

CONJUGADOS DE PIRROLOBENZODIAZAPINA DIRIGIDOS

1. REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] La presente solicitud reivindica la prioridad de la solicitud internacional n.º PCT/CN2023/088051, presentada el 13 de abril de 2023, cuyo contenido se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia.

2. CAMPO

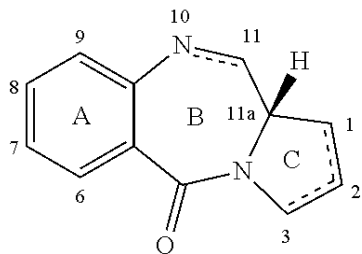
[0002] La presente divulgación se refiere a conjugados de pirrolobenzodiazepina (PBD) dirigidos.

3. LISTADO DE SECUENCIAS

[0003] La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que se presentó de forma electrónica en formato XML y se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia. Dicha copia XML, creada el 26 de marzo de 2024, se denomina «01368-0071-00PCT_SL» y tiene un tamaño de 3.443 bytes.

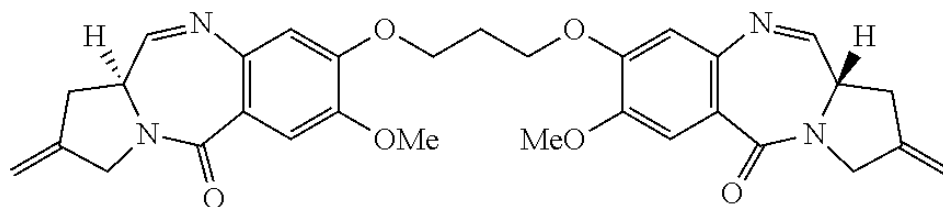
4. ANTECEDENTES

[0004] Algunas pirrolobenzodiazepinas (PBD) tienen la capacidad de reconocer y unirse a secuencias específicas de ADN; la secuencia preferida es PuGpu. El primer antibiótico antitumoral PBD, la antramicina, se descubrió en 1965 (Leimgruber, et ál., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965); Leimgruber, et ál., J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793 (1965)). Desde entonces, se han informado varios PBD de origen natural y se han desarrollado más de diez rutas sintéticas para una variedad de análogos (Thurston, et ál., Chem. Rev. 1994, 433-465 (1994)). Los miembros de la familia incluyen abbeymicina (Hochlowski, et ál., J. Antibiotics, 40, 145-148 (1987)), chicamicina (Konishi, et ál., J. Antibiotics, 37, 200-206 (1984)), DC-81 (Patente Japonesa 58-180 487; Thurston, et ál., Chem. Brit., 26, 767-772 (1990); Bose, et ál., Tetrahedron, 48, 751-758 (1992)), mazetramicina (Kuminoto, et ál., J. Antibiotics, 33, 665-667 (1980)), neotramicinas A y B (Takeuchi, et ál., J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976)), porotramicina (Tsunakawa, et ál., J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988)), protracarcina (Shimizu, et ál., J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982); Langley y Thurston, J. Org. Chem., 52, 91-97 (1987)), sibanomycinina (DC-102) (Hara, et ál., J. Antibiotics, 41, 702-704 (1988); Itoh, et ál., J. Antibiotics, 41, 1281-1284 (1988)), sibiromicina (Leber, et ál., J. Am. Chem. Soc., 110, 2992-2993 (1988)) y tomamicina (Arima, et ál., J. Antibióticos, 25, 437-444 (1972)). Las PBD tienen la siguiente estructura general:



[0005] Las PBD difieren en el número, tipo y posición de los sustituyentes, tanto en sus anillos aromáticos A como en sus anillos pirrolo C, y en el grado de saturación del anillo C. En el anillo B hay una imina ($N=C$), una carbinolamina ($NH-CH(OH)$) o un éter metílico de carbinolamina ($NH-CH(OMe)$) en la posición N10-C11, que es el centro electrofílico responsable de la alquilación del ADN. Todos los productos naturales conocidos tienen una configuración (S) en la posición quiral C11a que les proporciona un giro hacia la derecha cuando se ven desde el anillo C hacia el anillo A. Esto les da la forma tridimensional apropiada para la isohelicidad con el surco menor del ADN en forma B, lo que genera un ajuste perfecto en el sitio de unión (Kohn, In Antibiotics III. Springer-Verlag, Nueva York, págs. 3 a 11 (1975); Hurley y Needham-VanDevanter, Acc. Chem. Res., 19, 230-237 (1986)). La capacidad de las PBD de formar un aducto en el surco menor les permite interferir con el procesamiento del ADN, de ahí su uso como agentes antitumorales.

[0006] La actividad biológica de estas moléculas se puede potenciar uniendo dos unidades PBD a través de sus funcionalidades C8/C'-hidroxilo mediante un enlace alquileo flexible (Bose, DS, et ál., J. Am. Chem. Soc., 114, 4939-4941 (1992); Thurston, DE, et ál., J. Org. Chem., 61, 8141-8147 (1996)). Se cree que los dímeros de PBD forman lesiones de ADN selectivas de secuencia, como el enlace cruzado palindrómico entre cadenas 5'-Pu-GATC-Py-3' (Smellie, M., et ál., Biochemistry, 42, 8232-8239 (2003); Martin, C., et ál., Biochemistry, 44, 4135-4147), que se cree que es el principal responsable de su actividad biológica. Un ejemplo de un dímero PBD es SG2000 (SJG-136):

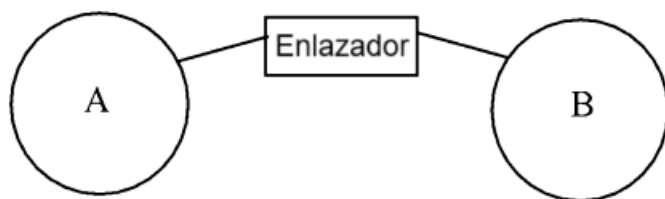


(Gregson, S., et ál., J. Med. Chem., 44, 737-748 (2001); Alley, M. C., et ál., Cancer Research, 64, 6700-6706 (2004); Hartley, J. A., et ál., Cancer Research, 64, 6693-6699 (2004)).

