicarbonil)amino)piperidin-4-il)etilo (136,80 mg, 343,27 µmol), DIPEA (133,09 mg, 1,03 mmol, 179,37 µl) y NaI (5,15 mg, 34,33 µmol), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 34 h. El análisis por LCMS mostró un pico (49 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (8 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 20~100 %/éter de petróleo a metanol al 10 %/EtOAc a 80 ml/min) para proporcionar (4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (150 mg, 289,78 µmol, 84,42 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 518,4.

Etapa 2. Síntesis de 3-(4-(4-(2-(1-aminopiperidin-4-il)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (4)

A una solución de (4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (150 mg, 289,78 µmol) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (770,00 mg, 6,75 mmol, 500,00 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar 3-(4-(4-(2-(1-aminopiperidin-4-il)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (120 mg, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color pardo. MS$(M+H)^+$ = 418,2.

Etapa 3. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-

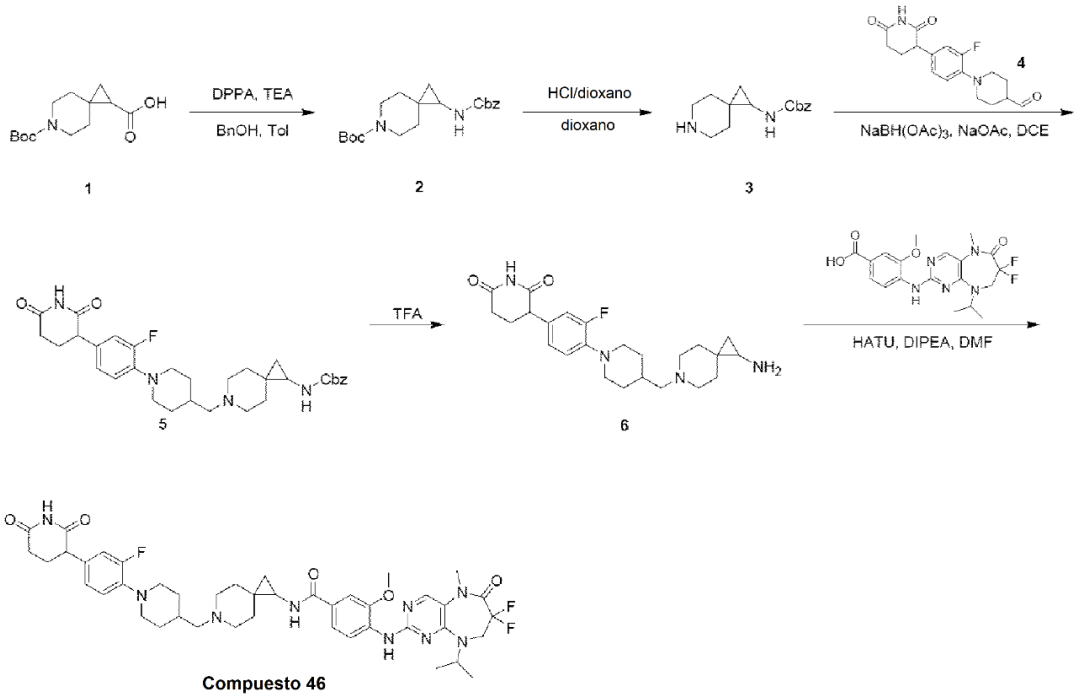
tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 45)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (95,13 mg, 225,76 µmol) y HATU (128,76 mg, 338,64 µmol) en DMF (2 ml) se le añadió DIPEA (87,53 mg, 677,27 µmol, 117,97 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. Se añadió 3-(4-(4-(2-(1-aminopiperidin-4-il)etil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (120 mg, 225,76 µmol, TFA), la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico (33 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante TLC prep. (SiO_2, DCM: MeOH = 10:1) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 * 25 mm * 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 35 %-65 %, 8 min). El eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(2-(4-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)etil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (56,8 mg, 67,81 µmol, 30,04 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS $(M+H)^+$ = 821,4.

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,81 (s, 1H), 9,23 (s, 1H), 8,33-8,27 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,46-7,39 (m, 2H), 7,06-6,93 (m, 3H), 4,96-4,79 (m, 1H), 4,03 (t, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,82-3,77 (m, 1H), 3,30 (s,

3H), 3,03-2,96 (m, 6H), 2,75-2,65 (m, 7H), 2,36-2,33 (m, 2H), 2,25-2,13 (m, 2H), 2,04-1,97 (m, 1H), 1,75-1,68 (m, 2H), 1,46-1,40 (m, 2H), 1,34-1,28 (m, 3H), 1,24 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H).

Ejemplo 46. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(6-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-6-azaespiro[2.5]octan-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 46)



Etapa 1. Síntesis de 1-(((benciloxi)carbonil)amino)-6-azaespiro[2.5]octano-6-carboxilato de *terc*-butilo (2)

A una mezcla de ácido 6-(*terc*-butoxicarbonil)-6-azaespiro[2.5]octano-1-carboxílico (1 g, 3,92 mmol) en tolueno (20 ml) se le añadieron TEA (799,70 mg, 7,90 mmol, 1,1 ml) y DPPA (1,65 g, 6,00 mmol, 1,3 ml) a 0 °C y a continuación, la mezcla se agitó a 110 °C durante 1 h en una atmósfera de N_2, a continuación, a la mezcla se le añadió BnOH (832,00 mg, 7,69 mmol, 800 µl) a 25 °C, y la

mezcla resultante se agitó a 110 °C durante 15 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que el ácido se había consumido completamente y se detectó un pico con masa [M-55]. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 10~33 %:éter de petróleo, 60 ml/min) para proporcionar 1-(((benciloxi)carbonil)amino)-6-azaespiro[2.5]octano-6-carboxilato de *terc*-butilo (1,4 g, 3,88 mmol, 99,16 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un aceite de color amarillo claro. MS$(M+1)^+$ = 361,0

Etapa 2. Síntesis de (6-azaespiro[2.5]octan-1-il)carbamato de bencilo (3)

A una solución de 1-(((benciloxi)carbonil)amino)-6-azaespiro[2.5]octano-6-carboxilato de *terc*-butilo (600 mg, 1,66 mmol) en dioxano (10 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 10 ml). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada y no se detectó ningún pico con el reactivo 1. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar (6-azaespiro[2.5]octan-1-il)carbamato de bencilo (300 mg, en bruto, HCl) en forma de un aceite de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 261,1

Etapa 3. Síntesis de (6-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-6-azaespiro[2.5]octan-1-il)carbamato de bencilo (5)

A una solución de 1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-carbaldehído (150 mg, 471,19 µmol) en DCE (5 ml) se le añadieron (6-azaespiro[2.5]octan-1-il)carbamato de bencilo (140 mg, en bruto, HCl) y NaOAc (121,21 mg, 1,48 mmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. A continuación,

a la mezcla se le añadió $NaBH(OAc)_3$ (499,32 mg, 2,36 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 15 h. El análisis por LCMS mostró un 13 % de pico con la masa deseada y ningún pico con el material de partida. A la mezcla de reacción se le añadió H_2O (10 ml) a 0 °C, a continuación, a las capas acuosas se les añadió $NaHCO_3$ (ac. sat., 15 ml) a 0 °C a pH = 9, la capa acuosa combinada se extrajo con EtOAc 120 ml (40 ml x 3), a continuación, las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera 120 ml (60 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de metanol al 0~20 %:diclorometano, 60 ml/min) para proporcionar (6-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-6-azaespiro[2.5]octan-1-il)carbamato de bencilo (260 mg, 462,08 µmol, 98,07 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 563,1

Etapa 4. Síntesis de 3-(4-(4-((1-amino-6-azaespiro[2.5]octan-6-il)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (6)

Una solución de (6-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-6-azaespiro[2.5]octan-1-il)carbamato de bencilo (120 mg, 213,27 µmol) en TFA (2 ml) se agitó a 60 °C durante 5 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que el (6-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-6-azaespiro[2.5]octan-1-il)carbamato de bencilo se había consumido completamente y un 32 % de pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(4-(4-((1-amino-6-azaespiro[2.5]octan-6-il)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (115 mg, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ =

429,4

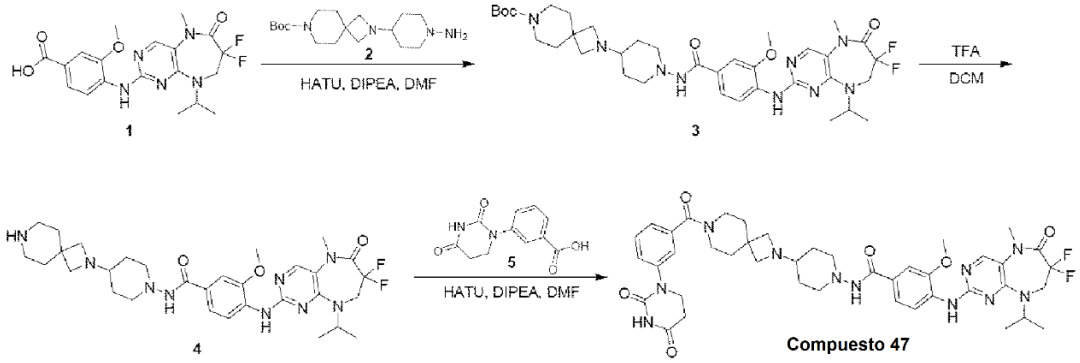
Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(6-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-6-azaespiro[2.5]octan-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 46)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (80 mg, 189,84 µmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (108,28 mg, 284,77 µmol), DIPEA (148,40 mg, 1,15 mmol, 200,00 µl) y 3-(4-(4-((1-amino-6-azaespiro[2.5]octan-6-il)metil)piperidin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (115 mg, en bruto, TFA) a 20 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico al 28 % con la masa deseada. A la mezcla de reacción se le añadió H_2O (10 ml), la mezcla se extrajo con EtOAc 50 ml (25 ml x 2), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de metanol al 0~25 %:diclorometano, 60 ml/min). El producto se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi C18 150 x 25 mm x 10 um; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 12 %-42 %, 7 min; Temp. de la columna: 30 °C) seguido de liofilización para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(6-((1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)piperidin-4-il)metil)-6-azaespiro[2.5]octan-1-il)-3-metoxibenzamida (50,3 mg, 56,21 µmol, 29,61 % de rendimiento, 94 % de pureza, 0,2FA) se

obtuvo en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 832,2

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,82 (s, 1H), 8,30 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,23-8,19 (m, 2H), 8,18-8,17 (m, 0,2 H), 7,88 (s, 1H), 7,58-7,46 (m, 2H), 7,05-6,89 (m, 3H), 4,92-4,83 (m, 1H), 4,03 (t, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,96-3,91 (m, 3H), 3,81-3,75 (m, 1H), 3,43-3,31 (m, 6H), 2,73-2,56 (m, 6H), 2,44-2,33 (m, 2H), 2,25-2,11 (m, 3H), 2,03-1,94 (m, 1H), 1,85-1,72 (m, 2H), 1,68-1,56 (m, 1H), 1,54-1,32 (m, 4H), 1,30-1,19 (m, 8H), 0,76-0,62 (m, 2H).

Ejemplo 47. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(7-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 47)



Etapa 1. Síntesis de 2-(1-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)piperidin-4-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (3)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (500 mg, 1,19 mmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (496,27 mg, 1,31 mmol) y DIPEA (306,70 mg, 2,37 mmol, 413,34 µl), la mezcla se agitó a

20 °C durante 10 min y se añadió una solución de 2-(1-aminopiperidin-4-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (577,47 mg, 1,78 mmol) y DIPEA (613,40 mg, 4,75 mmol, 826,69 µl) en DMF (3 ml), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y se detectó un 35 % de pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (15 ml) y se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (15 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar el producto A (368 mg) con un 82 % de pureza por LCMS. El producto A se disolvió en DMF (4 ml) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 * 25 mm * 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 46 %-76 %, 8 min), y el eluyente se liofilizó para proporcionar 2-(1-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)piperidin-4-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (32 mg, 41,33 µmol, 3,48 % de rendimiento, 94 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 728,3

Etapa 2. Síntesis de N-(4-(2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-1-il)-4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamida (4)

A una solución de 2-(1-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)piperidin-4-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de

terc-butilo (31 mg, 42,59 µmol) en DCM (1 ml) se le añadió TFA (14,57 mg, 127,77 µmol, 9,46 µl) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y se detectó un 93 % de pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar N-(4-(2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-1-il)-4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamida (76 mg, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 628,3

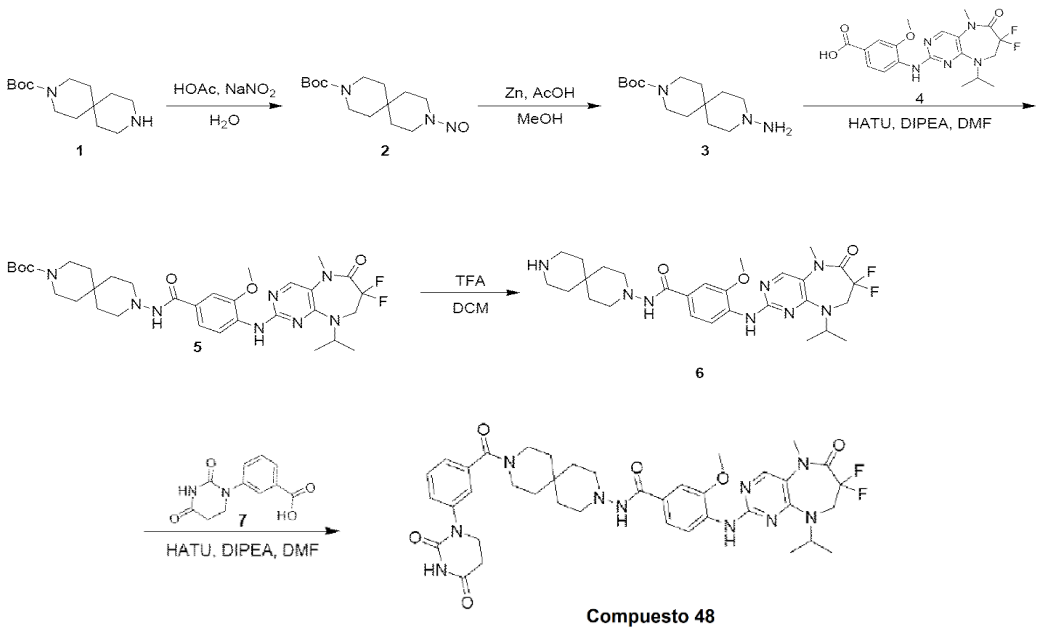
Etapa 3. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(7-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 47)

A una solución de ácido 3-(2, 4-dioxohexahidropirimidin-1-il)benzoico (20 mg, 85,39 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (35,72 mg, 93,93 µmol) y DIPEA (22,07 mg, 170,79 µmol, 29,75 µl), la mezcla se agitó a 20 °C durante 10 min y se añadió una solución de N-(4-(2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-1-il)-4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamida (76 mg, en bruto, TFA) y DIPEA (55,18 mg, 426,97 µmol, 74,37 µl) en DMF (2 ml), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (48 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (12 ml) y se extrajo con EtOAc (12 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para proporcionar el producto A

que se purificó por HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 Ultra 150 * 50 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 5 %-35 %, 7 min) y liofilización para proporcionar el producto C. La fase acuosa se concentró al vacío que se purificó por HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 Ultra 150 * 50 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 6 %-36 %, 7 min) y liofilización para proporcionar el producto D. El producto C y el producto D se combinaron y se purificaron de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 * 25 mm * 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 28 %-58 %, 9 min) para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-(7-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (3 mg, 3,45 µmol, 4,04 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 844,3

^{1}H RMN (400 MHz, CD_3CN) δ = 8,47 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,10-8,00 (m, 2H), 7,66 (s, 1H), 7,48-7,36 (m, 4H), 7,33 (t, *J* = 1,7 Hz, 1H), 7,26-7,21 (m, 1H), 5,04-4,90 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,95-3,89 (m, 2H), 3,87-3,75 (m, 6H), 3,68-3,53 (m, 2H), 3,39-3,26 (m, 5H), 3,18 (d, *J* = 11,5 Hz, 2H), 3,11-2,98 (m, 1H), 2,81 (t, *J* = 10,8 Hz, 2H), 2,74 (t, *J* = 6,7 Hz, 2H), 1,91-1,72 (m, 8H), 1,29 (s, 3H), 1,27 (s, 3H)

Ejemplo 48. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(9-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)-3,9-diazaespiro[5.5]undecan-3-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 48)



Etapa 1. Síntesis de 9-nitroso-3, 9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (2)

A una solución de 3, 9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 7,86 mmol) en H_2O (20 ml) se le añadió $NaNO_2$ (1,08 g, 15,73 mmol) a 0 °C, a continuación se añadió gota a gota AcOH (1,42 g, 23,59 mmol, 1,35 ml) a 0 °C, y la mezcla resultante estuvo a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y se detectó un 90 % de pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (100 ml) y se extrajo con EtOAc (100 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para proporcionar 9-nitroso-3, 9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (1,8 g, 6,16 mmol, 78,37 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M-56+H)$^+$ = 228,4

Etapa 2. Síntesis de 9-amino-3,9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (3)

A una solución de 9-nitroso-3, 9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (1,8 g, 6,35 mmol) en MeOH (25 ml) se le añadió Zn (2,16 g, 33,03 mmol) a 0 °C, a continuación se añadió gota a gota AcOH (5,72 g, 95,28 mmol, 5,45 ml) a 0 °C, y la mezcla resultante estuvo a 20 °C durante 3 h. El análisis por LCMS mostró que quedaba un 60 % del material de partida y se detectó un 26 % de pico con la masa deseada, y la mezcla estuvo a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y se detectó un 65 % de pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con MeOH (60 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 9-amino-3,9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (7,5 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 270,3