[0007] Debido a la forma en que estos compuestos altamente potentes actúan para reticular el ADN, los dímeros de PBD anteriores se han fabricado de manera simétrica, es decir, ambos monómeros del dímero son iguales. Esta ruta sintética permite una síntesis sencilla, ya sea construyendo la fracción dimérica de PBD simultáneamente después de haber formado ya el enlace dímero, o haciendo reaccionar fracciones monoméricas de PBD ya construidas con el grupo de enlace dímero. Estos enfoques sintéticos han limitado las opciones para la preparación de conjugados específicos que contengan PBD. Sin embargo, debido a la potencia observada de los dímeros de PBD, existe una necesidad de dímeros de PBD asimétricos que sean conjugables con agentes específicos para su uso en terapia dirigida.

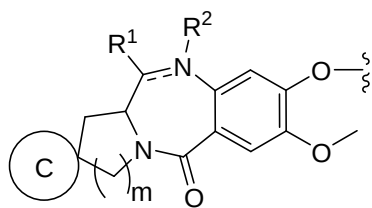
5. BREVE COMPENDIO

[0008] En la presente se proporcionan compuestos de la Fórmula (I):

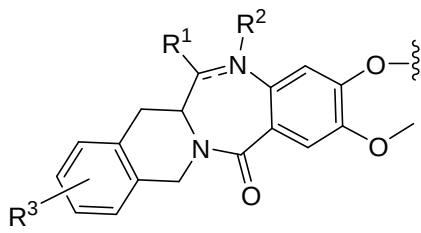


(I)

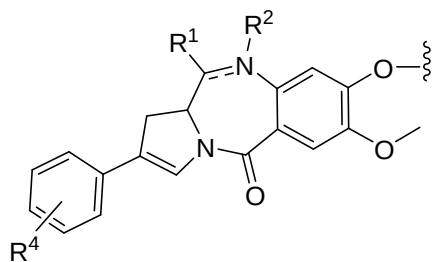
o una sal, tautómero, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este, donde cada uno del anillo A y del anillo B es, independientemente, una de las siguientes fórmulas:



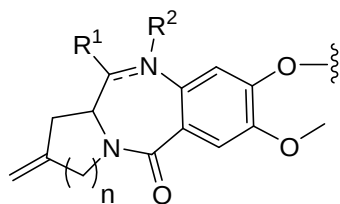
fórmula (IIa);



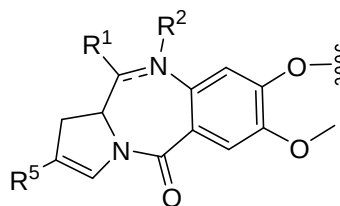
fórmula (IIb);



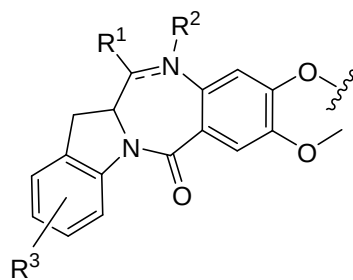
fórmula (IIc);



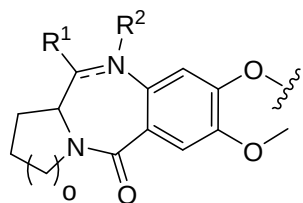
fórmula (IIId);



fórmula (IIe);