Etapa 3. Síntesis de 9-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)-3,9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (5)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (400 mg, 949,22 µmol) en DMF (4 ml) se le añadieron HATU (397,02 mg, 1,04 mmol) y DIPEA (245,36 mg, 1,90 mmol, 330,68 µl), la mezcla se agitó a 20 °C durante 10 min y se añadió una solución de 9-amino-3,9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (1,25 g, en bruto) y DIPEA (613,40 mg, 4,75 mmol, 826,69 µl) en DMF (4 ml), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y se detectó un pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (20 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x

3). La capa orgánica se lavó con salmuera (20 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 0~12 % diclorometano/metanol a 100 ml/min) para proporcionar el producto A (262 mg, 66 % de pureza) y el producto B (351 mg, 19 % de pureza). Los dos lotes de producto se purificaron de nuevo por HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 Ultra 150 * 50 mm * 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 40 %-70 %, 7 min) y se combinaron con liofilización para proporcionar 9-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)-3,9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (62 mg, 91,24 µmol, 9,61 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+ = 673,2$

Etapa 4. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(3,9-diazaespiro[5.5]undecan-3-il)benzamida (6)

A una solución de 9-(4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamido)-3,9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (62 mg, 92,16 µmol) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (31,52 mg, 276,47 µmol, 20,47 µl) a 20 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y se detectó un 96 % de pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(3,9-

diazaespiro[5.5]undecan-3-il)benzamida (78 mg, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 573,3

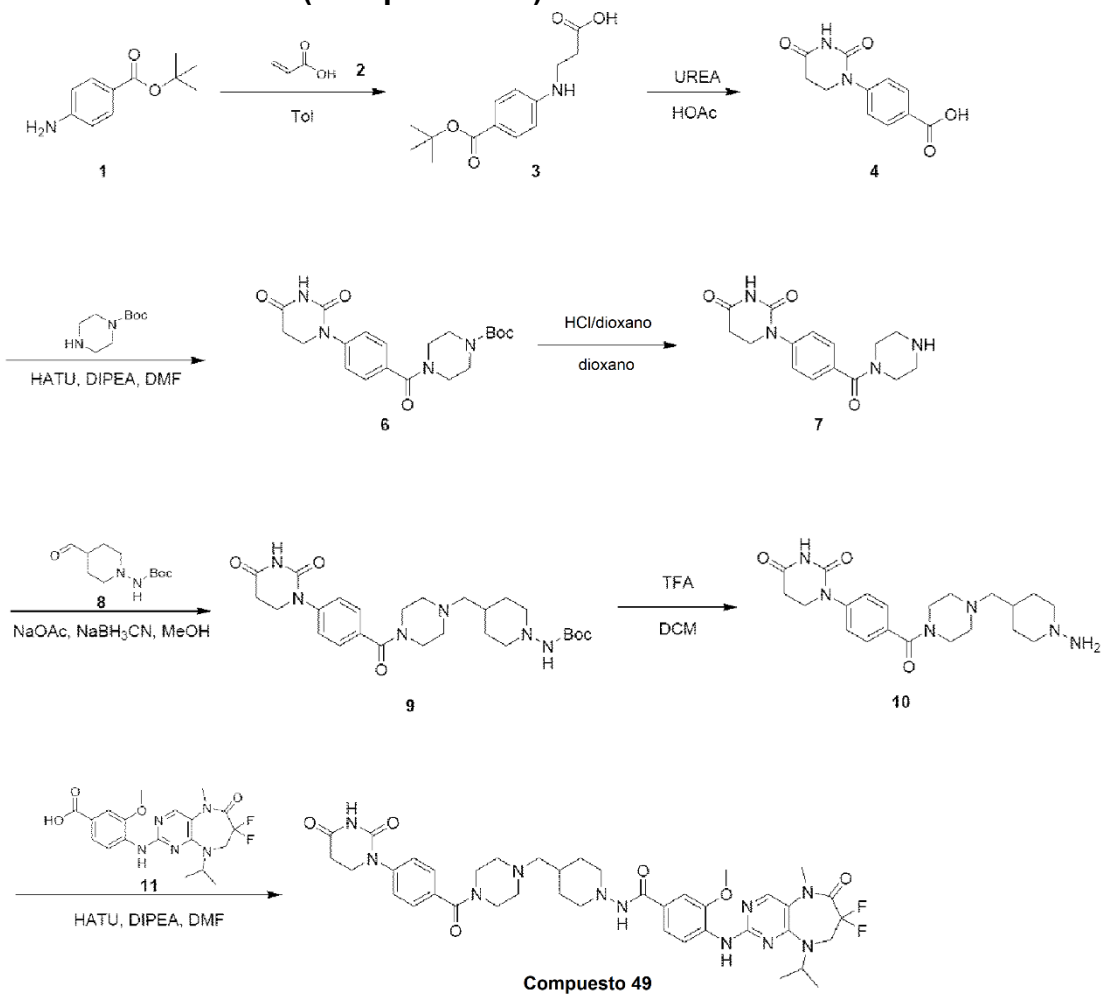
Etapa 5. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(9-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)-3,9-diazaespiro[5.5]undecan-3-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 48)

A una solución de ácido 3-(2, 4-dioxohexahidropirimidin-1-il)benzoico (23 mg, 98,20 µmol) en DMF (1 ml) se le añadieron HATU (41,07 mg, 108,02 µmol) y DIPEA (25,38 mg, 196,41 µmol, 34,21 µl), la mezcla se agitó a 20 °C durante 10 min y se añadió una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(3,9-diazaespiro[5.5]undecan-3-il)benzamida (74,18 mg, en bruto, TFA) y DIPEA (50,77 mg, 392,81 µmol, 68,42 µl) en DMF (1 ml), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y se detectó un 54 % de pico con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 Ultra 150 * 50 mm * 3 *µm*; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 24 %-54 %, 7 min) y liofilización para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(9-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)-3,9-diazaespiro[5.5]undecan-3-il)-3-metoxibenzamida (19,7 mg, 23,47 µmol, 23,90 % de rendimiento, 94 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 789,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,42 (s, 1H), 9,29 (s, 1H), 8,30 (d, *J* =

8,3 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,50-7,35 (m, 5H), 7,24 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,94-4,79 (m, 1H), 4,03 (t, *J* = 13,5 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,83 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 3,69-3,54 (m, 2H), 3,33-3,30 (m, 5H), 2,95-2,82 (m, 4H), 2,72 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 1,70-1,56 (m, 4H), 1,56-1,41 (m, 4H), 1,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H)

Ejemplo 49. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 49)



Compuesto 49

Etapa 1. Síntesis de ácido 3-((4-(*terc*-

butoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (3)

Una mezcla de 4-aminobenzoato de *terc*-butilo (1 g, 5,17 mmol) y ácido acrílico (410,21 mg, 5,69 mmol, 390,67 µl) en tolueno (10 ml) se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se trituró con n-hexano (10 ml) a 20 °C durante 10 min para proporcionar ácido 3-((4-(*terc*-butoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (1 g, 3,77 mmol, 72,84 % de rendimiento, 100 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M-56+H)$^+$ = 266,1.

Etapa 2. Síntesis de ácido 4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoico (4)

Una mezcla de ácido 3-((4-(*terc*-butoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (1 g, 3,77 mmol) y UREA (2,26 g, 37,69 mmol, 2,02 ml) en AcOH (10 ml) se agitó a 120 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida. El producto en bruto se trituró con THF: MTBE ~ 1:1 (10 ml) a 20 °C durante 10 min para proporcionar ácido 4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoico (700 mg, 2,63 mmol, 69,78 % de rendimiento, 88 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M-56+H)$^+$ = 235,0.

Etapa 3. Síntesis de 4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6)

A una solución de ácido 4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoico (300 mg, 1,28 mmol) en DMF (8 ml) se le añadieron HATU (730,56 mg, 1,92 mmol) y DIPEA (496,65 mg, 3,84 mmol, 669,34 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. A continuación, se añadió piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (285,27 mg, 1,28 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante

16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (30 ml) y se extrajo con EtOAc (30 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de EtOAc al 20~100 %/éter de petróleo a 40 ml/min) seguido de trituración con EA (10 ml) a 20 °C durante 10 min para proporcionar 4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (145 mg, 342,28 µmol, 26,72 % de rendimiento, 95 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M-56+H)$^+$ = 347,1.

Etapa 4. Síntesis de 1-(4-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (7)

A una solución de 4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (145 mg, 360,30 µmol) en dioxano (2 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 2 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar 1-(4-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (120 mg, en bruto, sal HCl) en forma de un sólido de color blanco, que se usó en la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 303,2.

Etapa 5. Síntesis de (4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (9)

A una solución de 1-(4-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (120 mg, 354,20 µmol, sal HCl) en MeOH (2 ml) se le

añadieron (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (161,72 mg, 708,41 µmol) y NaOAc (58,11 mg, 708,41 µmol), la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h, a continuación se añadió $NaBH_3CN$ (66,78 mg, 1,06 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 20~100 %/éter de petróleo a metanol al 10 %/EtOAc a 40 ml/min) seguido de TLC prep. (SiO_2, DCM: MeOH = 10:1) para proporcionar (4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (162 mg, 280,17 µmol, 79,10 % de rendimiento, 89 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 515,1

Etapa 6. Síntesis de 1-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (10)

A una solución de (4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (160 mg, 310,91 µmol) en DCM (5 ml) se le añadió TFA (1,54 g, 13,51 mmol, 1 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar 1-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (160 mg, en bruto, sal TFA) en forma de un aceite de color pardo, que se usó en la siguiente etapa directamente.

MS(M+H)$^+$ = 415,0.

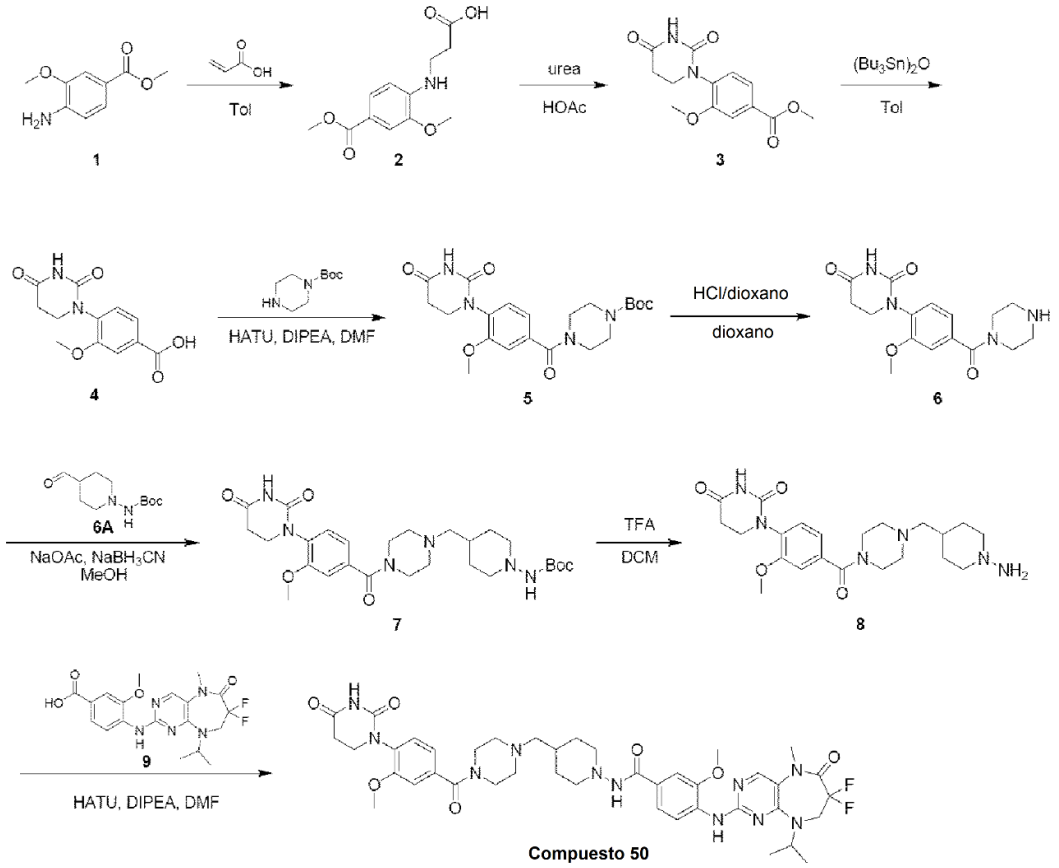
Etapa 7. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 49)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (63,78 mg, 151,37 µmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (86,33 mg, 227,05 µmol) y DIPEA (58,69 mg, 454,10 µmol, 79,10 µl), la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h, se añadió 1-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (80 mg, 151,37 µmol, sal TFA), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con salmuera (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC prep. (SiO_2, DCM:MeOH = 10:1) y se purificó de nuevo por HPLC de fase inversa (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 28 %-58 %, 9 min). El eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (7,0 mg, 8,30 µmol, 5,48 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 818,4.

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,45 (s, 1H), 9,27 (s, 1H), 8,29 (d, *J* =

8,3 Hz, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,45-7,36 (m, 6H), 4,93-4,80 (m, 1H), 4,09-3,98 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,83 (t, *J* = 6,7 Hz, 2H), 3,70-3,53 (m, 2H), 3,32-3,31 (m, 5H), 3,04-2,98 (m, 2H), 2,79-2,70 (m, 4H), 2,42-2,33 (m, 4H), 2,25-2,15 (m, 2H), 1,80-1,68 (m, 2H), 1,59-1,45 (m, 1H), 1,30-1,20 (m, 8H).

Ejemplo 50. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 50)



Compuesto 50

Etapa 1. Síntesis de ácido 3-((2-metoxi-4-(metoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (2)

Una mezcla de 4-amino-3-metoxibenzoato de metilo (1,8 g, 9,93 mmol) y

ácido acrílico (1,07 g, 14,90 mmol, 1,02 ml) en Tol (20 ml) se agitó a 100 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico (84 %) con la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida. El producto en bruto se trituró con n-hexano (10 ml) a 20 °C durante 10 min, el sólido se recogió y al vacío para proporcionar ácido 3-((2-metoxi-4-(metoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (2,5 g, 9,77 mmol, 98,37 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 254,0

Etapa 2. Síntesis de 4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoato de metilo (3)

A una solución de ácido 3-((2-metoxi-4-(metoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (2,5 g, 9,87 mmol) en AcOH (30 ml) se le añadió UREA (5,93 g, 98,72 mmol, 5,29 ml), y la mezcla se agitó a 120 °C durante 18 h. El análisis por LCMS mostró un pico (64 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El producto en bruto se trituró con MTBE(10 ml) a 20 °C durante 10 min, el sólido se recogió y al vacío para proporcionar 4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoato de metilo (1 g, 3,56 mmol, 36,04 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 279,0.

Etapa 3. Síntesis de ácido 4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoico (4)

A una solución de 4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoato de metilo (500 mg, 1,80 mmol) en Tol. (10 ml) se le añadió $(Bu_3Sn)_2O$ (3,3 g, 5,54 mmol, 2,82 ml), y la mezcla se agitó a 110 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico (45 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en KF (2,5 M, 20 ml), se agitó a 20 °C durante 0,5 h, a

continuación se lavó con EtOAc (10 ml), y la capa de EtOAc se descartó. La capa acuosa se ajustó a pH = 6 usando HCl 1 N, se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar ácido 4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoico (300 mg, en bruto) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 265,0

Etapa 4. Síntesis de 4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (5)

A una solución de ácido 4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoico (200 mg, 756,91 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (431,70 mg, 1,14 mmol) y DIPEA (293,47 mg, 2,27 mmol, 395,52 µl), la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h, se añadió piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (140,97 mg, 756,91 µmol), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico (33 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (2 ml) y EtOAc (2 ml) y se filtró. La torta de filtro se secó al vacío. El sólido se trituró con MTBE (5 ml) a 20 °C durante 10 min, el sólido se recogió y se secó al vacío para proporcionar 4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (190 mg, 404,19 µmol, 53,40 % de rendimiento, 92 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M-Boc+H)$^+$ = 332,9.

Etapa 5. Síntesis de 1-(2-metoxi-4-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (6)

A una solución de 4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (190 mg, 439,34 µmol) en dioxano (3 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 109,83 µl), y la mezcla se agitó a

20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada, la mezcla se concentró al vacío para proporcionar 1-(2-metoxi-4-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (180 mg, en bruto) en forma de un polvo de color gris. MS(M+H)$^+$ = 333,1.

Etapa 6. Síntesis de (4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (7)

A una solución de 1-(2-metoxi-4-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (140 mg, 379,59 µmol, HCl) en MeOH (7 ml) se le añadieron NaOAc (62,28 mg, 759,19 µmol) y (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (173,31 mg, 759,19 µmol), después de agitar a 20 °C durante 0,5 h, a continuación, se añadió $NaBH_3CN$ (35,78 mg, 569,39 µmol), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada, la mezcla se diluyó con agua (5 ml) y se extrajo con EtOAc (5 ml x 2). La capa acuosa se ajustó a pH 7~8 mediante una solución de $NaHCO_3$, a continuación se extrajo con EtOAc (5 ml x 3), la capa orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar (4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (140 mg, en bruto) en forma de un polvo de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 545,4

Etapa 7. Síntesis de 1-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)-2-metoxifenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (8)

A una solución de (4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (80 mg, 146,89 µmol) en DCM (0,5 ml) se le añadió TFA (100,49 mg, 881,31 µmol,

65,25 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada, la mezcla se concentró al vacío para proporcionar 1-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)-2-metoxifenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (85 mg, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 445,2.

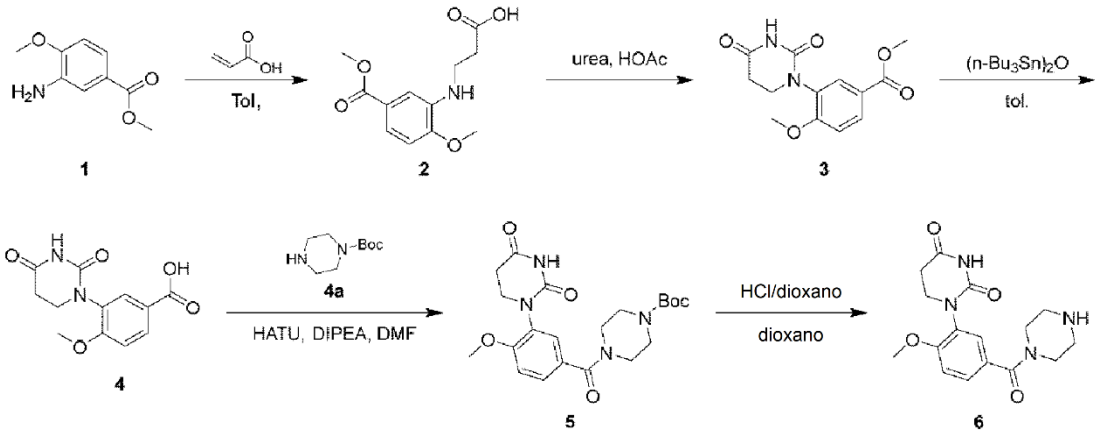
Etapa 8. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-3-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 50)

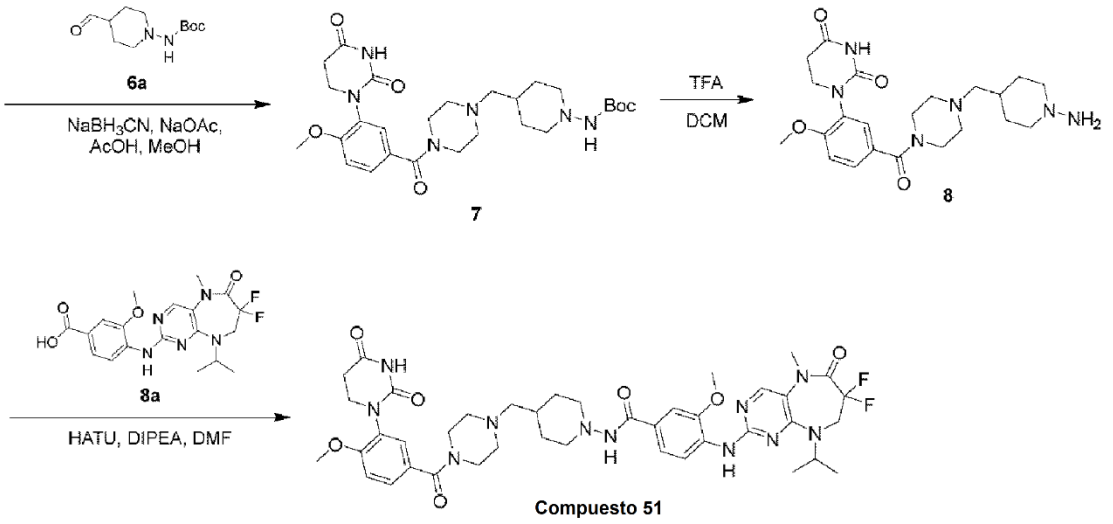
A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (60 mg, 142,38 µmol) en DMF (1 ml) se le añadieron HATU (81,21 mg, 213,58 µmol) y DIPEA (92,01 mg, 711,92 µmol, 124,00 µl), a continuación se añadió 1-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)-2-metoxifenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (79,53 mg, 142,38 µmol, sal TFA), y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico con la masa deseada. La mezcla se diluyó con agua (2 ml) y se extrajo con EtOAc (2 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 * 25 mm * 4 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 23 %-43 %, 7 min) y HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 * 25 mm * 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 29 %-59 %, 9 min), el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-

1(2H)-il)-3-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (13,5 mg, 15,83 µmol, 11,12 % de rendimiento, 99,4 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 848,5.

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,36 (s, 1 H), 9,27 (s, 1H), 8,30 (d, *J* = 8,31 Hz, 1 H), 8,22 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,46-7,42 (m, 2 H), 7,32 (d, *J* = 7,95 Hz, 1 H), 7,10 (d, *J* = 1,47 Hz, 1 H), 6,98 (dd, *J* = 7,89, 1,53 Hz, 1 H), 4,88 (dt, *J* = 13,36, 6,59 Hz, 1 H), 4,04 (t, *J* = 13,57 Hz, 2 H), 3,93 (s, 3H), 3,84 (s, 3H), 3,60 (t, *J* = 6,60 Hz, 4 H), 3,33 (s, 3H), 3,31 (s, 2H), 3,01 (d, *J* = 10,27 Hz, 2 H), 2,75 (t, *J* = 10,33 Hz, 2 H), 2,69 (t, *J* = 6,54 Hz, 2 H), 2,45-2,32 (m, 4 H), 2,20 (d, *J* = 6,72 Hz, 2 H), 1,76 (d, *J* = 11,62 Hz, 2 H), 1,51 (d, *J* = 10,39 Hz, 1 H), 1,25 (d, *J* = 6,72 Hz, 8 H).

Ejemplo 51. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 51)





Etapa 1. Síntesis de ácido 3-((2-metoxi-5-(metoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (2)

Una mezcla de ácido acrílico (1,79 g, 24,84 mmol, 1,70 ml) y 3-amino-4-metoxibenzoato de metilo (3 g, 16,56 mmol) en Tol. (40 ml) se agitó a 100 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La solución de mezcla se concentró a presión reducida. El producto en bruto se trituró con éter de petróleo:EtOAc = 8:1 (30 ml) y se agitó durante 0,5 h. A continuación, la suspensión se filtró. La torta de filtro se recogió y se secó para proporcionar ácido 3-((2-metoxi-5-(metoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (3,6 g, 13,79 mmol, 83,28 % de rendimiento, 97 % de pureza) en forma de un sólido de color pardo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 254,0

Etapa 2. Síntesis de 3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoato de metilo (3)

A una solución de ácido 3-((2-metoxi-5-(metoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (3,6 g, 14,22 mmol) en AcOH (30 ml) se le añadió UREA (8,54 g, 142,15 mmol, 7,62 ml), y la mezcla se agitó a 120 °C

durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente, y un pico principal con la masa deseada. La mezcla se vertió en agua (80 ml) y EtOAc (30 ml) y a continuación se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se trituró con éter de petróleo:EtOAc: Metanol = 15:15:2 (32 ml) y se agitó durante 0,5 h. A continuación, la suspensión se filtró. La torta de filtro se recogió y se secó al vacío para proporcionar 3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoato de metilo (2,8 g, 10,06 mmol, 70,79 % de rendimiento, 100 % de pureza) en forma de un sólido de color pardo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 279,0

Etapa 3. Síntesis de ácido 3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoico (4)

Una mezcla de 3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoato de metilo (0,5 g, 1,80 mmol) y tributil(tributilestaniloxi)estannano (6,51 g, 10,78 mmol, 5,56 ml) en tolueno (5 ml) se agitó a 110 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente, y un pico (44 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en KF (2,5 M, 30 ml) y se lavó con EtOAc (20 ml x 2). La fase orgánica combinada se descartó. El producto acuoso se ajustó a pH 5 con una solución acuosa 2 M de HCl, a continuación se extrajo con EtOAc (30 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar ácido 3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoico (0,25 g, 936,67 µmol, 52,13 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 265,0

Etapa 4. Síntesis de 4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (5)

A una solución de ácido 3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoico (370 mg, 1,40 mmol) en DMF (8 ml) se le añadieron HATU (638,91 mg, 1,68 mmol) y DIPEA (542,92 mg, 4,20 mmol, 731,69 µl), la mezcla se agitó a 25 °C durante 10 min, a continuación se añadió piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (311,86 mg, 1,40 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico (57 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en agua (80 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 80 ml/min; eluyente de metanol al 0~50 %/EtOAc a 80 ml/min) para proporcionar 4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (480 mg, 932,32 µmol, 66,58 % de rendimiento, 84 % de pureza) en forma de un sólido de color pardo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M-56+H)$^+$ = 377,1

Etapa 5. Síntesis de 1-(2-metoxi-5-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (6)

A una solución de 4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (370 mg, 855,55 µmol) en dioxano (1 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 10 ml) a 25 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente. La solución de mezcla se concentró a presión

reducida para proporcionar 1-(2-metoxi-5-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (315 mg, en bruto, SAL HCl) en forma de un sólido de color pardo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 333,1

Etapa 6. Síntesis de (4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (7)

Una mezcla de 1-(2-metoxi-5-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (315 mg, 854,09 µmol, HCl) y AcONa (140,12 mg, 1,71 mmol) en MeOH (10 ml) se agitó a 25 °C durante 0,5 h, a continuación se añadieron (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (779,91 mg, 3,42 mmol) y AcOH (51,29 mg, 854,09 µmol, 48,89 µl) a 25 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. Al final, se añadió $NaBH_3CN$ (107,35 mg, 1,71 mmol) a 25 °C y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente, y un pico (3 %) con la masa deseada. La solución de reacción se concentró. El producto en bruto se disolvió en EtOAc (50 ml) y se lavó con $NaHCO_3$ saturado (30 ml). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a metanol al 0~50 %/EtOAc a 60 ml/min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 Ultra 150 x 50 mm x 3 *µm*; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 1 %-28 %, 7 min), el eluyente se liofilizó para proporcionar (4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (80 mg,

145,42 µmol, 17,03 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 545,2

Etapa 7. Síntesis de 1-(5-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)-2-metoxifenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (8)

A una solución de (4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (80 mg, 146,89 µmol) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (0,4 ml) a 25 °C, y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal con la masa deseada. La solución de mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 1-(5-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)-2-metoxifenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (70 mg, en bruto, sal TFA) en forma de un aceite de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 445,1

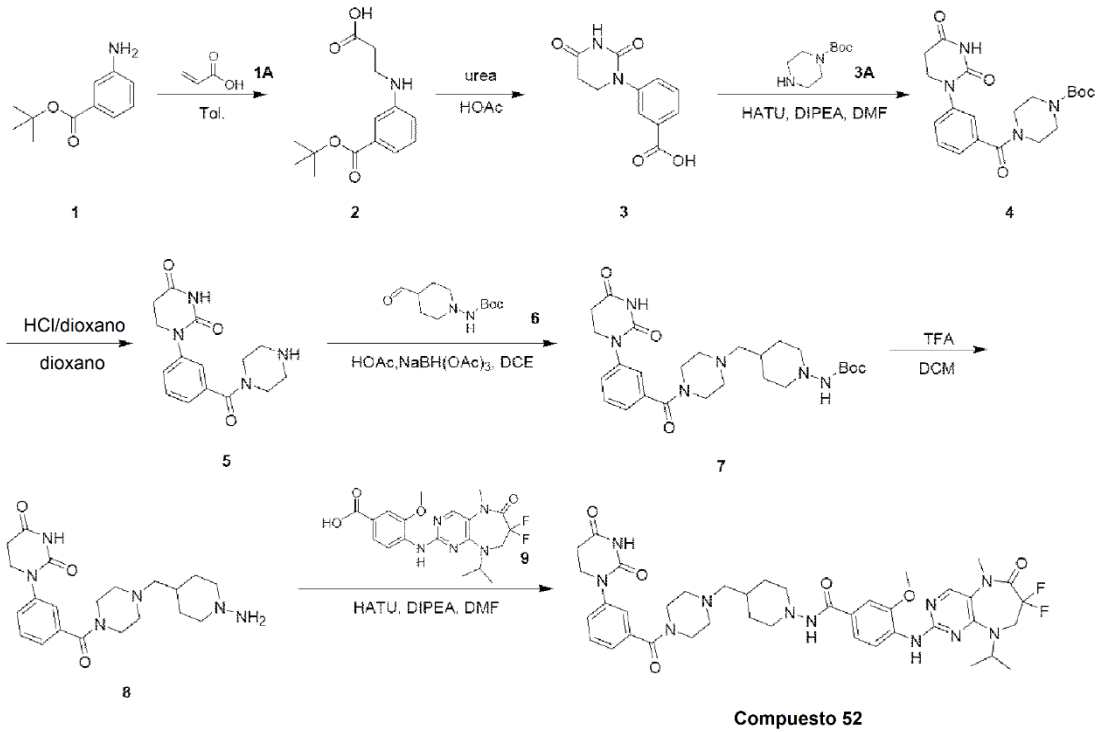
Etapa 8. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 51)

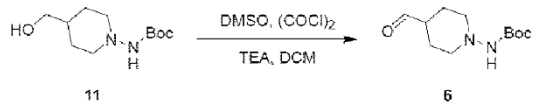
A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (60 mg, 142,38 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (64,97 mg, 170,86 µmol) y DIPEA (55,20 mg, 427,15 µmol, 74,40 µl). La mezcla se agitó a 25 °C durante 10 min. A continuación, se añadió 1-(5-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)-2-metoxifenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (67,60 mg,

121,03 µmol, sal TFA) y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico (32 %) con la masa deseada. La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (~50 %) con la masa deseada. La solución de mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a metanol al 0~50 %/EtOAc a 60 ml/min) y se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 *µm*; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 29 %-59 %, 9 min), el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)-4-metoxibenzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (36,9 mg, 42,65 µmol, 29,95 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 848,2

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,34 (s, 1H), 9,26 (s, 1H), 8,35-8,26 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,48-7,31 (m, 4H), 7,16 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,95-4,80 (m, 1H), 4,03 (t a, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 3,66-3,40 (m, 6H), 3,35-3,32 (m, 2H), 3,29 (s, 3H), 3,00 (d a, *J* = 10,0 Hz, 2H), 2,77-2,66 (m, 4H), 2,33 (dd a, *J* = 1,9, 3,6 Hz, 2H), 2,19 (d a, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,81-1,68 (m, 2H), 1,59-1,43 (m, 1H), 1,24 (d a, *J* = 6,6 Hz, 8H).

Ejemplo 52. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 52)





Etapa 1. Síntesis de ácido 3-((3-(*terc*-butoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (2)

A una solución de 3-aminobenzoato de *terc*-butilo (5 g, 25,87 mmol) en Tol. (50 ml) se le añadió ácido acrílico (1,86 g, 25,87 mmol, 1,78 ml). La mezcla se agitó a 100 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (~87 %) con la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar ácido 3-((3-(*terc*-butoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (7 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 266,1.

Etapa 2. Síntesis de ácido 3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoico (3)

A una solución de ácido 3-((3-(*terc*-butoxicarbonil)fenil)amino)propanoico (7 g, 26,38 mmol) en HOAc (150 ml) se le añadió urea (15,85 g, 263,85 mmol, 14,15 ml). La mezcla se agitó a 120 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (~79 %) con la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se trituró con éter de petróleo/EtOAc (500 ml, v/v = 10:1). La torta de filtro se secó a presión reducida para proporcionar ácido 3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoico (5,6 g, 23,58 mmol, 89,35 % de rendimiento, 98,6 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 235,1.

Etapa 3. Síntesis de 4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (4)

A una solución de ácido 3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoico (2 g, 8,54 mmol) en DMF (15 ml) se le añadieron DIPEA (3,31 g, 25,62 mmol, 4,46 ml) y HATU (4,87 g, 12,81 mmol). A continuación, a la mezcla se le añadió piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,59 g, 8,54 mmol) después de 0,5 h. La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado ~46 % de la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc (100 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera saturada (150 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de éter de petróleo al 0~60 %:EtOAc/etanol (v/v = 1/1) a 80 ml/min) para dar 4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (1 g, 2,06 mmol, 24,15 % de rendimiento, 83 % de pureza) en forma de un aceite

de color amarillo. MS (M-*t*Bu+H)$^+$ = 347,1.

Etapa 4. Síntesis de 1-(3-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (5)

A una solución de 4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (1 g, 2,48 mmol) en dioxano (10 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 15 ml). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por TLC (diclorometano: metanol = 10:1) indicó que se había formado una nueva mancha. La mezcla se filtró. La torta de filtro se secó a presión reducida para proporcionar 1-(3-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (430 mg, en bruto, HCl) en forma de un sólido de color amarillo. MS (M+H)$^+$ = 303,1.

Etapa 5. Síntesis de (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (6)

A una solución de DMSO (678,53 mg, 8,68 mmol, 678,53 µl) en DCM (10 ml) se le añadió una solución de cloruro de oxalilo (716,46 mg, 5,64 mmol, 494,11 µl) en DCM (5 ml) a -70 °C. A continuación, a la mezcla se le añadió una solución de (4-(hidroximetil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (1 g, 4,34 mmol) en DCM (15 ml) después de 10 min a -70 °C. La mezcla se agitó durante 20 min. A continuación, a la mezcla se le añadió TEA (2,20 g, 21,71 mmol, 3,02 ml) a -70 °C. A continuación, la mezcla se calentó a 20 °C y se agitó durante 30 min. El análisis por TLC (diclorometano: metanol = 20:1) indicó que se había formado una nueva mancha. La mezcla de reacción se inactivó con agua (50 ml) y se extrajo con DCM (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera saturada (50 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (640 mg, en bruto) en forma de un

sólido de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 229,1.