fórmula (IIIf); o



fórmula (IIg);

~~~~~ Indica el punto de unión al enlazador;

El enlazador es  $-(CH_2)_r-$ ,  $-(CH_2)_p-X-(CH_2)_q-$ , o  $-(CH_2)_p-CH=CH-(CH_2)_q-$ ;

X es  $NR^6$ ,  $NHC(=O)$ ,  $C(=O)NH$ , O,  $SO_2$ , un anillo arilo sustituido o no sustituido, un anillo heteroarilo sustituido o no sustituido, un anillo heterocíclico sustituido o no sustituido, o un anillo cíclico sustituido o no sustituido;

el anillo C es un anillo de ciclopropilo o un anillo de ciclobutilo;

cada uno de los enlaces punteados ----- entre  $-C(R^1)-$  y  $-N(R^2)-$  es, independientemente, un enlace simple o un enlace doble;

cuando el enlace punteado es un enlace simple, cada  $R^1$  es, independientemente, H u OH, y cada  $R^2$  es H;

cuando el enlace punteado es un enlace doble, cada  $R^1$  es H, y cada  $R^2$  está ausente;

cada uno de  $R^3$  y  $R^4$ , independientemente, es H,  $NH_2$ ,  $NR^aR^b$ , OH, alquilo  $C_{1-4}$ , alcoxi  $C_{1-4}$  o

5 arilo;

$R^a$  y  $R^b$  son cada uno independientemente H o alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^5$  es H, alquilo  $C_{1-4}$ , alcoxi  $C_{1-4}$  o arilo;

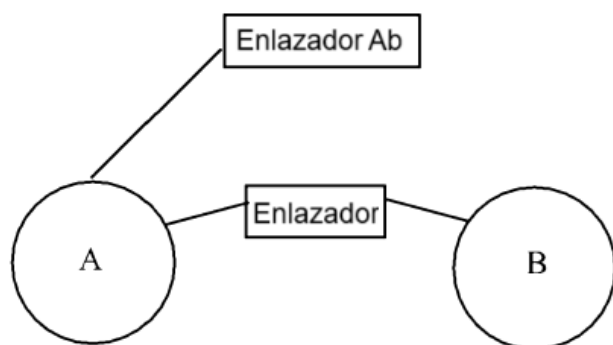
$R^6$  es H o alquilo  $C_{1-4}$ ;

cada uno de m, n y o es, independientemente, 1 o 2;

10 cada uno de r, p y q, es, independientemente, un número entero de 1 a 8; y

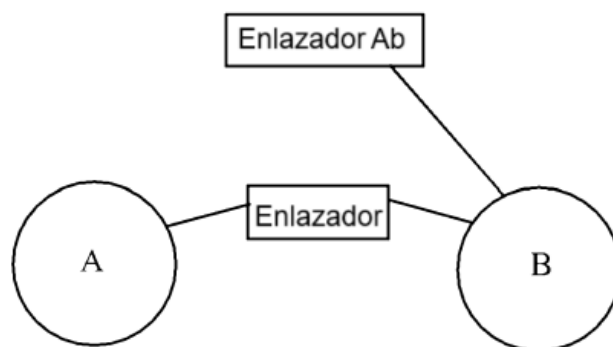
la suma de p y q es un número entero de 1 a 8.

[0009] También se proporcionan en la presente compuestos de fórmula B(i) o B(ii):



Fórmula B(i)

o

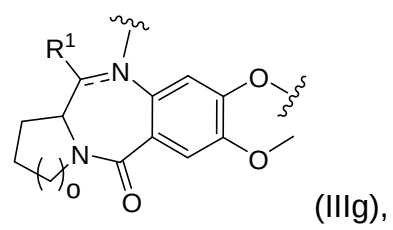
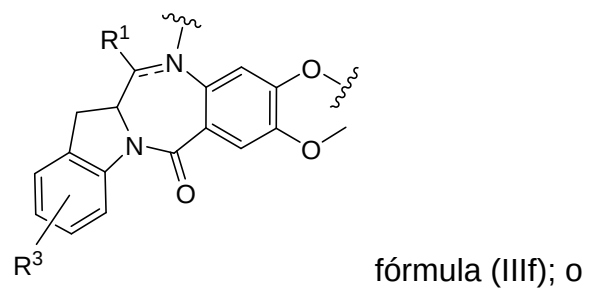
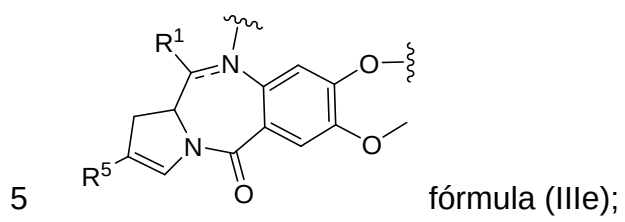
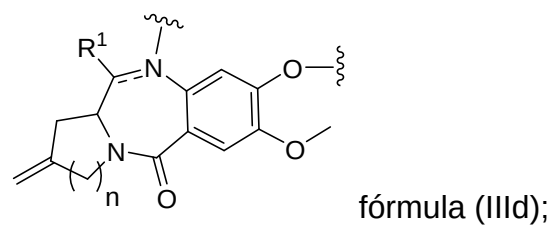
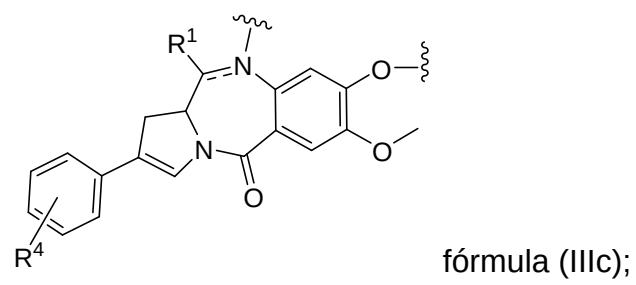
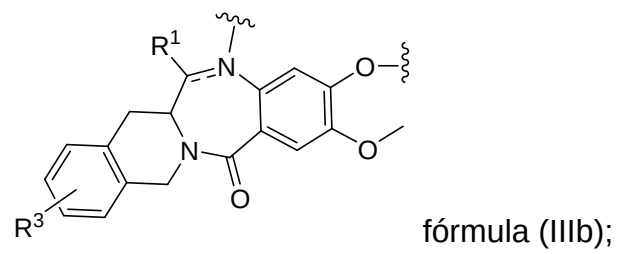
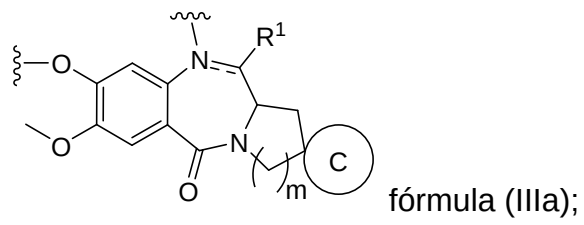


Fórmula B(ii)

, o una sal, tautómero, solvato o

15 estereoisómero farmacéuticamente aceptables de estos, donde:

cada uno del anillo A y del anillo B es, independientemente, una de las siguientes fórmulas:



~~~~~ Indica el punto de unión al enlazador o enlazador Ab;

El enlazador es $-(CH_2)_r-$, $-(CH_2)_p-X-(CH_2)_q-$, o $-(CH_2)_p-CH=CH-(CH_2)_q-$;

X es NR^6 , $NHC(=O)$, $C(=O)NH$, O, SO_2 , un anillo arilo sustituido o no sustituido, un anillo heteroarilo sustituido o no sustituido, un anillo heterocíclico sustituido o no sustituido, o un

5 anillo cíclico sustituido o no sustituido;

el anillo C es un anillo de ciclopropilo o un anillo de ciclobutilo;

cada uno de los enlaces punteados ----- entre $-C(R^1)-$ y $-N(R^2)-$ es, independientemente, un enlace simple o un enlace doble;

cuando el enlace punteado es un enlace simple, cada R^1 es, independientemente, H u OH,
10 y cada R^2 es H;

cuando el enlace punteado es un enlace doble, cada R^1 es, independientemente, H, y cada R^2 está ausente;

cada uno de R^3 y R^4 es, independientemente, H, NH_2 , NR^aR^b , OH, alquilo C_{1-4} , alcoxilo C_{1-4} o arilo;