Etapa 6. Síntesis de (4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (7)

A una solución de 1-(3-(piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (427,41 mg, en bruto, HCl) en DCE (20 ml) se le añadieron (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (640 mg, 2,80 mmol), HOAc (336,71 mg, 5,61 mmol, 320,68 µl) y $NaBH(OAc)_3$ (1,19 g, 5,61 mmol). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado ~46 % de la masa deseada. La mezcla se inactivó con una solución saturada de bicarbonato de sodio (30 ml) y a continuación se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de éter de petróleo al 0~60 %: EtOAc/etanol (v/v = 1/1) a 80 ml/min) para proporcionar (4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (260 mg, 419,34 µmol, 14,96 % de rendimiento, 83 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 515,4.

Etapa 7. Síntesis de 1-(3-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (8)

A una solución de (4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (150 mg, 291,48 µmol) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (4,62 g, 40,52 mmol, 3,00 ml). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por TLC (diclorometano: metanol

= 10:1) indicó que se había formado una nueva mancha. La mezcla se concentró a presión reducida para dar 1-(3-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (0,2 g, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color amarillo. MS $(M+H)^+$ = 415,5

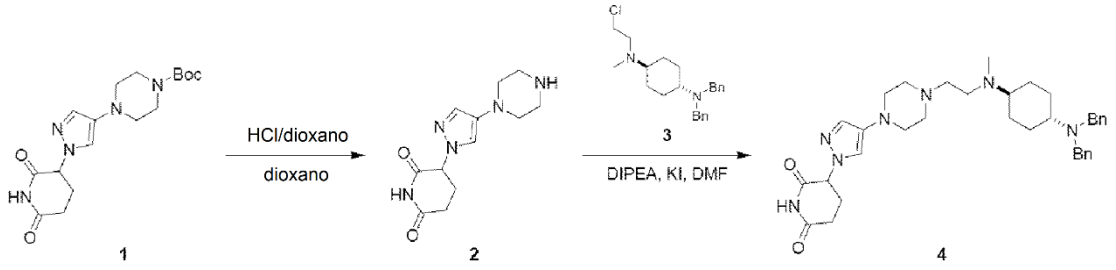
Etapa 8. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 52)

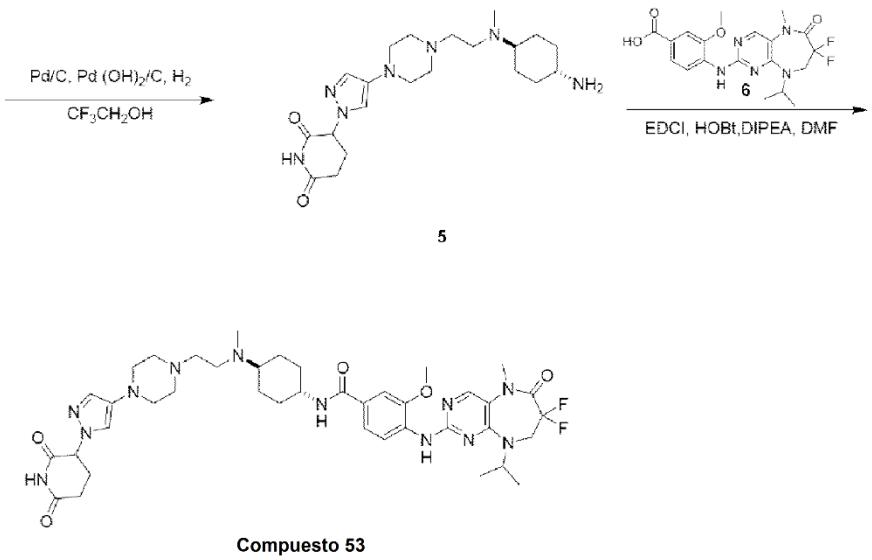
A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (159,46 mg, 378,41 µmol) en DMF (5 ml) se le añadieron HATU (172,66 mg, 454,10 µmol) y DIPEA (195,63 mg, 1,51 mmol, 263,65 µl). A continuación, a la mezcla se le añadió 1-(3-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-carbonil)fenil)dihidropirimidin-2,4(1H,3H)-diona (0,2 g, en bruto, TFA) después de 0,5 h. La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado ~50 % de la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (30 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de éter de petróleo al 0~95 %/EtOAc:etanol (v/v = 1/1) a 80 ml/min) y a continuación HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 *µm*; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 25 %-55 %, 9 min) seguido de liofilización para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-

pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(3-(2,4-dioxotetrahidropirimidin-1(2H)-il)benzoil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (36,3 mg, 43,94 µmol, 11,61 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS $(M+H)^+$ = 818,3

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,42 (s, 1H), 9,26 (s, 1H), 8,29 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,50-7,39 (m, 4H), 7,37 (s, 1H), 7,23 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 4,90-4,83 (m, 1H), 4,03 (t, *J* = 13,6 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,83 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 3,69-3,55 (m, 2H), 3,47-3,33 (m, 4H), 3,30 (s, 3H), 3,00 (d, *J* = 10,3 Hz, 2H), 2,77-2,69 (m, 4H), 2,44-2,37 (m, 2H), 2,19 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,75 (d, *J* = 11,0 Hz, 2H), 1,58-1,46 (m, 1H), 1,26-1,23 (m, 8H).

Ejemplo 53. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-((2-(4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-4-il)piperazin-1-il)etil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (trans) (Compuesto 53)





Etapa 1. Síntesis de 3-(4-(piperazin-1-il)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (2)

A una solución de 4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-4-il)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (145 mg, 399,00 µmol) en dioxano (10 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 10 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado un pico principal con la masa deseada y que no quedaba ningún pico con el material de partida. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(4-(piperazin-1-il)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (119 mg, en bruto, sal HCl) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS(M+H)$^+$ = 264,1

Etapa 2. Síntesis de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-(dibencilamino)ciclohexil)(metil)amino) etil)piperazin-1-il)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (trans) (4)

A una solución de 3-(4-(piperazin-1-il)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (159 mg, 530,43 µmol, HCl) en DMF (4 ml) se le añadieron KI (19,08 mg, 114,94 µmol), (1r,4r)-N1,N1-dibencil-N4-(2-cloroetil)-N4-metilciclohexano-1,4-

diamina (trans) (222,60 mg, 501,49 µmol, sal 2HCl) y DIPEA (471,91 mg, 3,65 mmol, 635,99 µl) a 25 °C. La mezcla se agitó a 50 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se filtró y el filtrado se purificó por HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 x 25 mm x 4 *µm*; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 14 %-34 %, 7 min; Temp. de la columna: 30 °C) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-(dibencilamino)ciclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona6-diona (trans) (240 mg, 337,17 µmol, 63,56 % de rendimiento, sal TFA) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS(M+H)$^+$ = 598,3

Etapa 3. Síntesis de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (trans) (5)

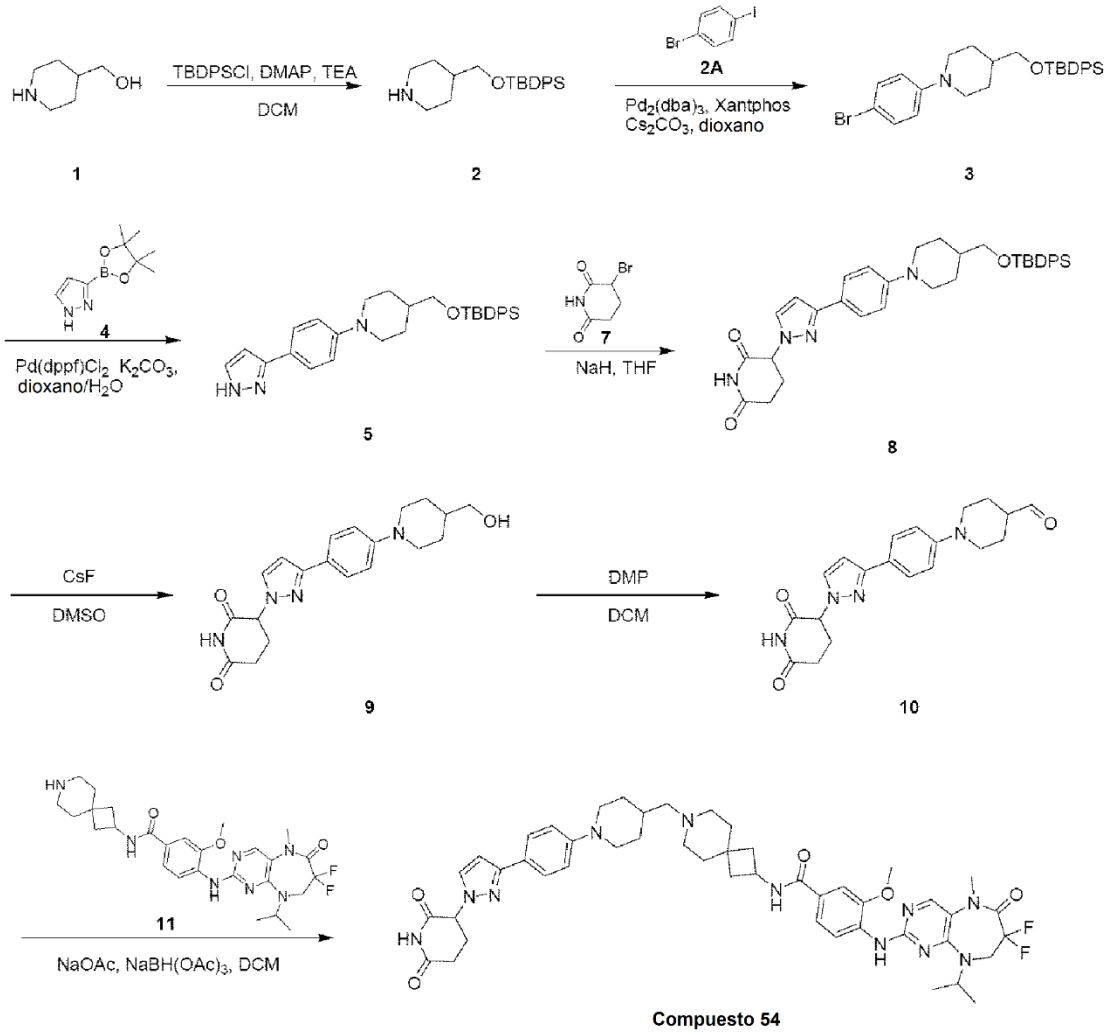
A una solución de 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-(dibencilamino)ciclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (trans) (140 mg, 196,68 µmol, TFA) en CF_3CH_2OH (8 ml) se le añadieron Pd/C (30 mg, 10 % de pureza) y $Pd(OH)_2$/C (30 mg, 20 % de pureza) en una atmósfera de N_2. A continuación, la mezcla se agitó a 20 °C durante 40 h en una atmósfera de H_2 (15 psi). El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (trans) (104 mg, en bruto, TFA) en forma de un aceite de color amarillo claro. MS(M+H)$^+$ = 418,2

Etapa 4. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-((2-(4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-4-il)piperazin-1-il)etil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (trans) (Compuesto 53)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (90 mg, 213,58 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron EDCI (70 mg, 365,15 µmol), HOBt (50 mg, 370,03 µmol), DIPEA (140,98 mg, 1,09 mmol, 190 µl) y 3-(4-(4-(2-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)(metil)amino)etil)piperazin-1-il)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (trans) (104 mg, 195,65 µmol, TFA) a 25 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico principal con la masa deseada. La mezcla se filtró y el filtrado se purificó por HPLC prep. (columna: Phenomenex Synergi Polar-RP 100 x 25 mm x 4 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; % de B: 19 %-39 %, 7 min; Temp. de la columna: 30 °C) seguido de liofilización para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-((1r,4r)-4-((2-(4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-4-il)piperazin-1-il)etil)(metil)amino)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (trans) (10,8 mg, 10,63 µmol, 4,98 % de rendimiento, 92 % de pureza, sal TFA) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 821,4

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 11,04 (s, 1H), 8,30-8,25 (m, 1H), 8,25-8,17 (m, 3H), 7,61-7,39 (m, 3H), 7,33 (s, 1H), 5,26-5,19 (m, 1H), 4,91-4,85 (m, 1H), 4,14-4,03 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,86-3,78 (m, 1H), 3,74-2,89 (m, 16H), 2,85-2,74 (m, 4H), 2,70-2,55 (m, 2H), 2,21-2,14 (m, 1H), 2,07-1,95 (m, 4H), 1,75-1,63 (m, 2H), 1,50-1,39 (m, 2H), 1,24 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H).

Ejemplo 54. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-3-il)fenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 54)



Compuesto 54

Etapa 1. Síntesis de 4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina (2)

A una solución de piperidin-4-ilmetanol (5 g, 43,41 mmol) en DCM (80 ml) se le añadieron TEA (7,27 g, 71,85 mmol, 10 ml) y DMAP (300 mg, 2,46 mmol), a continuación se añadió TBDPSCl (18,19 g, 66,18 mmol, 17,00 ml) a 0 °C; La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LCMS mostró

que el piperidin-4-ilmetanol se había consumido completamente y un pico (55 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de agua (100 ml) a 0 °C, y a continuación se extrajo con DCM (80 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (40 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 20~100 %:éter de petróleo, 60 ml/min) para proporcionar 4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina (14,5 g, 41,01 mmol, 94,47 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 354,2

Etapa 2. Síntesis de 1-(4-bromofenil)-4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina (3)

Una mezcla de 4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina (5 g, 14,14 mmol), 1-bromo-4-yodobenceno (4,40 g, 15,56 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (1,25 g, 1,37 mmol), Xantphos (800,00 mg, 1,38 mmol), Cs_2CO_3 (15,00 g, 46,04 mmol) en dioxano (80 ml) se desgasificó y se purgó con N_2 3 veces, y la mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró un pico (45 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~10 %:éter de petróleo, 60 ml/min) para proporcionar 1-(4-bromofenil)-4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina (4,5 g, 8,85 mmol, 62,57 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 508,3, 510,3

Etapa 3. Síntesis de 1-(4-(1H-pirazol-3-il)fenil)-4-(((*terc*-

butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina (5)

Una mezcla de 1-(4-bromofenil)-4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina (2,4 g, 4,72 mmol), 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (1,4 g, 7,22 mmol), Pd(dppf) Cl_2 (360,00 mg, 492,00 µmol), K_2CO_3 (2,16 g, 15,63 mmol) en dioxano (30 ml) y H_2O (6 ml) se desgasificó y se purgó con N_2 3 veces, a continuación, la mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h en una atmósfera de N_2. El análisis por LCMS mostró que quedaba un 27 % de 1-(4-bromofenil)-4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina y un pico (60 %) con el compuesto deseado. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (15 ml) y a continuación se extrajo con EtOAc (40 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 10~50 %:éter de petróleo, 60 ml/min) para proporcionar 1-(4-(1H-pirazol-3-il)fenil)-4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina (2,1 g, 4,24 mmol, 89,77 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 496,4

Etapa 4. Síntesis de 3-(3-(4-(4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidin-1-il)fenil)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (8)

A una solución de 1-(4-(1H-pirazol-3-il)fenil)-4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina (1,2 g, 2,42 mmol) en THF (20 ml) se le añadió NaH (240 mg, 6,00 mmol, 60 % de pureza) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 h, a continuación, se añadió una solución de 3-bromopiperidin-2,6-diona (600,00 mg, 3,12 mmol) en THF (10 ml) a 0 °C, y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 3 h. El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 1:1)

indicó que la 1-(4-(1H-pirazol-3-il)fenil)-4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidina se había consumido completamente y solo se formó una nueva mancha (Fr = 0,22). La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl (ac. sat., 20 ml) a 0 °C, y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (80 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 10~50 %:éter de petróleo, 60 ml/min) para proporcionar 3-(3-(4-(4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidin-1-il)fenil)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (1,2 g, 1,98 mmol, 81,69 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo claro. $MS(M+H)^+$ = 607,1

Etapa 5. Síntesis de 3-(3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (9)

A una solución de 3-(3-(4-(4-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)piperidin-1-il)fenil)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (500 mg, 823,96 µmol) en DMSO (8 ml) se le añadió CsF (200,00 mg, 1,32 mmol, 48,54 µl) a 20 °C. A continuación, la mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (11 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (10 ml) y a continuación se extrajo con EtOAc (50 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (40 ml x 3), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (Biotage; columna flash de sílice SepaFlash® de 10 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 40~100 %:éter de petróleo, 60 ml/min) para proporcionar 3-(3-(4-(4-

(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (200 mg, 542,85 µmol, 65,88 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS(M+H)$^+$ = 369,0

Etapa 6. Síntesis de 1-(4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-3-il)fenil)piperidin-4-carbaldehído (10)

A una solución de 3-(3-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)fenil)-1H-pirazol-1-il)piperidin-2,6-diona (150 mg, 407,13 µmol) en DCM (10 ml) se le añadió DMP (270,00 mg, 636,58 µmol, 197,08 µl). La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un pico (44 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar 1-(4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-3-il)fenil)piperidin-4-carbaldehído (148 mg, en bruto) en forma de un aceite de color pardo. MS (M+H)$^+$ = 367,0

Etapa 7. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-3-il)fenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 54)

A una solución de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxi-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)benzamida (150 mg, 258,59 µmol, sal HCl) en DCM (8 ml) se le añadieron 1-(4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-3-il)fenil)piperidin-4-carbaldehído (147,00 mg, 401,19 µmol) y NaOAc (100 mg, 1,22 mmol). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. A continuación, se añadió $NaBH(OAc)_3$ (240,00 mg, 1,13 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 15 h. El análisis por LCMS mostró un pico (38 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (4 ml) a 0 °C, a continuación se añadió

$NaHCO_3$ (ac. sat., 8 ml) para ajustar el pH = 9 a 0 °C, y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El producto se purificó por HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 Ultra 150 x 50 mm x 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 13 %-43 %, 7 min; Temp. de la columna: 30 °C), el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(7-((1-(4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-3-il)fenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (120 mg, 97,86 µmol, 37,84 % de rendimiento, 91,5 % de pureza, sal 2TFA) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS $(M+H)^+$ = 894,2

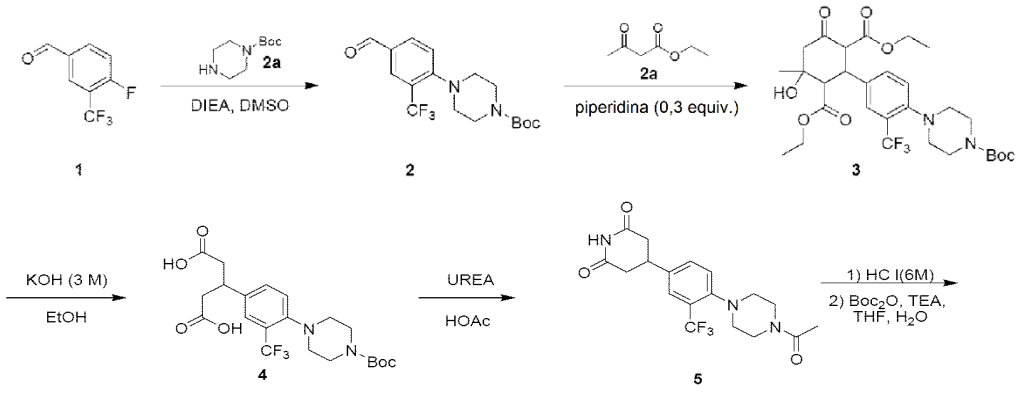
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ = 8,15-8,10 (m, 2H), 7,87-7,79 (m, 2H), 7,77-7,69 (m, 1H), 7,61-7,54 (m, 2H), 7,38-7,29 (m, 2H), 6,72-6,67 (m, 1H), 5,41-5,31 (m, 1H), 5,16-5,10 (m, 1H), 4,60-4,50 (m, 1H), 4,16 (t, *J* = 12,0 Hz, 2H), 4,02 (s, 3H), 3,86-3,76 (m, 2H), 3,64-3,50 (m, 2H), 3,41 (s, 3H), 3,30-3,21 (m, 2H), 3,19-3,08 (m, 3H), 3,04-2,96 (m, 1H), 2,94-2,81 (m, 2H), 2,81-2,67 (m, 1H), 2,59-2,51 (m, 1H), 2,47-2,30 (m, 2H), 2,29-2,20 (m, 1H), 2,15-1,93 (m, 8H), 1,74-1,61 (m, 2H), 1,35-1,29 (m, 6H).

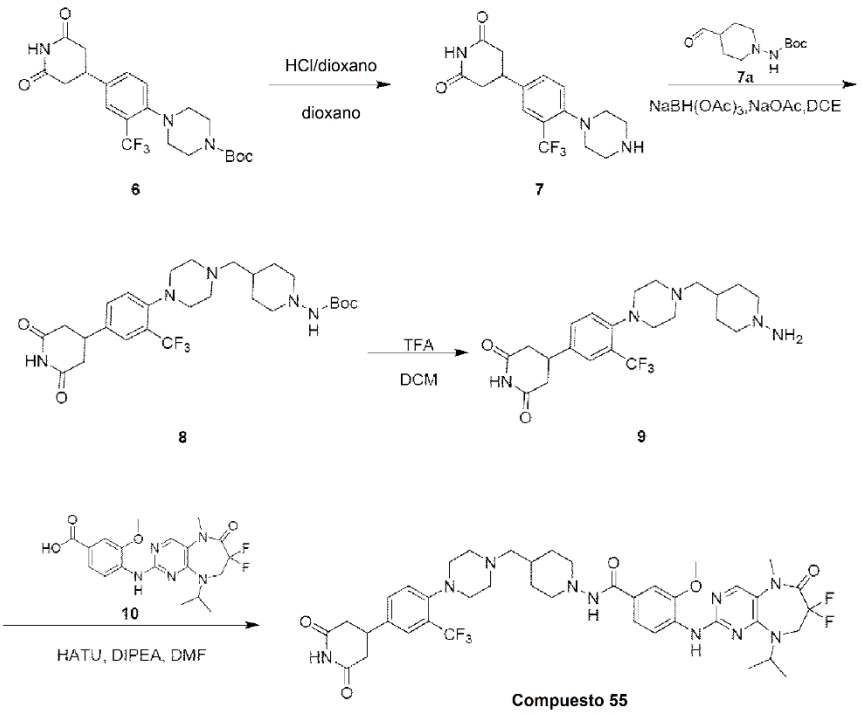
Se diluyeron aproximadamente 80 mg de producto con DMF (2 ml) y se ajustó a pH = 7~8 con DIPEA (0,1 ml). A continuación, la mezcla se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge C18 150 x 50 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 38 %-68 %, 10 min, Temp. de la columna: 30 °C). El eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-

il)amino)-N-(7-((1-(4-(1-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-pirazol-3-il)fenil)piperidin-4-il)metil)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)-3-metoxibenzamida (18,2 mg, 18,69 µmol, 20,88 % de rendimiento, 91,8 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS $(M+H)^+$ = 894,2

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 11,06 (s, 1H), 8,46-8,39 (m, 1H), 8,34-8,28 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,78 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 7,64-7,56 (m, 2H), 7,53-7,46 (m, 2H), 6,98-6,89 m, 2H), 6,64-6,57 (m, 1H), 5,41-5,33 (m, 1H), 4,93-4,84 (m, 1H), 4,44-4,35 (m, 1H), 4,09-3,99 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,77-3,67 (m, 2H), 3,31-3,28 (m, 5H), 2,86-2,76 (m, 1H), 2,71-2,61 (m, 4H), 2,28-2,21 (m, 3H), 2,18-2,10 (m, 4H), 1,84-1,74 (m, 4H), 1,66-1,51 (m, 5H), 1,27-1,22 (m, 6H), 1,20-1,13 (m, 2H).

Ejemplo 55. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 55)





Etapa 1. Síntesis de 4-(4-formil-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2)

Una mezcla de piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6,03 g, 27,07 mmol), 4-fluoro-3-(trifluorometil)benzaldehído (4 g, 20,82 mmol, 2,84 ml) y DIPEA (6,73 g, 52,05 mmol, 9,07 ml) en DMSO (50 ml) se agitó a 100 °C durante 16 horas. El análisis por LCMS mostró un pico (25 %) con la masa deseada. El análisis por TLC (éter de petróleo: EtOAc = 5:1; Fr = 0,7) mostró que quedaba la mayor parte del material de partida. La mezcla se agitó a 120 °C durante 16 h más. El análisis por LCMS mostró un pico (40 %) con la masa deseada. La mezcla se vertió en agua (150 ml) y se extrajo con EtOAc (30 ml x 5). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice

SepaFlash® de 45 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~15 %/éter de petróleo a 70 ml/min) para proporcionar 4-(4-formil-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,5 g, 9,38 mmol, 45,03 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M-56+H)$^+$ = 303,1

Etapa 2. Síntesis de 2-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (3)

A una solución de 4-(4-formil-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,5 g, 9,77 mmol) en 3-oxobutanoato de etilo (7,63 g, 58,60 mmol, 7,40 ml) se le añadió piperidina (249,49 mg, 2,93 mmol, 289,36 µl), y la mezcla se agitó a 25 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal (70 %) con la masa deseada. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~35 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar 2-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (6 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 601,4

Etapa 3. Síntesis de ácido 3-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil) pentanodioico (4)

A una solución de 2-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (4,2 g, 6,99 mmol) en EtOH (40 ml) se le añadió KOH (3 M, 11,65 ml), y la

mezcla se agitó a 80 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (50 %) con la masa deseada. La mezcla se diluyó con H_2O (100 ml) y se concentró para eliminar el EtOH. La mezcla resultante se filtró a través de un lecho de celite y la torta de filtro se descartó. El filtrado se lavó con EtOAc (20 ml x 3). La capa acuosa se ajustó a pH = 6 con HCl 1 N a 0 °C y se extrajo con EtOAc (30 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida, para proporcionar ácido 3-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)pentanodioico (2,3 g, 4,80 mmol, 68,58 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. $MS(M+H)^+$ = 461,1

Etapa 4. Síntesis de 4-(4-(4-acetilpiperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)piperidin-2,6-diona (5)

A una solución de UREA (1,80 g, 29,97 mmol, 1,61 ml) en AcOH (20 ml) se le añadió ácido 3-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)pentanodioico (2,3 g, 5,00 mmol), y la mezcla se agitó a 120 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal con la masa deseada. La solución de mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 4-(4-(4-acetilpiperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)piperidin-2,6-diona (2 g, en bruto) en forma de un aceite de color pardo, que se usó para la siguiente etapa directamente. $MS(M+H)^+$ = 384,0

Etapa 5. Síntesis de 4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6)

Una solución de 4-(4-(4-acetilpiperazin-1-il)-3-

(trifluorometil)fenil)piperidin-2,6-diona (1,9 g, 4,96 mmol) en HCl (6 M, 16,52 ml) se agitó a 50 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con THF (50 ml) y H_2O (50 ml), a continuación se añadieron TEA (12,54 g, 123,90 mmol, 17,25 ml) y Boc_2O (4,33 g, 19,82 mmol, 4,55 ml) a 25 °C, y la mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico (36 %) con la masa deseada. La mezcla se extrajo con EtOAc (40 ml x 4). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 25 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~50 %/éter de petróleo a 50 ml/min) para proporcionar 4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,7 g, 1,59 mmol, 31,99 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS $(M+H)^+$ = 442,2

Etapa 6. Síntesis de 4-(4-(piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)piperidin-2,6-diona (7)

A una solución de 4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (250 mg, 566,32 µmol) en dioxano (2 ml) se le añadió HCl/dioxano (4 M, 10 ml) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 0,5 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar 4-(4-(piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)piperidin-2,6-diona (220 mg, en bruto, sal HCl) en forma de un sólido de color blanco, que se usó

para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 342,2

Etapa 7. Síntesis de (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-(trifluorometil)fenil) piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (8)

A una solución de 4-(4-(piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)piperidin-2,6-diona (220 mg, 582,34 µmol, sal HCl) y (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (265,88 mg, 1,16 mmol) en DCE (3 ml) se le añadió NaOAc (143,31 mg, 1,75 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 0,5 h. A continuación, se añadió $NaBH(OAc)_3$ (370,26 mg, 1,75 mmol) a 25 °C y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 12 h. El análisis por LCMS mostró un pico (10 %) con la masa deseada, y un pico (29 %) con material de partida. El producto en bruto se disolvió en DCM (50 ml) y se lavó con $NaHCO_3$ saturado (30 ml). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 70 ml/min; eluyente de metanol al 0~50 %/EtOAc a 70 ml/min), para proporcionar (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (140 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 554,1

Etapa 8. Síntesis de 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)piperidin-2,6-diona (9)

A una solución de (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (125 mg, 225,79 µmol) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (0,4 ml) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 0,5 h. El análisis por LCMS mostró

un pico (16 %) con la masa del material de partida y un pico (69 %) con la masa deseada. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 h más. El análisis por TLC (diclorometano: metanol = 10:1) mostró que el material de partida se había consumido completamente y se formó una nueva mancha. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)piperidin-2,6-diona (128 mg, en bruto, sal TFA) en forma de un aceite de color pardo, que se usó para la siguiente etapa directamente. MS(M+H)$^+$ = 454,3

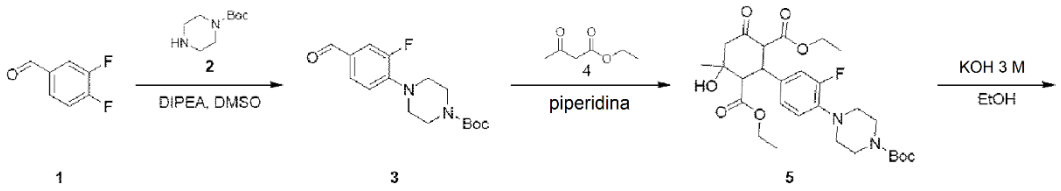
Etapa 9. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 55)

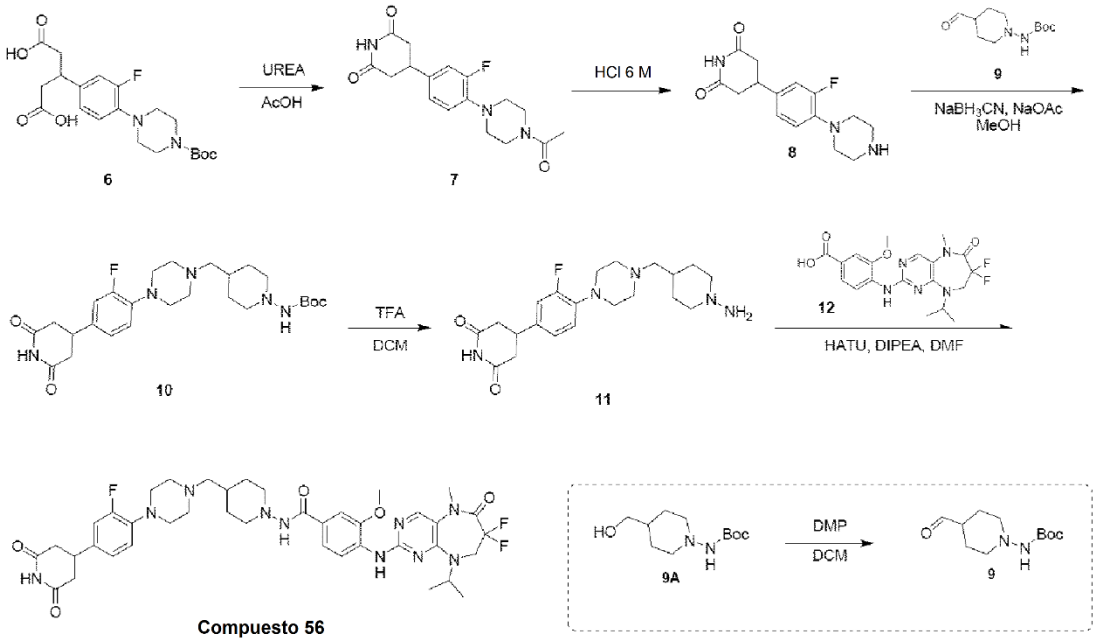
A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (70 mg, 166,11 µmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (75,79 mg, 199,34 µmol) y DIPEA (64,41 mg, 498,34 µmol, 86,80 µl). La mezcla se agitó a 25 °C durante 10 min. A continuación, se añadió 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)piperidin-2,6-diona (122,56 mg, 215,95 µmol, sal TFA) y la mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido completamente y un pico (31 %) con la masa deseada. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 4 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 0~100 %/éter de petróleo a 60 ml/min; eluyente de metanol al 0~50 %/EtOAc a 60 ml/min) seguido de HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x

5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 41 %-71 %, 8 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (28,5 mg, 30,93 µmol, 18,62 % de rendimiento, 93 % de pureza) en forma de un sólido de color pardo. MS(M+H)$^+$ = 857,5

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 11,00-10,76 (m, 1H), 9,39-9,16 (m, 1H), 8,41-8,26 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,69-7,51 (m, 3H), 7,50-7,28 (m, 2H), 4,99-4,78 (m, 1H), 4,14-3,99 (m, 2H), 3,99-3,82 (m, 3H), 3,57-3,35 (m, 3H), 3,29 (s a, 3H), 3,02 (d a, *J* = 8,1 Hz, 2H), 2,89-2,77 (m, 6H), 2,74 (s a, 2H), 2,65 (d a, *J* = 17,0 Hz, 4H), 2,21 (d a, *J* = 5,8 Hz, 2H), 1,83-1,72 (m, 2H), 1,60-1,47 (m, 1H), 1,24 (d a, *J* = 6,4 Hz, 8H).

Ejemplo 56. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 56)





Etapa 1. Síntesis de 4-(2-fluoro-4-formilfenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3)

A una solución de 3,4-difluorobenzaldehído (9 g, 63,33 mmol, 6,87 ml) y piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (12,39 g, 66,50 mmol) en DMSO (90 ml) se le añadió DIPEA (16,37 g, 126,67 mmol, 22,06 ml), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un 89 % de la masa deseada. La mezcla se diluyó con H_2O (150 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 120 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 10~20 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 4-(2-fluoro-4-formilfenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (18,1 g, 58,70 mmol, 92,68 % de rendimiento, 100 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 309,1.

Etapa 2. Síntesis de 2-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-

fluorofenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (5)

A una solución de 4-(2-fluoro-4-formilfenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (17,6 g, 57,08 mmol) en 3-oxobutanoato de etilo (44,60 g, 342,70 mmol, 43,3 ml) se le añadió piperidina (1,47 g, 17,21 mmol, 1,7 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró que quedaba 4-(2-fluoro-4-formilfenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo y se detectó la masa deseada. La mezcla se agitó a 20 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un 83 % de la masa deseada. La mezcla se diluyó con MTBE (150 ml) y se agitó a 20 °C durante 0,5 h. A continuación, la mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con MTBE (100 ml). La torta de filtro se recogió y se secó a presión reducida para proporcionar 2-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (19,2 g, en bruto) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 551,4.