15 R^a y R^b son cada uno independientemente H o alquilo C_{1-4} ;

R^5 es H, alquilo C_{1-4} , alcoxilo C_{1-4} o arilo;

R^6 es H o alquilo C_{1-4} ;

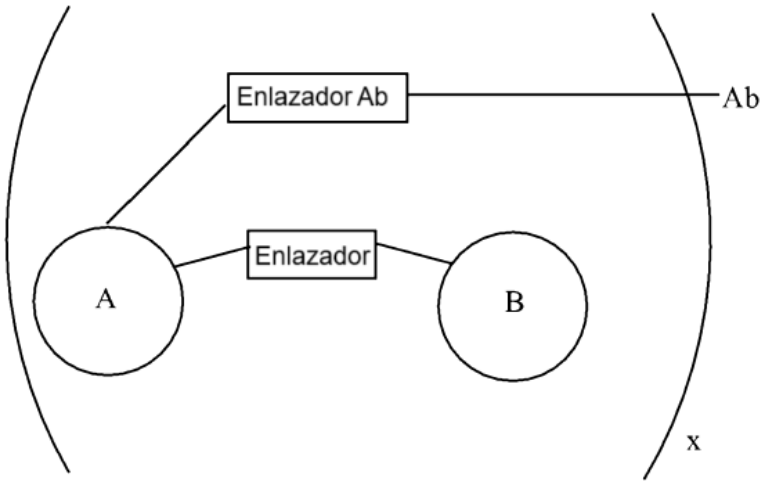
cada uno de m, n y o es, independientemente, 1 o 2;

cada uno de r, p y q, es, independientemente, un número entero de 1 a 8;

20 la suma de p y q es un número entero de 1 a 8; y

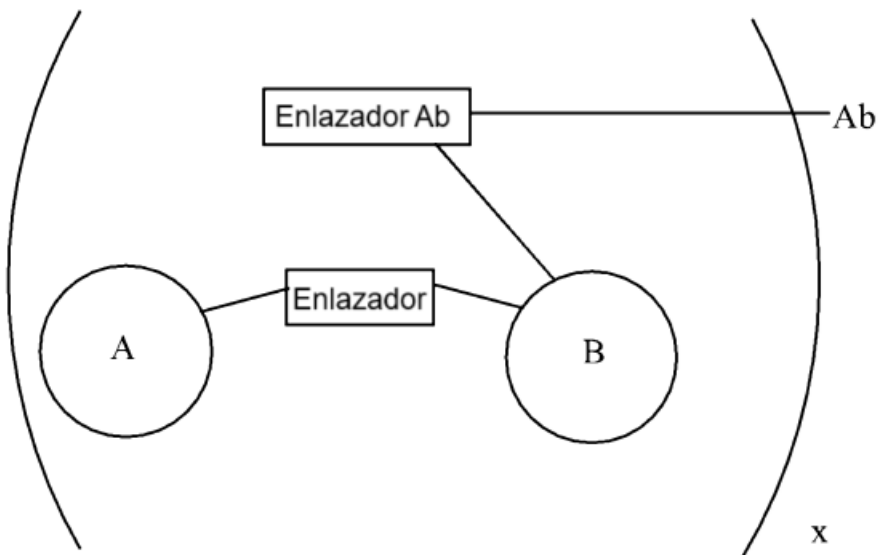
El enlazador Ab es un compuesto capaz de unir el anillo A o el anillo B a un agente de unión.

[0010] También se proporcionan en la presente conjugados de Fórmula A(i) o A(ii):



Fórmula A(i)

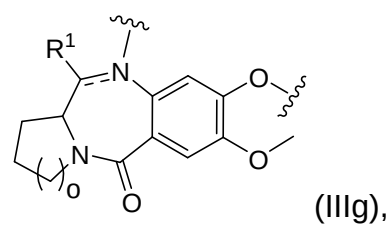
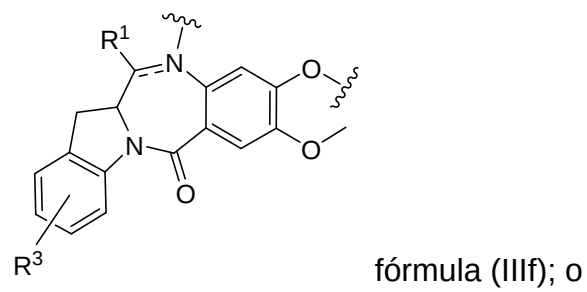
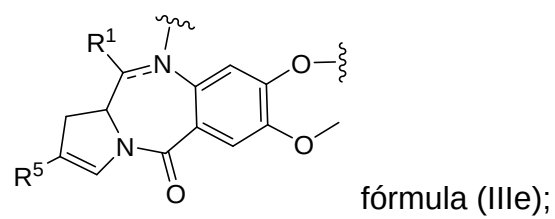
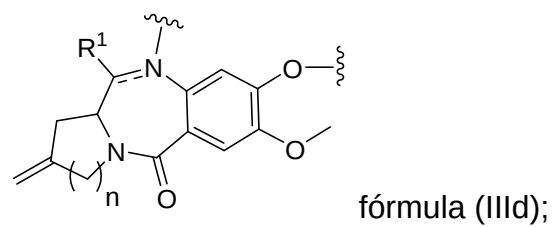
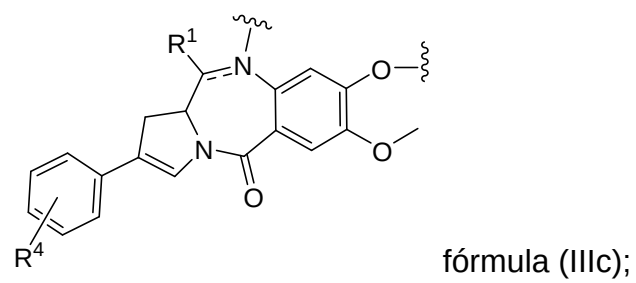
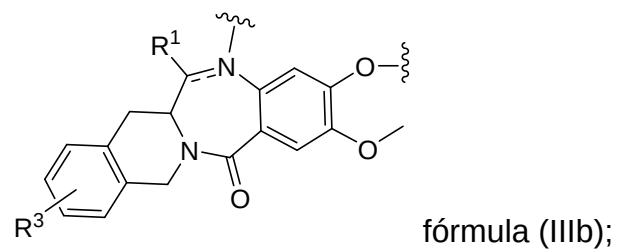
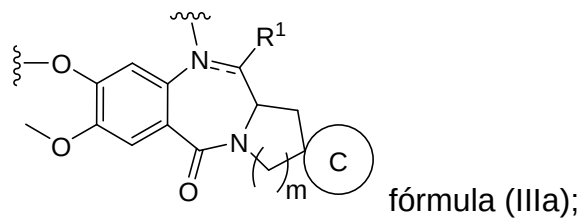
o