Etapa 3. Síntesis de ácido 3-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)pentanodioico (6)

A una solución de 2-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (9,2 g, 16,71 mmol) en EtOH (90 ml) se le añadió KOH (3 M, 27,85 ml), y la mezcla se agitó a 80 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un 38 % de la masa deseada. La mezcla se concentró para eliminar el EtOH. El producto en bruto se diluyó con H_2O (100 ml) y se lavó con EtOAc (20 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con H_2O (20 ml), la capa acuosa se ajustó a pH = 6 con HCl 1 N, a continuación se extrajo con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con H_2O (20 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró

a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 70~100 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar ácido 3-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)pentanodioico (3,05 g, 7,13 mmol, 42,70 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 411,2.

Etapa 4. Síntesis de 4-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (8)

Una solución de ácido 3-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)pentanodioico (7,17 g, 17,47 mmol) y UREA (5,25 g, 87,35 mmol, 4,68 ml) en AcOH (72 ml) se agitó a 120 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un pico (85 %) con una masa de 4-(4-(4-acetilpiperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona. La mezcla se concentró a presión reducida. Se añadió HCl (6 M, 29,33 ml) y la mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 14 h más. El análisis por LCMS mostró un pico (69 %) con una masa de 4-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona. La mezcla se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por HPLC de fase inversa (columna flash de 330 g Welch Ultimate XB_C_{18} 20-40 µm; Disolvente 120 A para la disolución de la muestra, aproximadamente 6,00 gramos de muestra disueltos en 100 ml de H_2O/MeCN Caudal 100 ml/min Fase móvil Gradiente de MeCN/H_2O % de B 0-5 % 40 min; 5-95 % 20 min, Instrumento TELEDYNE ISCO CombiFlashRf$_{150}$) y el eluyente se liofilizó para proporcionar dos lotes de 4-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona: lote 1: (2,3 g, 6,32 mmol, 36,15 % de rendimiento, 90 % de pureza, sal HCl) en forma de un sólido de color blanco, y el lote 2: 4-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (920 mg, 2,25 mmol, 12,85 % de rendimiento, 80 % de pureza, sal HCl) en forma de un

sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 292,1

Etapa 5. Síntesis de (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de terc-butilo (9)

A una solución de (4-(hidroximetil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (3,6 g, 15,63 mmol) en DCM (50 ml) se le añadió DMP (9,95 g, 23,45 mmol, 7,26 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un pico (59 %) con la masa deseada y un pico (20 %) con la masa del material de partida. La mezcla se diluyó con MTBE (60 ml) y se filtró. La torta de filtro se lavó con MTBE (50 ml) y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (5,8 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 229,3

Etapa 6. Síntesis de (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (10)

A una solución de 4-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (1,5 g, 4,58 mmol, sal HCl) en MeOH (10 ml) se le añadió NaOAc (376 mg, 4,58 mmol), a continuación se añadió (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (4,70 g, 20,59 mmol) en MeOH (10 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min. Se añadió $NaBH_3CN$ (863,31 mg, 13,74 mmol), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró un 28 % de la masa de 4-(3-fluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona y un 26 % de la masa deseada. Se añadió una solución de (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (6,27 g, 27,46 mmol) en MeOH (10 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1,5 h. Se añadió $NaBH_3CN$ (862,74 mg, 13,73 mmol) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 20 g,

eluyente de gradiente de EtOH al 0~50 %/EtOAc a 80 ml/min) y a continuación se purificó por HPLC prep. (columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 8 %-38 %, 10 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (0,1 g, 198,57 µmol, 4,34 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 504,3

Etapa 7. Síntesis de 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (11)

A una solución de (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (170 mg, 337,56 µmol) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (0,4 ml) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró un 73 % de la masa deseada y que quedaba un 19 % del material de partida. Se añadió más cantidad de TFA (0,1 ml) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. El análisis por LCMS mostró que el material de partida se había consumido y un 74 % de la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (220 mg, en bruto, 2TFA) en forma de un aceite de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 404,3

Etapa 8. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 56)

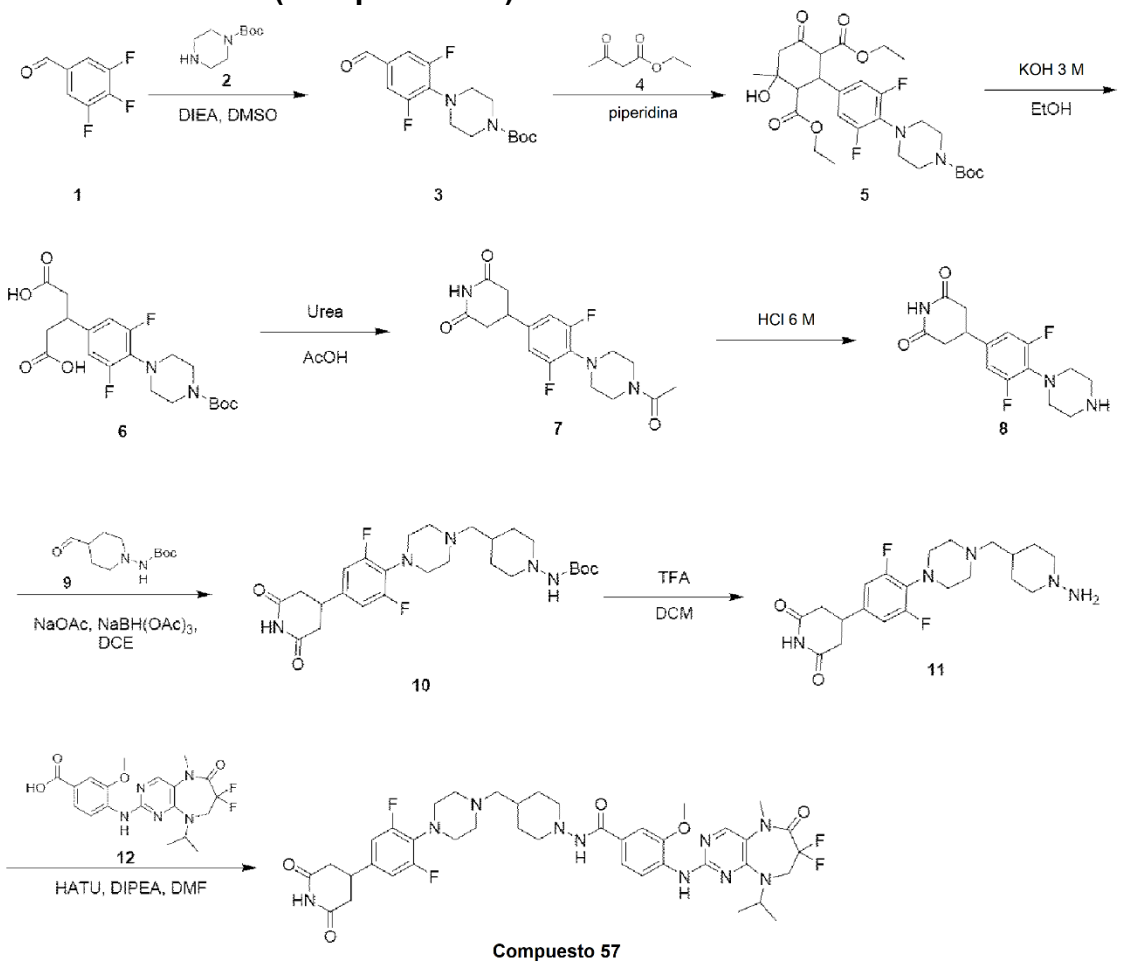
A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico

(170 mg, 403,42 µmol) y HATU (184,07 mg, 484,10 µmol) en DMF (3 ml) se le añadió DIPEA (104,28 mg, 806,84 µmol, 140,54 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min. A continuación, se añadió una solución de 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-fluorofenil)piperidin-2,6-diona (220 mg, 461,78 µmol, 2TFA) y DIPEA (521,39 mg, 4,03 mmol, 702,68 µl) en DMF (2 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró la masa deseada. La mezcla se diluyó con H_2O (20 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por HPLC prep. (columna: Unisil 3-100 C18 µltra 150 x 50 mm x 3 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 10 %-40 %, 7 min) seguido de HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 38 %-68 %, 8 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2-fluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (52,6 mg, 64,41 µmol, 15,97 % de rendimiento, 98,8 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 807,5

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,87-10,83 (m, 1H), 9,31-9,26 (m, 1H), 8,33-8,28 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,46-7,40 (m, 2H), 7,12 (d a, *J* = 13,4 Hz, 1H), 7,05-6,98 (m, 2H), 4,92-4,83 (m, 1H), 4,08-4,00 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,31-3,29 (m, 6H), 3,04-2,96 (m, 4H), 2,81-2,71 (m, 4H), 2,65-2,56 (m, 6H), 2,23-2,20 (m, 2H), 1,79-1,71 (m, 2H), 1,57-1,47 (m, 1H), 1,26-1,22 (m, 8H).

Ejemplo 57. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-

dioxopiperidin-4-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 57)



Etapa 1. Síntesis de 4-(2,6-difluoro-4-formilfenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3)

A una solución de 3,4,5-trifluorobenzaldehído (5 g, 31,23 mmol) y piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6,11 g, 32,79 mmol) en DMSO (50 ml) se le añadió DIPEA (12,11 g, 93,70 mmol, 16,32 ml), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un 96 % de la masa deseada. La mezcla se diluyó con H_2O (100 ml) y se extrajo con EtOAc (30 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y

se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 15~20 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 4-(2,6-difluoro-4-formilfenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (9 g, 27,30 mmol, 87,42 % de rendimiento, 99 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. MS(M-100+H)$^+$ = 227,0

Etapa 2. Síntesis de 2-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (5)

A una solución de 4-(2,6-difluoro-4-formilfenil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (9 g, 27,58 mmol) en 3-oxobutanoato de etilo (21,53 g, 165,41 mmol, 20,9 ml) se le añadió piperidina (707,00 mg, 8,30 mmol, 820 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 28 h. El análisis por LCMS mostró un 82 % de la masa deseada. La mezcla se diluyó con MTBE (60 ml) y se agitó a 20 °C durante 0,5 h. A continuación, la mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con MTBE (50 ml). La torta de filtro se recogió y se secó a presión reducida para proporcionar 2-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (10,67 g, en bruto) en forma de un sólido de color blanco. MS(M+H)$^+$ = 569,3

Etapa 3. Síntesis de ácido 3-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)pentanodioico (6)

A una solución de 2-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (5 g, 8,79 mmol) en EtOH (50 ml) se le añadió KOH (3 M, 14,66 ml), y la mezcla se agitó a 80 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un 76 % de la masa

deseada. La mezcla se concentró para eliminar el EtOH. El producto en bruto se diluyó con H_2O (50 ml) y se lavó con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se extrajo con H_2O (20 ml), y la capa acuosa se ajustó a pH = 6 con HCl 1 N. A continuación, la capa acuosa se extrajo con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con H_2O (20 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 70~90 %/éter de petróleo a 80 ml/min) para proporcionar ácido 3-(4-(4-*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)pentanodioico (2,2 g, 5,14 mmol, 58,40 % de rendimiento, 100 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 429,2

Etapa 4. Síntesis de 4-(3,5-difluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (8)

Una solución de ácido 3-(4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)pentanodioico (2,2 g, 5,14 mmol) y UREA (1,54 g, 25,68 mmol, 1,38 ml) en AcOH (22 ml) se agitó a 120 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un pico (87 %) con una masa de 4-(4-(4-acetilpiperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona. La mezcla se concentró a presión reducida. Se añadió HCl (6 M, 8,62 ml) y la mezcla se agitó a 50 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un pico (46 %) con una masa de 4-(4-(4-acetilpiperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona y un pico (36 %) con una masa de 4-(3,5-difluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona. Se añadió más cantidad de HCl (6 M, 8 ml) y la mezcla se agitó a 50 °C durante 6 h más. El análisis por LCMS mostró un pico (75 %) con una masa de 4-(3,5-difluoro-4-(piperazin-1-

il)fenil)piperidin-2,6-diona. La mezcla se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por HPLC de fase inversa (columna flash de 120 g Welch Ultimate XB_C_{18} 20-40 µm; Disolvente 120 A para la disolución de muestras, aproximadamente 2,00 gramos de muestra disueltos en 40 ml de H_2O/MeCN; Caudal 85 ml/min Fase móvil Gradiente de MeCN/H_2O % de B 0-30 % 30 min; 30-100 % 20 min; Instrumento TELEDYNE ISCO CombiFlashRf$_{150}$), y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-(3,5-difluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (410 mg, 1,16 mmol, 22,63 % de rendimiento, 98 % de pureza, sal HCl) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 310,1

Etapa 5. Síntesis de (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (10)

A una solución de 4-(3,5-difluoro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (120 mg, 347,05 µmol, sal HCl) en DCE (4 ml) se le añadió NaOAc (28,47 mg, 347,05 µmol), a continuación se añadió una solución de (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (240,00 mg, 1,05 mmol) en DCE (4 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min. Se añadió $NaBH(OAc)_3$ (220,80 mg, 1,04 mmol) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 14 h más. El análisis por LCMS mostró que se había detectado la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 5 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 5~15 %/éter de petróleo a 50 ml/min) para proporcionar (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (90 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 522,2

Etapa 6. Síntesis de 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona (11)

A una solución de (4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (70 mg, 134,20 µmol) en DCM (0,7 ml) se le añadió TFA (323,40 mg, 2,84 mmol, 210 µl) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado un 60 % de la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona (90 mg, en bruto, sal 2TFA) en forma de un aceite de color amarillo.

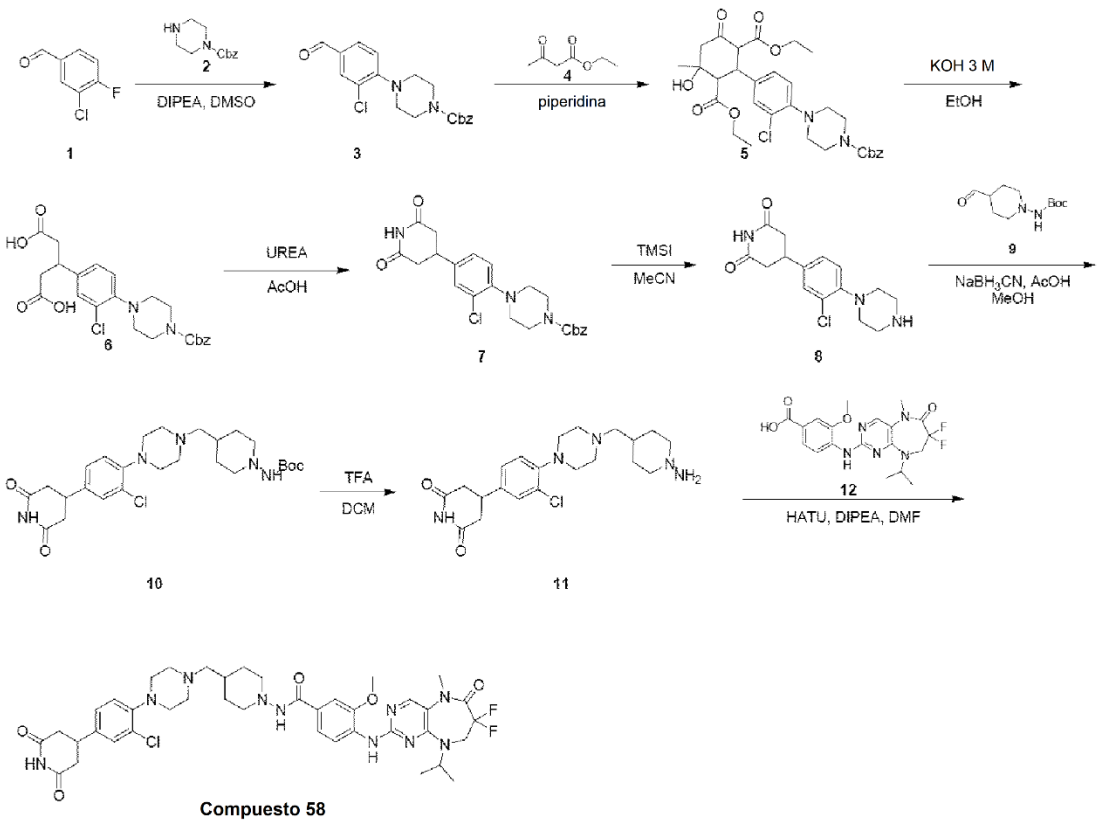
Etapa 7. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 57)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (45 mg, 106,79 µmol) y HATU (48,72 mg, 128,15 µmol) en DMF (0,9 ml) se le añadió DIPEA (29,68 mg, 229,64 µmol, 40 µl) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min. A continuación, se añadió una solución de 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3,5-difluorofenil)piperidin-2,6-diona (90,00 mg, 182,04 µmol, sal 2HCl) y DIPEA (138,02 mg, 1,07 mmol, 186,00 µl) en DMF (0,9 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado la masa deseada. La mezcla se diluyó con H_2O (10 ml), se extrajo con EtOAc (10 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a

presión reducida. El producto en bruto se purificó por TLC prep. (diclorometano: metanol = 10:1) dos veces, el producto impuro se purificó de nuevo por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 43 %-73 %, 8 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(4-((4-(4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)-2,6-difluorofenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-3-metoxibenzamida (8,0 mg, 9,21 µmol, 8,63 % de rendimiento, 95 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 825,4

^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,95-10,86 (m, 1H), 9,36-9,25 (m, 1H), 8,35-8,27 (m, 1H), 8,25-8,18 (m, 1H), 7,92-7,85 (m, 1H), 7,47-7,40 (m, 2H), 7,14-7,05 (m, 1H), 7,05-7,01 (m, 1H), 4,94-4,83 (m, 1H), 4,08-4,00 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,31-3,29 (m, 6H), 3,11-3,07 (m, 2H), 3,05-2,97 (m, 2H), 2,81-2,74 (m, 4H), 2,65-2,61 (m, 6H), 2,23-2,13 (m, 2H), 1,83-1,72 (m, 2H), 1,57-1,47 (m, 1H), 1,32-1,18 (m, 8H).