Fórmula A(ii)

, o una sal, tautómero, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos, donde:

- 5 cada uno del anillo A y del anillo B es, independientemente, una de las siguientes fórmulas:



~~~~ Indica el punto de unión al enlazador o enlazador Ab;

El enlazador es  $-(CH_2)_r-$ ,  $-(CH_2)_p-X-(CH_2)_q-$ , o  $-(CH_2)_p-CH=CH-(CH_2)_q-$ ;

X es  $NR^6$ ,  $NHC(=O)$ ,  $C(=O)NH$ , O,  $SO_2$ , un anillo arilo sustituido o no sustituido, un anillo heteroarilo sustituido o no sustituido, un anillo heterocíclico sustituido o no sustituido, o un

5 anillo cíclico sustituido o no sustituido;

el anillo C es un anillo de ciclopropilo o un anillo de ciclobutilo;

cada uno de los enlaces punteados entre  $-C(R^1)-$  y  $-N(R^2)-$  es, independientemente, un enlace simple o un enlace doble;

cuando el enlace punteado es un enlace simple, cada  $R^1$  es, independientemente, H u OH,

10 y cada  $R^2$  es, independientemente, H;

cuando el enlace punteado es un enlace doble, cada  $R^1$  es, independientemente, H, y cada  $R^2$  está, independientemente, ausente;

cada uno de  $R^3$  y  $R^4$ , independientemente, es H,  $NH_2$ ,  $NR^aR^b$ , OH, alquilo  $C_{1-4}$ , alcoxilo  $C_{1-4}$  o arilo, y  $R^a$  y  $R^b$  son independientemente H o alquilo  $C_{1-4}$ ;

15  $R^5$  es H, alquilo  $C_{1-4}$ , alcoxilo  $C_{1-4}$  o arilo;

$R^6$  es H o alquilo  $C_{1-4}$ ;

cada uno de m, n y o es, independientemente, 1 o 2;

cada uno de r, p y q, es, independientemente, un número entero de 1 a 8; y

la suma de p y q es un número entero de 1 a 8;

20 El enlazador Ab es un compuesto que une Ab al anillo A o al anillo B;

Ab es un agente de unión seleccionado de un anticuerpo humanizado, quimérico o humano, o un fragmento de unión al antígeno de este;

el subíndice x es de 1 a 15.

## 6. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

25 [0011] La figura 1 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de A375 por los compuestos descritos en la presente.

[0012] La figura 2 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de Calu-6 por los compuestos descritos en la presente.

[0013] La figura 3 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de A375 por los compuestos descritos en la presente.

30 [0014] La figura 4 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de Calu-6 por los compuestos descritos en la presente.

[0015] La figura 5 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de A375 por los compuestos descritos en la presente.

[0016] La figura 6 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de Calu-6 por los compuestos descritos en la presente.

5 [0017] La figura 7 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de A375 por los compuestos descritos en la presente.

[0018] La figura 8 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de Calu-6 por los compuestos descritos en la presente.

[0019] La figura 9 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de A375 por los  
10 compuestos descritos en la presente.

[0020] La figura 10 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de Calu-6 por los compuestos descritos en la presente.

[0021] La figura 11 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de A375 por los compuestos descritos en la presente.

15 [0022] La figura 12 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de Calu-6 por los compuestos descritos en la presente.

[0023] La figura 13 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de A375 por los compuestos descritos en la presente.

[0024] La figura 14 es un gráfico lineal que muestra la muerte celular de Calu-6 por los  
20 compuestos descritos en la presente.

## **7. DESCRIPCIÓN DETALLADA**

[0025] Se proporcionan en la presente compuestos basados en pirrolobenzodiazepina (PBD) que incluyen dos PBD, que pueden ser iguales o diferentes, unidos por un enlazador. Los compuestos pueden usarse como fármaco o porción de carga útil de conjugados de  
25 anticuerpos y fármacos (ADC). Los ADC se pueden usar para tratar una enfermedad o trastorno, como el cáncer, por ejemplo, al proporcionar una composición que comprende un ADC.

### **7.1. Definiciones**

[0026] En la presente descripción., las siguientes expresiones tienen los siguientes  
30 significados, a menos que indique lo contrario. A menos que se indique de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado según lo entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece la presente descripción.

En el caso de que exista una pluralidad de definiciones para un término proporcionado en la presente, estas Definiciones prevalecerán a menos que se indique lo contrario.

[0027] Cuando se usa un nombre comercial en la presente, la referencia al nombre comercial también se refiere a la formulación del producto, el medicamento genérico y los ingredientes farmacéuticos activos del producto del nombre comercial, a menos que el contexto indique lo contrario.

[0028] El término «anticuerpo» se usa en la presente en el sentido más amplio y cubre específicamente los anticuerpos monoclonales, los anticuerpos policlonales, los anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y los fragmentos de anticuerpos, siempre que muestren la actividad biológica deseada. Un anticuerpo intacto tiene principalmente dos regiones: una región variable y una región constante. La región variable se une e interactúa con un antígeno objetivo. La región variable incluye una región determinante de la complementariedad (CDR) que reconoce y se une a un sitio de unión específico en un antígeno particular. Las regiones constantes que pueden ser reconocidas e interactuar con el sistema inmunitario. (véase, por ejemplo, Janeway et ál., 2001, *Immuno. Biology*, 5a Ed., Garland Publishing, Nueva York). Un anticuerpo puede ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD e IgA), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase. El anticuerpo puede derivar de cualquier especie adecuada. En algunas modalidades, el anticuerpo es de origen humano o murino. Un anticuerpo puede ser, por ejemplo, humano, humanizado o quimérico.