Ejemplo 58. Síntesis de N-(4-((4-(2-cloro-4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamida (Compuesto 58)



Etapa 1. Síntesis de 4-(2-cloro-4-formilfenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (3)

A una solución de 3-cloro-4-fluorobenzaldehído (5 g, 31,53 mmol) y piperazin-1-carboxilato de bencilo (7,29 g, 33,11 mmol, 6,40 ml) en DMSO (100 ml) se le añadió DIPEA (12,22 g, 94,59 mmol, 16,48 ml) y la mezcla se agitó a 100 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró que se detectó un 69 % de la masa deseada. La mezcla se diluyó con H_2O (100 ml) y se extrajo con EtOAc (30 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 15~25 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 4-(2-cloro-4-

formilfenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (8,79 g, 24,01 mmol, 76,14 % de rendimiento, 98 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 359,1

Etapa 2. Síntesis de 2-(4-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-3-clorofenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (5)

A una solución de 4-(2-cloro-4-formilfenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (8,79 g, 24,50 mmol) en 3-oxobutanoato de etilo (18,54 g, 142,46 mmol, 18 ml) se le añadió piperidina (629,41 mg, 7,39 mmol, 730 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 28 h. El análisis por LCMS mostró un 69 % de la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 120 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 40~60 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar 2-(4-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-3-clorofenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (15,1 g, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 601,1

Etapa 3. Síntesis de ácido 3-(4-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-3-clorofenil)pentanodioico (6)

A una solución de 2-(4-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-3-clorofenil)-4-hidroxi-4-metil-6-oxociclohexano-1,3-dicarboxilato de dietilo (15,1 g, 25,12 mmol) en EtOH (150 ml) se le añadió KOH (3 M, 42 ml), y la mezcla se agitó a 80 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró un 36 % de la masa deseada. La mezcla se concentró para eliminar el EtOH. El producto en bruto se diluyó con H_2O (100 ml) y la mezcla se lavó con EtOAc (30 ml x 3), la capa orgánica combinada se extrajo con H_2O (20 ml), la capa acuosa se ajustó a pH = 6 con HCl 1 N, a continuación se extrajo con EtOAc (30 ml x 3), la capa

orgánica combinada se lavó con H_2O (20 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de gradiente de EtOAc al 60~80 %/éter de petróleo a 100 ml/min) para proporcionar ácido 3-(4-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-3-clorofenil)pentanodioico (4 g, 7,55 mmol, 30,06 % de rendimiento, 87 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 461,2.

Etapa 4. Síntesis de 4-(2-cloro-4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)fenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (7)

Una solución de ácido 3-(4-(4-((benciloxi)carbonil)piperazin-1-il)-3-clorofenil)pentanodioico (1,5 g, 2,83 mmol, 87 % de pureza) y UREA (850 mg, 14,15 mmol, 758,93 µl) en AcOH (15 ml) se agitó a 125 °C durante 14 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado un 93 % de la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida. El producto en bruto se diluyó con H_2O (30 ml) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. A continuación, la mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con H_2O (50 ml). La torta de filtro se recogió y se secó a presión reducida para proporcionar 4-(2-cloro-4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)fenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (1,2 g, 2,47 mmol, 87,28 % de rendimiento, 91 % de pureza) en forma de un sólido de color amarillo. $MS(M+H)^+$ = 441,9

Etapa 5. Síntesis de 4-(3-cloro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (8)

A una solución de 4-(2-cloro-4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)fenil)piperazin-1-carboxilato de bencilo (1,1 g, 2,49 mmol) en MeCN (10 ml) se le añadió TMSI (1,99 g, 9,96 mmol, 1,36 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis

por LCMS mostró que el material de partida se había consumido y un 50 % de la masa deseada. La mezcla se inactivó con hielo-agua (30 ml) y se lavó con MTBE (10 ml x 3), y la capa orgánica combinada se extrajo con H_2O (10 ml). La fase acuosa se liofilizó. El producto en bruto se purificó por HPLC prep. (columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; % de B: 1 %-25 %, 10 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar 4-(3-cloro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (210 mg, 593,56 µmol, 23,85 % de rendimiento, sal FA) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 308,1

Etapa 6. Síntesis de (4-((4-(2-cloro-4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (10)

A una solución de 4-(3-cloro-4-(piperazin-1-il)fenil)piperidin-2,6-diona (190 mg, 537,03 µmol, sal FA) y (4-formilpiperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (360 mg, 1,58 mmol) en MeOH (4 ml) se le añadió AcOH (31,50 mg, 524,55 µmol, 30 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. A continuación, se añadió $NaBH_3CN$ (101,33 mg, 1,61 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 2 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado la masa deseada. La mezcla se inactivó con $NaHCO_3$ (15 ml), se extrajo con EtOAc (10 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con H_2O (10 ml x 2), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (columna flash de sílice SepaFlash® de 5 g, eluyente de gradiente de MeOH al 0~15 %/EtOAc a 50 ml/min) para proporcionar (4-((4-(2-cloro-4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (200 mg, 353,80 µmol, 65,88 % de rendimiento, 92 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. MS$(M+H)^+$ = 520,2.

Etapa 7. Síntesis de 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-clorofenil)piperidin-2,6-diona (11)

A una solución de (4-((4-(2-cloro-4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)carbamato de *terc*-butilo (0,1 g, 192,28 µmol) en DCM (1 ml) se le añadió TFA (323,40 mg, 2,84 mmol, 210,00 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado un 92 % de la masa deseada. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-clorofenil)piperidin-2,6-diona (120 mg, en bruto, 2TFA) en forma de un aceite de color amarillo. MS(M+H)$^+$ = 420,2

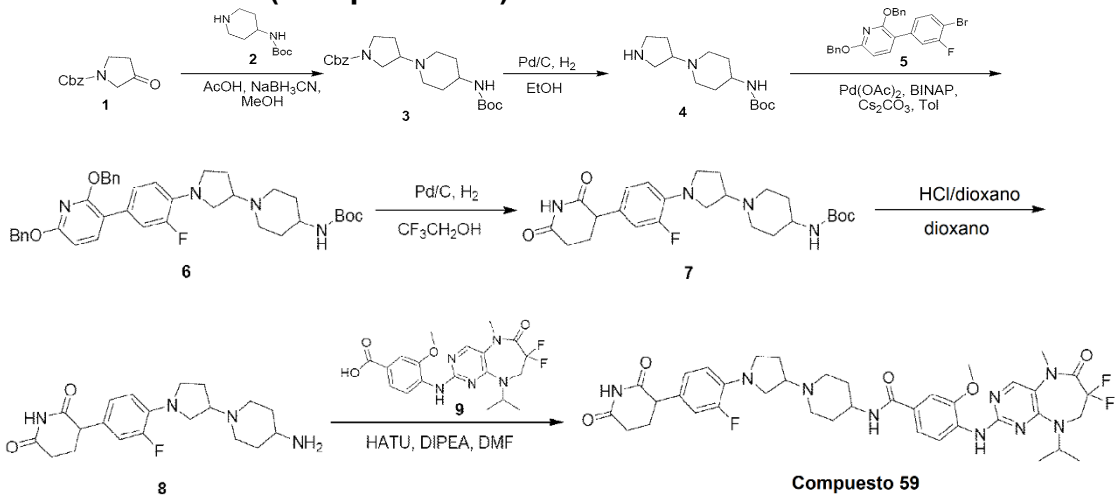
Etapa 8. Síntesis de N-(4-((4-(2-cloro-4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamida (Compuesto 58)

A una solución de ácido 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzoico (60 mg, 142,38 µmol) y HATU (64,97 mg, 170,86 µmol) en DMF (1 ml) se le añadió DIPEA (36,80 mg, 284,77 µmol, 49,60 µl), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 15 min. A continuación, se añadió una solución de 4-(4-(4-((1-aminopiperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-clorofenil)piperidin-2,6-diona (120 mg, 185,19 µmol, sal 2TFA) y DIPEA (222,60 mg, 1,72 mmol, 0,3 ml) en DMF (1 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que se había detectado la masa deseada. La mezcla se diluyó con H_2O (10 ml), se extrajo con EtOAc (10 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml x 2), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El

producto en bruto se purificó por HPLC prep. (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; % de B: 42 %-72 %, 8 min) y el eluyente se liofilizó para proporcionar N-(4-((4-(2-cloro-4-(2,6-dioxopiperidin-4-il)fenil)piperazin-1-il)metil)piperidin-1-il)-4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-3-metoxibenzamida (41,2 mg, 48,04 µmol, 33,74 % de rendimiento, 96 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. $MS(M+H)^+$ = 823,5

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,87-10,81 (m, 1H), 9,27 (s, 1H), 8,32-8,27 (m, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,47-7,41 (m, 2H), 7,38-7,36 (m, 1H), 7,26-7,20 (m, 1H), 7,16-7,10 (m, 1H), 4,96-4,82 (m, 1H), 4,09-3,98 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,42-3,34 (m, 3H), 3,30 (s, 3H), 3,04-2,99 (m, 2H), 2,98-2,94 (m, 2H), 2,84-2,73 (m, 4H), 2,69-2,63 (m, 2H), 2,61-2,57 (m, 4H), 2,25-2,19 (m, 2H), 1,81-1,72 (m, 2H), 1,59-1,48 (m, 1H), 1,28-1,20 (m, 8H).

Ejemplo 59. Síntesis de 4-((7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-il)amino)-N-(1-(1-(4-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)piperidin-4-il)-3-metoxibenzamida (Compuesto 59)



El compuesto 59 se sintetizó mediante el método descrito en el esquema similar al método descrito en los Ejemplos anteriores.

MS(M+H)$^+$ = 778,9, ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 10,79 (s, 1H), 8,32 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,14 (s a, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,54-7,46 (m, 2H), 7,01-6,84 (m, 2H), 6,79-6,67 (m, 1H), 4,95-4,83 (m, 1H), 4,05 (t a, *J* = 13,3 Hz, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,82-3,70 (m, 2H), 3,54-3,37 (m, 3H), 3,31 (s, 3H), 3,27-3,12 (m, 2H), 3,10-2,86 (m, 3H), 2,62-2,55 (m, 1H), 2,23-2,07 (m, 4H), 2,03-1,96 (m, 1H), 1,90-1,73 (m, 3H), 1,69-1,52 (m, 2H), 1,25 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H).

<Ejemplos experimentales>

1. Ensayo de transferencia de Western para PLK1

(1) Cultivo de la línea celular HeLa

La línea celular HeLa se adquirió en el Korea Cell Line Bank (KCLB), Seúl, Corea. El pase en cultivo celular se mantuvo en P115 a P125.

Para el recuento celular, se usaron un contador de células (Thermo Fisher Scientific Inc., catálogo N.º AMQAX1000) y una solución de azul de tripano al 0,4 %.

Para el cultivo celular, se usaron DMEM (Gibco, Cat. N.º 1195-65; Lote N.º 2085318), FBS (Gibco, Cat. N.º 16000-044; Lote N.º 2097593), penicilina/estreptomicina (PS) (Gibco, Cat. N.º 15140-122; Lote N.º 2058855), una placa de cultivo celular de 100 mm^2 (SPL, Cat. N.º 20100), una placa de cultivo celular de 150 mm^2 (SPL, Cat. N.º 20150), una placa de cultivo de 12 pocillos (SPL, Cat. N.º 30012), PBS pH 7,4 (Gibco, Cat. N.º 10010-023; Lote N.º 2085080), TrypLE™ Express (Gibco, Cat. N.º 12605-010; Lote N.º 2070638), una cámara de recuento (hematocitómetro) (Hirschmann, Cat. N.º 8100204) y una solución de azul de tripano al 0,4 % (DYNEBIO, Cat. N.º CBT3710; Lote

N.º 20190723).

(2) Tratamiento de compuestos de la presente invención

Se sembraron 2 x 10^5 células para cada pocillo de una placa de 12 pocillos (SPL), y las células se cultivaron en el medio de cultivo en un volumen total de 2 ml.

Los compuestos de los Ejemplos se disolvieron completamente en DMSO y se usaron en el experimento, y la timidina se disolvió completamente en DW y se usó en el experimento. Para el bloqueo con timidina, los productos se trataron con 2 mM de timidina (Sigma-Aldrich Cat. N.º T9250-5G) y a continuación se incubaron durante 24 horas.

Para la liberación y el tratamiento químico, el medio se succionó y se lavó 3 veces con PBS 1X. Se añadió medio completo, seguido de incubación durante 4 horas en una incubadora de CO_2. Cada compuesto se diluyó tres veces desde la concentración más alta de 3 μM hasta la concentración más baja y a continuación se incubó de nuevo durante 6 horas.

(3) Transferencia de Western

Para SDS-PAGE y la transferencia de Western, se usaron tampón de lisis RIPA 1X (Rockland, Cat. N.º MB-030-0050; Lote N.º 39751), cóctel inhibidor de proteasa 100X (Quartett, Cat. N.º PPI1015; Lote N.º PCO50038424), kit de ensayo de proteínas BCA Pierce™ (ThermoScientific, Cat. N.º 23225; Lote N.º UC276876), estándar de albúmina (ThermoScientific, Cat. N.º 23209; Lote N.º UB269561), gel sin tinción al 4-15 % Mini-PROTEAN TGX (Bio-rad, Cat. N.º 4568085; Lote N.º L007041B), tampón tris/glicina/SDS 10X (Bio-rad, Cat. N.º 1610732; Lote N.º 10000044375B); TBS 10X (Bio-rad, Cat. N.º 1706435; Lote N.º 1000045140B), Tween 20 al 10 % (Cat. N.º 1610781; Lote

N.º L004152B), estándar de proteínas de color de amplia gama (NEB, Cat. N.º P7719S; Lote N.º 10040349), tampón de muestra Laemmli 4X (Bio-rad, Cat. N.º 1610747; Lote N.º L004133B), β-mercaptoetanol (Sigma-Aldrich, Cat. N.º M3148; Lote N.º 60-24-2), tampón de bloqueo (TBS) SuperBlock™ T20 (ThermoScientific, Cat. N.º 37536; Lote N.º UC282578), solución de azida de sodio 1 M (Sigma-Aldrich, Cat. N.º 08591-1ml-F; Lote N.º BCBV4989), IgG de α-conejo pAb a Ms (abcam, Cat. N.º ab97046; Lote N.º GR3252115-1), IgG de α-cabra pAb a Rb (CST, Cat. N.º 7074S; Lote N.º 28), α-GAPDH (abcam, Cat. N.º ab8245; Lote N.º GR3275542-2), α-PLK1 (CST, Cat. N.º 208G4), α-BRD4 (CST, Cat. N.º 13440S), reactivos de transferencia de Western ECL™ Prime (GE Healthcare, Cat. N.º RPN2232; Lote N.º 17001655), solución Ponceau S (Sigma-Aldrich, Cat. N.º P7170; Lote N.º SLBV4112), leche desnatada Difco™ (BD, Cat. N.º 232100; Lote N.º 8346795) y pilas regulares iBlot® 2 NC (Invitrogen, Cat. N.º IB23001; Lote N.º 2NR110619-02).

Para la recogida de células, primero se separaron las células de la placa usando tripsina y a continuación se lavaron con el medio y PBS. Específicamente, el medio se eliminó por succión, se lavó con 1 ml de PBS y el PBS se eliminó por succión. Las células se trataron con 0,5 ml de TrypLE™ Express a 37 ℃ durante 7 minutos para separar las células y a continuación se añadieron 0,5 ml de medio completo para recoger 1 ml de solución de cultivo celular. A continuación, se centrifugó 1 ml de la solución de recogida de células a 8.000 rpm durante 120 segundos y el sobrenadante se eliminó. Después del lavado con 0,2 ml de PBS, se eliminó el PBS.

Para la lisis celular, se añadió un tampón de lisis y se eliminaron los restos celulares para obtener un lisado celular. Específicamente, las células se trataron

con 70 µl de tampón RIPA 1X que contenía un inhibidor de proteasa y se incubaron durante 30 minutos en hielo. A continuación, las células se centrifugaron a 4 ℃ y 15.000 rpm durante 10 minutos para obtener un lisado celular.

A continuación, se obtuvo una curva estándar usando el ensayo BCA y se cuantificó la masa de proteína en el lisado sustituyendo la ecuación de la curva. La mezcla se incubó a 37 ℃ durante 30 minutos usando 20 µl de solución estándar o de muestra y 200 µl de BCA o solución de Bradford, y se midió a 562 nm de absorbancia. Las muestras se prepararon añadiendo tampón de muestra 4X de modo que la cantidad de proteína añadida a cada pocillo fuera de 15 µg.

La electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) se realizó estableciendo un tiempo de ejecución de 100 minutos a 120 V en un gel sin tinción al 4-15 % Mini-PROTEAN TGX (15 pocillos). La transferencia se realizó en pilas mini iBlot® 2 NC en el modo P0 del sistema de transferencia en seco. Después de la tinción con una solución Ponceau S, se realizó el bloqueo durante 1 hora con un tampón de bloqueo (Thermo). Después del lavado con TBS 1X que contenía Tween 20 al 0,05 %, el producto se hizo reaccionar a 4 ℃ durante 16 horas con anticuerpo anti PLK1 (CST) (1:500), anticuerpo anti BRD4 (Cell signaling) (1:1000) o anticuerpo anti GAPDH (abcam) (1:10.000) en TBS-T 1X como anticuerpo primario. Después de lavar tres veces durante 10 minutos con TBS 1X que contenía Tween20 al 0,05 %, el producto se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora con anticuerpo anti ratón (abcam) (1:10000) o anticuerpo anti conejo (CST) (1:5000) en TBS-T 1X como anticuerpo secundario. A continuación, después de lavar tres veces durante

10 minutos con TBS 1X que contenía Tween 20 al 0,05 %, el producto se detectó con una solución de trabajo ECL (1:1).