[0029] El término «anticuerpo monoclonal», tal como se usa en la presente, hace referencia a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, y se dirigen contra un único sitio antigénico. El modificador «monoclonal» no debe interpretarse como que requiere la producción del anticuerpo mediante cualquier método particular.

[0030] Un «anticuerpo intacto» es aquel que comprende una región variable de unión al antígeno, así como un dominio constante de cadena ligera (CL) y dominios constantes de cadena pesada, CH1, CH2, CH3 y CH4, según sea adecuado para la clase de anticuerpo. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de secuencia natural (por

ejemplo, dominios constantes de secuencia de natural humana) o variantes de secuencia de aminoácidos de estos.

[0031] Un «fragmento de anticuerpo» comprende una parte de un anticuerpo intacto, que comprende la región de unión al antígeno o variable de este. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, y Fv, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpos monocatenarios, scFv, scFv-Fc, fragmentos de anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmento/s de anticuerpo, fragmento/s producido/s por una biblioteca de expresión de Fab, o un fragmento de unión a epítipo de cualquiera de los anteriores que se une inmuno-específicamente a un antígeno objetivo (por ejemplo, un antígeno de célula cancerosa, un antígeno viral o un antígeno microbiano).

[0032] Un «antígeno» es una entidad a la que se une específicamente un anticuerpo.

[0033] Las expresiones «unión específica» y «se une específicamente» significan que el anticuerpo o derivado de anticuerpo se unirá, de manera altamente selectiva, a su epítipo correspondiente de un antígeno objetivo y no con una multitud de otros antígenos. Típicamente, el anticuerpo o derivado de anticuerpo se une con una afinidad de al menos alrededor de  $1 \times 10^{-7}$  M,  $10^{-8}$  M,  $10^{-9}$  M,  $10^{-10}$  M,  $10^{-11}$  M, o  $10^{-12}$  M y se une al antígeno predeterminado con una afinidad que es al menos dos veces mayor que su afinidad para unirse a un antígeno no específico (por ejemplo, BSA, caseína) que no sea el antígeno predeterminado o un antígeno estrechamente relacionado.

[0034] El término «inhibe» o «inhibición de» significa reducir en una cantidad medible o prevenir por completo.

[0035] El término «cantidad terapéuticamente eficaz» se refiere a una cantidad de un fármaco eficaz para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz de un fármaco puede reducir la cantidad de células cancerosas, reducir el tamaño del tumor, inhibir (es decir, disminuir en cierta medida o detener) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos, inhibir (es decir, disminuir en cierta medida o detener) la metástasis tumoral, inhibir en cierta medida el crecimiento tumoral y/o aliviar en cierta medida uno o más síntomas asociados con el cáncer. En la medida en que el fármaco pueda inhibir el crecimiento y/o destruir las células cancerosas existentes, este puede ser citoestático y/o citotóxico. En el caso de terapias contra el cáncer, la eficacia puede ser medida, por ejemplo, a través de la evaluación del

trascuro de tiempo hasta la evolución de la enfermedad (TTP) y/o la determinación de la tasa de respuesta (RR).

[0036] El término «sustancial» o «sustancialmente» hace referencia a una mayoría, es decir, >50% de una población, de una mezcla o de una muestra, preferentemente más del 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de una población.

[0037] Las expresiones «escindido intracelularmente» y «escisión intracelular» se refieren a un proceso o reacción metabólica dentro de una célula en un conjugado de fármaco y ligando (por ejemplo, un conjugado de fármaco y anticuerpo (ADC)), mediante el cual la unión covalente, por ejemplo, el enlazador, entre el resto del fármaco (D) y la unidad de ligando (por ejemplo, un anticuerpo (BA o Ab)) se rompe, lo que da como resultado el fármaco libre u otro metabolito del conjugado disociado del anticuerpo dentro de la célula. Los restos escindidos del conjugado de fármaco, enlazador y ligando son, por tanto, metabolitos intracelulares.

[0038] Los términos «cáncer» y «canceroso» describen o hacen referencia a la afección o trastorno fisiológicos en mamíferos que se caracteriza típicamente por un crecimiento celular no regulado. Un «tumor» comprende una o más células cancerosas. Los ejemplos de cáncer incluyen, entre otros, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia o neoplasias malignas linfoides. Ejemplos más particulares de dichos cánceres incluyen cáncer de células escamosas (por ejemplo, cáncer de células escamosas epiteliales), cáncer de pulmón que incluye carcinoma microcítico de pulmón, carcinoma broncopulmonar no microcítico (NSCLC), adenocarcinoma de pulmón y carcinoma escamoso de pulmón, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago, que incluye cáncer gastrointestinal, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer colorrectal, carcinoma uterino o de endometrio, carcinoma de glándulas salivales, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma de pene, así como cáncer de vías respiratorias y digestivas altas.

[0039] Una «enfermedad autoinmunitaria» en la presente es una enfermedad o trastorno que surge y está dirigido contra los propios tejidos o proteínas de un individuo.

[0040] Los ejemplos de un «paciente» o «sujeto» incluyen, de modo no taxativo,

mamíferos, tal como un ser humano, rata, ratón, conejillo de indias, mono, cerdo, cabra, vaca, caballo, perro o gato, y aves o aves de corral. En una modalidad, el paciente es un ser humano.

[0041] Los términos «tratar» o «tratamiento», a menos que el contexto indique o implique lo contrario, se refieren al tratamiento terapéutico y a medidas profilácticas para prevenir la recaída, donde el objetivo es inhibir o enlentecer (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado, como el desarrollo o propagación del cáncer. A los efectos de la presente descripción, los resultados clínicos ventajosos o deseados incluyen, de modo no taxativo, el alivio de los síntomas, la disminución del alcance de la enfermedad, el estado estabilizado de la enfermedad (es decir, que no empeora), el retraso o enlentecimiento del avance de la enfermedad, la mejora o paliación del estado de la enfermedad y la remisión (ya sea parcial o total), ya sean detectables o no detectables. «Tratamiento» también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Los individuos que necesitan tratamiento incluyen a aquellos que ya presentan la afección o trastorno, así como a aquellos propensos a padecer la afección o trastorno.

[0042] En el contexto del cáncer, el término «tratar» incluye cualquiera o todos los siguientes: inhibir el crecimiento de células tumorales, células cancerosas o de un tumor; inhibir la replicación de células tumorales o células cancerosas, disminuir la carga global del tumor o disminuir el número de células cancerosas y mejorar uno o más síntomas asociados con la enfermedad.

[0043] En el contexto de un trastorno autoinmunitario, el término «tratar» incluye cualquiera o todos los siguientes: inhibir la replicación de células asociadas con un estado de trastorno autoinmunitario que incluye, entre otros, células que producen un anticuerpo autoinmunitario, disminuir la carga de anticuerpos autoinmunitarios y mejorar uno o más síntomas de un trastorno autoinmunitario.

[0044] Tal como se usa en la presente y en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, los artículos indefinidos «un» y «uno» y el artículo definido «el» incluyen referentes en plural, así como en singular, salvo que el contexto indique claramente lo contrario.

[0045] Tal como se usa en la presente, y a menos que se especifique lo contrario, los términos «aproximadamente» y «alrededor de», cuando se usan en relación con cantidades o porcentaje en peso de ingredientes de una composición, significan una cantidad o porcentaje en peso que es reconocido por un experto en la técnica para proporcionar un

efecto farmacológico equivalente al obtenido a partir de la cantidad especificada, o porcentaje en peso. En determinadas modalidades, los términos «aproximadamente» y «alrededor de», cuando se usan en este contexto, contemplan una cantidad o porcentaje en peso dentro del 30%, dentro del 20%, dentro del 15%, dentro del 10% o dentro del 5% de la cantidad especificada, o porcentaje en peso.

[0046] Tal como se usa en la presente, y a menos que se especifique lo contrario, los términos «aproximadamente» y «alrededor de», cuando se usan en conexión con un valor numérico o intervalo de valores que se proporciona para caracterizar una forma sólida particular, por ejemplo, una temperatura o intervalo de temperatura específico, tal como, por ejemplo, que describe una temperatura de fusión, deshidratación, desolvatación o transición vítrea; un cambio de masa, tal como, por ejemplo, un cambio de masa en función de la temperatura o la humedad; un contenido de solvente o agua, en términos de, por ejemplo, masa o porcentaje; o una posición de pico, tal como, por ejemplo, en análisis mediante, por ejemplo, espectroscopia IR o Raman o XRPD; indicar que el valor o intervalo de valores puede desviarse en un grado considerado razonable para un experto en la técnica sin dejar de describir la forma sólida. Las técnicas para caracterizar formas cristalinas y sólidos amorfos incluyen, entre otras, análisis gravimétrico térmico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC), difracción de rayos X en polvo (XRPD), difracción de rayos X de monocristal, vibración espectroscopia, por ejemplo, espectroscopia infrarroja (IR) y Raman, espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR) de estado sólido y solución, microscopía óptica, microscopía óptica de etapa caliente, microscopía electrónica de barrido (SEM), cristalografía electrónica y análisis cuantitativo, análisis del tamaño de partículas (PSA), análisis de área superficial, estudios de solubilidad y estudios de disolución. En determinadas modalidades, los términos «aproximadamente» y «alrededor de», cuando se usan en este contexto, indican que el valor numérico o intervalo de valores puede variar dentro del 30%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5% o 0,25% del valor o intervalo de valores recitado. Por ejemplo, en algunas modalidades, el valor de una posición de pico de XRPD puede variar hasta  $\pm 0,2^\circ 2\theta$  y aun así describir el pico particular de XRPD.

[0047] Un grupo «alquilo» es un hidrocarburo no cíclico de cadena lineal o ramificada saturado, parcialmente saturado o no saturado que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, típicamente de 1 a 8 carbonos o, en algunas modalidades, de 1 a 6, 1 a 4, o 2 a 6 átomos