Para analizar los resultados, se usó un analizador de imágenes (GE) para obtener los datos finales de la transferencia. Como resultado, se confirmó que todos los compuestos de la presente invención degradaban significativamente la proteína PLK1.

2. Ensayo de luciferasa para PLK1

(1) Preparación y cultivo de la línea celular HeLa LgBit (Plk1-HiBit KI)

Se preparó una línea celular HeLa en la que se transfectó y se expresó de manera estable el vector LgBit. A continuación, después de construir ARNg y un donante para expresar la secuencia de aminoácidos HiBit detrás del extremo C del gen Plk1, que era inherente a la célula, se insertó en la célula junto con un vector capaz de expresar CRISPR/Cas9. Sólo se seleccionaron, se subcultivaron y se usaron las células en las que se completó la inserción y la inserción génica había progresado.

Para el cultivo celular, se usaron DMEM (Gibco, Cat. N.º 11995-065; Lote N.º 2467189), FBS (Gibco, Cat. N.º 16000-044; Lote N.º 2420173P), penicilina/estreptomicina (PS)(Gibco, Cat. N.º 15140-122; Lote N.º 2321114), una placa de cultivo celular de 100 mm^2 (SPL, Cat. N.º 20100), una placa de cultivo celular de 150 mm^2 (SPL, Cat. N.º 20150), una placa de cultivo de 96 pocillos (SPL, Cat. N.º 30196), PBS pH 7,4 (Gibco, Cat. N.º 10010-023; Lote N.º 2085080), TrypLE™ Express (Gibco, Cat. N.º 12605-010; Lote N.º 2323417), una cámara de recuento (hematocitómetro) (Marienfeld Superior, Cat. N.º 0650010) y una solución de azul de tripano al 0,4 % (DYNEBIO, Cat. N.º CBT3710; Lote N.º 20211201).

(2) Tratamiento de compuestos de la presente invención y método de ensayo de luciferasa

Los compuestos de los Ejemplos se disolvieron completamente en DMSO (Sigma-Aldrich Cat. N.º D2438, Lote N.º RNBJ9566) y se usaron en el experimento.

En el caso de HeLa LgBit (Plk1-HiBit KI), los compuestos se trataron después de ser liberados después del bloqueo con timidina, y el proceso fue el siguiente. La timidina (Sigma-Aldrich Cat. N.º T9250-5G) se disolvió completamente en DW y se usó en el experimento. Para el bloqueo con timidina, los productos se trataron con 2 mM de timidina y a continuación se incubaron durante 24 horas. Para la liberación y el tratamiento químico, el medio se succionó y se lavó con PBS 1X. Se añadió TrypLE™ y se incubó en una incubadora de CO_2 a 37 ℃ durante 5 min. Las células neutralizadas mediante la adición de medio completo se contaron mediante un contador. Para cada pocillo de una placa de cultivo de 96 pocillos (SPL), se sembraron 3,3 x 10^4 células y un volumen medio total de 150 µl y se incubaron en una incubadora de CO_2.

Cada línea celular se incubó en una incubadora de CO_2 durante 18 horas y se añadió endurazina a cada pocillo hasta completar el 4 % del volumen total. Después de añadir el compuesto de la presente invención en una placa de color blanco de 96 pocillos (SPL) hasta una concentración de 300 nM, la longitud de onda del lector de placas (BMG Labtech, CLARIOstar Plus) se ajustó a 470-480 nM y a continuación se siguió la luminiscencia en tiempo real. Después de 9 horas, se obtuvo el valor de luminiscencia y se mostró como un gráfico de barras a través del programa Excel.

Los resultados se muestran en la Tabla 2 a continuación y en las figuras

1 y 2.

【Tabla 2】

Compuesto de ejemplo	Actividad
Compuesto 1	+++
Compuesto 2	++
Compuesto 3	++
Compuesto 4	++
Compuesto 5	++
Compuesto 6	++
Compuesto 7	+++
Compuesto 8	++
Compuesto 9	++
Compuesto 10	++
Compuesto 11	++
Compuesto 12	++
Compuesto 13	++
Compuesto 14	++
Compuesto 15	++
Compuesto 16	++
Compuesto 17	++
Compuesto 18	++
Compuesto 19	++

Compuesto de ejemplo	Actividad
Compuesto 21	++
Compuesto 22	++
Compuesto 23	+++
Compuesto 24	++
Compuesto 25	++
Compuesto 26	++
Compuesto 27	++
Compuesto 28	++
Compuesto 29	++
Compuesto 30	+++
Compuesto 31	+++
Compuesto 32	+++
Compuesto 33	++
Compuesto 34	++
Compuesto 35	++
Compuesto 36	++
Compuesto 37	++
Compuesto 38	+++
Compuesto 39	++
Compuesto 40	++
Compuesto 41	++

Compuesto de ejemplo	Actividad
Compuesto 42	++
Compuesto 43	+++
Compuesto 44	+++
Compuesto 45	+++
Compuesto 46	+++
Compuesto 51	+
Compuesto 54	++
Compuesto 59	++

En la Tabla 2, la actividad representa la relación entre el valor de luminiscencia de cada grupo de tratamiento con Compuesto de ejemplo y el grupo de tratamiento con DMSO (+++: <0,3, ++ <0,6, + <0,7).

3. Ensayo de viabilidad celular para la línea celular H526

(1) Cultivo de la línea celular NCI-H526

La línea celular NCI-H526 (en lo sucesivo H526) se adquirió en el Korea Cell Line Bank (KCLB, Seúl, Corea). Para el cultivo celular, se usaron RPMI 1640 (Gibco, Cat. N.º 22400-089; Lote N.º 2277021), FBS (Gibco, Cat. N.º 16000-044; Lote N.º 2351176P), penicilina/estreptomicina (PS) (Gibco, Cat. N.º 15140-122; Lote N.º 2321114), un matraz de cultivo celular 75T (SPL, Cat. N.º 71075), un matraz de cultivo celular 175T (SPL, Cat. N.º 71175), una placa de cultivo celular de 96 pocillos (SPL, Cat. N.º 30096), PBS pH 7,4 (Gibco, Cat. N.º 10010-023; Lote N.º 2085080), TrypLE™ Express (Gibco, Cat. N.º 12605-010; Lote N.º 2323417), una cámara de recuento (hematocitómetro) (Marienfeld Superior,

Cat. N.º 0650010) y una solución de azul de tripano al 0,4 % (DYNEBIO, Cat. N.º CBT3710; Lote N.º 20211201).

(2) Tratamiento de compuestos de la presente invención y método de ensayo de viabilidad celular

Los compuestos de los Ejemplos se disolvieron completamente en DMSO (Sigma-Aldrich Cat. N.º D2438, Lote N.º RNBJ9566) y se usaron en el experimento.

Se sembraron 3 x 10^4 células para cada pocillo de una placa de 96 pocillos (SPL), y las células se cultivaron en un volumen total de 150 µl.

Cada compuesto se diluyó 3 veces desde la concentración más alta de 3000 nM hasta la concentración más baja de 0,46 nM. Después de tratar el compuesto en cada pocillo para obtener un volumen total de 200 µl, se cultivó en una incubadora de CO_2 (Thermo Fisher Science, Cat. N.º 4111) durante 5 días.

A continuación, después de tratar 20 µl de EZ-Cytox (DOGEN, Cat. N.º EZ-3000, Lote N.º DLS2109) en cada pocillo, se cultivó en una incubadora de CO_2 durante 4 horas. La absorbancia de la muestra completamente cultivada se midió ajustando la longitud de onda de un lector de placas (BMG Labtech, CLARIOstar Plus) a 450 nM, y se midió después de agitar durante 3 minutos en un lector de placas antes de la medición. El valor medido final se dispuso con el programa Excel, se mostró un gráfico a través del programa Prism-GraphPad y se midió el valor de CI_{50}.

Los resultados se muestran en la Tabla 3 a continuación.

【Tabla 3】

Ensayo de viabilidad celular para la línea celular H526

Compuesto de ejemplo	Actividad
Compuesto 1	B
Compuesto 2	A
Compuesto 3	C
Compuesto 4	A
Compuesto 5	D
Compuesto 6	E
Compuesto 7	A
Compuesto 9	B
Compuesto 10	B
Compuesto 11	B
Compuesto 12	B
Compuesto 13	A
Compuesto 14	B
Compuesto 15	A
Compuesto 16	C
Compuesto 17	B
Compuesto 18	C
Compuesto 19	A
Compuesto 21	B
Compuesto 22	B
Compuesto 23	A

Compuesto de ejemplo	Actividad
Compuesto 24	C
Compuesto 25	D
Compuesto 26	A
Compuesto 27	A
Compuesto 28	A
Compuesto 29	A
Compuesto 30	C
Compuesto 31	A
Compuesto 32	A
Compuesto 33	A
Compuesto 35	A
Compuesto 36	A
Compuesto 38	B
Compuesto 39	B
Compuesto 40	A
Compuesto 42	A
Compuesto 43	A
Compuesto 44	A
Compuesto 45	A
Compuesto 46	C
Compuesto 54	A

En la Tabla 3, la actividad representa el valor de CI_{50} de cada grupo de tratamiento con Compuesto de ejemplo para la línea celular H526 (A: <30 nM, B: <50 nM, C: <100 nM, D: <200 nM, E: <400 nM).

4. Ensayo de viabilidad celular para la línea celular MRC-5

(1) Cultivo de la línea celular MRC-5

La línea celular MRC-5 se adquirió en el Korea Cell Line Bank (KCLB), Seúl, Corea. El pase de las células cultivadas se mantuvo en P15.

Para el cultivo celular, se usaron MEM/EBSS (Hyclone, Cat. N.º SH30024.01; Lote N.º AG29697698), FBS (Gibco, Cat. N.º 16000-044; Lote N.º 2234018P), penicilina/estreptomicina (PS) (Gibco, Cat. N.º 15140-122; Lote N.º 2211099), un matraz de cultivo celular 175T (SPL, Cat. N.º 71175), una placa de cultivo celular de 96 pocillos (SPL, Cat. N.º 30096), PBS pH 7,4 (Gibco, Cat. N.º 10010-023; Lote N.º 2085080), TrypLE™ Express (Gibco, Cat. N.º 12605-010; Lote N.º 2070638), una cámara de recuento (hematocitómetro) (Hirschmann, Cat. N.º 8100204) y una solución de azul de tripano al 0,4 % (DYNEBIO, Cat. N.º CBT3710; Lote N.º 20190723).

(2) Tratamiento de compuestos de la presente invención

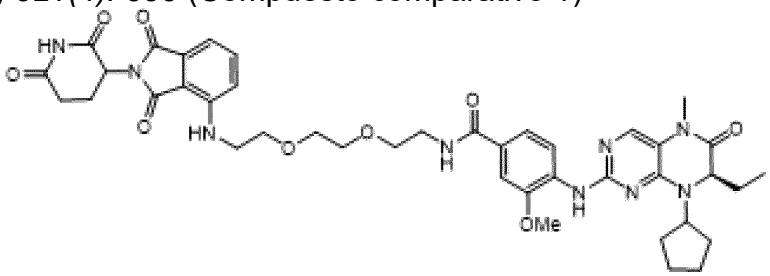
La línea celular MRC-5 cultivada en un matraz de cultivo celular 175T se aisló usando TrypLE™ Express. Se sembraron 6 x 10^3 células para cada pocillo de una placa de 96 pocillos (SPL), y las células se cultivaron en un volumen total de 150 µl.

Los compuestos de los Ejemplos se disolvieron completamente en DMSO (Sigma-Aldrich, Cat. N.º D2438-50ML, Lote N.º RNBK6387) y se usaron en el experimento. Cada compuesto se diluyó 3 veces desde la concentración más

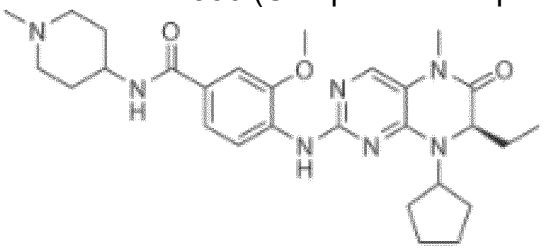
alta de 10000 nM hasta la concentración más baja de 1,52 nM. Cada pocillo se mezcló con un medio y se trató, y el volumen se ajustó a 50 µl, de modo que el volumen total de cada pocillo fue de 200 µl. A continuación, se cultivó en una incubadora de CO_2 a 37 ℃ (Thermo Fisher Science, Cat. N.º 4111, Lote N.º 300512709) durante 5 días.

Se usaron los siguientes compuestos como ejemplos comparativos y el ensayo de viabilidad celular se realizó de la misma manera que en los compuestos de los Ejemplos.

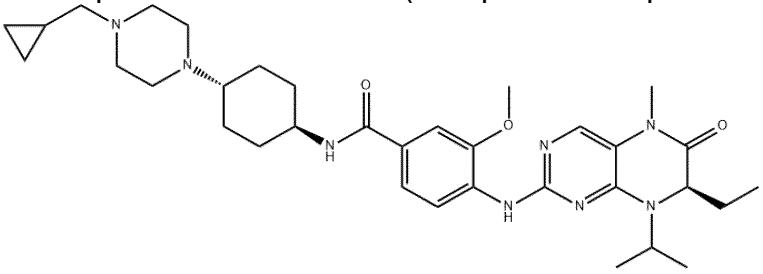
Ejemplo comparativo 1. Compuesto de ejemplo descrito en *Mu et al. BBRC, 2020, 521(4): 833* (Compuesto comparativo 1)



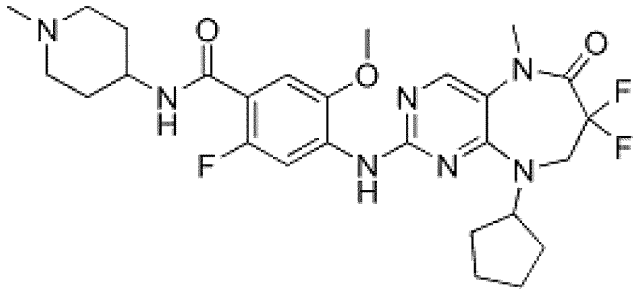
Ejemplo comparativo 2. BI2536 (Compuesto comparativo 2)



Ejemplo comparativo 3. Volasertib (Compuesto comparativo 3)



Ejemplo comparativo 4. TAK960 (Compuesto comparativo 4)



(3) Experimento de citotoxicidad

Después de tratar 20 µl de EZ-Cytox (DOGEN, Cat. N.º EZ-3000, Lote N.º DLS2112) en cada pocillo de una placa completamente cultivada, se cultivó en una incubadora de CO_2 a 37 ℃ durante 4 horas. La placa de 96 pocillos se colocó en un lector de placas (BMG Labtech, Clariostar Plus), se mezcló durante 2 minutos, y la absorbancia se midió a una longitud de onda de 450 nM. Los datos se convirtieron en gráficos usando el programa Prism (ver. 9).

Los resultados se muestran en la Tabla 4 y la Tabla 5 a continuación.

【Tabla 4】

Ensayo de viabilidad celular para la línea celular MRC-5

Compuesto de ejemplo	**Actividad**
Compuesto 1	N.D
Compuesto 2	N.D
Compuesto 3	N.D
Compuesto 4	N.D
Compuesto 5	N.D
Compuesto 6	12316
Compuesto 7	12980
Compuesto 9	16622

Compuesto de ejemplo	Actividad
Compuesto 10	15563
Compuesto 11	N.D
Compuesto 12	24558
Compuesto 13	N.D
Compuesto 14	14673
Compuesto 15	17734
Compuesto 16	N.D
Compuesto 17	N.D
Compuesto 18	N.D
Compuesto 19	13136
Compuesto 21	12572
Compuesto 22	N.D
Compuesto 23	N.D
Compuesto 25	N.D
Compuesto 31	N.D
Compuesto 32	N.D
Compuesto 33	N.D
Compuesto 35	N.D
Compuesto 36	N.D
Compuesto 38	N.D
Compuesto 39	5804

Compuesto de ejemplo	Actividad
Compuesto 42	N.D
Compuesto 43	N.D
Compuesto 44	N.D
Compuesto 45	N.D
Compuesto 46	N.D
Compuesto 54	N.D

En la Tabla 4, la actividad representa el valor de CI_{50} (nM) de cada grupo de tratamiento con Compuesto de ejemplo para la línea celular MRC-5. N.D. (no determinado) significa que la citotoxicidad no apareció hasta 10 μM. Como resultado, se confirmó que todos los compuestos de la presente invención exhibían específicamente un alto nivel de citotoxicidad en líneas celulares cancerosas en lugar de líneas celulares normales.

【Tabla 5】

Ensayo de viabilidad celular para la línea celular MRC-5

Compuesto comparativo	Actividad
Compuesto comparativo 1	106,6
Compuesto comparativo 2	3085,4
Compuesto comparativo 3	2939,3
Compuesto comparativo 4	9152,5

En la Tabla 5, la actividad representa el valor de CI_{50} (nM) de cada grupo

de tratamiento con Compuesto comparativo para la línea celular MRC-5. En particular, se encontró que el Compuesto comparativo 1, un compuesto PROTAC conocido, exhibió un alto nivel de citotoxicidad en líneas celulares normales, a diferencia de los Compuestos de ejemplo de la presente invención.