de carbono. Los grupos alquilo representativos incluyen -metilo, -etilo, -n-propilo, -n-butilo, -n-pentilo y n-hexilo; los alquilos ramificados saturados incluyen -isopropilo, -sec-butilo, -isobutilo, -*tert*-butilo, -isopentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 4-metilpentilo, 2,3-dimetilbutilo y similares. Los ejemplos de grupos alquilo insaturados incluyen, entre otros, vinilo, alilo,  $\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)$ ,  $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ,  $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}(\text{CH}_3)$ ,  $\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ,  $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$ ,  $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ ,  $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$  y  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ , entre otros. Un grupo alquilo puede estar sustituido o no sustituido. En determinadas modalidades, cuando los grupos alquilo descritos en la presente se dice que están «sustituidos», pueden estar sustituidos con cualquier sustituyente o sustituyentes como los que se encuentran en los compuestos y modalidades descritas en la presente, así como halógeno (cloro, yodo, bromo o fluoro); hidroxilo; alcoxi; alcoxialquilo; amino; alquilamino; alquilamino; carboxi; nitro; ciano; tiol; tioéter; imina; imida; amidina; guanidina; enamina; aminocarbonilo; acilamino; fosfonato; fosfina; tiocarbonilo; sulfonilo; sulfona; sulfonamida; cetona; aldehído; éster; urea; uretano; oxima xilamina; alcoxiamina; aralcoxiamina; N-óxido; hidrazina; hidrazida; hidrazona; azida; isocianato; isotiocianato; cianato; tiocianato;  $\text{B}(\text{OH})_2$  u  $\text{O}(\text{alquilo})\text{aminocarbonilo}$ .

[0048] Un grupo «alquenilo» es un hidrocarburo no cíclico de cadena lineal o ramificada que tiene de 2 a 10 átomos de carbono, normalmente de 2 a 8 átomos de carbono, y que incluye al menos un doble enlace carbono-carbono. La cadena lineal representativa y alquenilos ramificados ( $\text{C}_2\text{-C}_8$ ) incluyen -vinilo, -alilo, -1-butenilo, -2-butenilo, -isobutilenilo, -1-pentenilo, -2-pentenilo, -3-metil-1-butenilo, -2-metil-2-butenilo, -2,3-dimetil-2-butenilo, -1-hexenilo, 2-hexenilo, -3-hexenilo, -1-heptenilo, -2-heptenilo, -3-heptenilo, -1-octenilo, -2-octenilo, 3-octenilo y similares. El enlace doble de un grupo alquenilo puede conjugarse o no conjugarse con otro grupo insaturado. Un grupo alquenilo puede estar sustituido o no sustituido.

[0049] Un grupo «cicloalquilo» es un grupo alquilo cíclico saturado, o parcialmente saturado de 3 a 10 átomos de carbono que tienen un solo anillo cíclico o múltiples anillos condensados o puenteados que pueden ser opcionalmente sustituidos con de 1 a 3 grupos alquilo. En algunas modalidades, el grupo cicloalquilo tiene de 3 a 8 eslabones de anillo, mientras que en otras modalidades el número de átomos de carbono de anillo varía de 3 a 5, de 3 a 6, o de 3 a 7. Tales grupos cicloalquilo incluyen, por ejemplo, estructuras de anillo único tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, 1-

metilciclopropilo, 2-metilciclopentilo, 2-metilciclooctilo, y similares, o estructuras de anillo múltiples o con puente tales como adamantilo y similares. Los ejemplos de grupos cicloalquilo insaturados incluyen ciclohexenilo, ciclopentenilo, ciclohexadienilo, butadienilo, pentadienilo y hexadienilo, entre otros. Un grupo cicloalquilo puede estar sustituido o no sustituido. Dichos grupos cicloalquilo sustituidos incluyen, a modo de ejemplo, ciclohexanona y similares.

[0050] Un grupo «arilo» es un grupo carbocíclico aromático de 6 a 14 átomos de carbono que tienen un anillo único (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos condensados (por ejemplo, naftilo o antrilo). En algunas modalidades, los grupos arilos contienen 6 a 14 carbonos, y en otras de 6 a 12 o incluso 6 a 10 átomos de carbono en las partes de anillo de los grupos. Los arilos particulares incluyen fenilo, bifenilo, naftilo y similares. Un grupo arilo puede estar sustituido o no sustituido. La frase «grupos arilo» también incluye grupos que contienen anillos fusionados, tales como sistemas de anillos aromáticos-alifáticos fusionados (por ejemplo, indanilo, tetrahidronaftilo y similares).

[0051] Un grupo «arileno» es un grupo arilo bivalente, tal como se define en la presente.

[0052] Un grupo «heteroarilo» es un sistema de anillo arilo que tiene uno de cuatro heteroátomos como átomos de anillo en un sistema de anillo heteroaromático, donde el resto de los átomos son átomos de carbono. En algunas modalidades, los grupos heteroarilo contienen de 5 a 6 átomos en el anillo y en otras de 6 a 9 o de 6 a 10 átomos en las porciones del anillo de los grupos. Los heteroátomos adecuados incluyen oxígeno, azufre y nitrógeno. En determinadas modalidades, el sistema de anillo heteroarilo es monocíclico o bicíclico. Los ejemplos no taxativos incluyen, de modo no taxativo, grupos tales como grupos pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, pirrolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, tiofenilo, benzotiofenilo, furanilo, benzofuranilo (por ejemplo, isobenzofuran-1,3-diimina), indolilo, azaindolilo (por ejemplo, pirrolopiridilo o 1H-pirrol[2,3-b]piridilo), indazolilo, bencimidazolilo (por ejemplo, 1H-benzo[d]imidazolilo), imidazopiridilo (por ejemplo, azabencimidazolilo, 3H-imidazo[4,5-b]piridilo o 1H-imidazo[4,5-b]piridilo), pirazolopiridilo, triazolopiridilo, benzotriazolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, isoxazolopiridilo, tianaftalenilo, purinilo, xantinilo, adeninilo, grupos guaninilo, quinolinilo, isoquinolinilo, tetrahydroquinolinilo, quinoxalinilo y quinazolinilo.

[0053] Un grupo «heteroarileno» es un grupo heteroarilo bivalente tal como se define en la presente.

[0054] Un «heterociclilo» es un cicloalquilo aromático (también conocido como heteroarilo) o no aromático en el que uno a cuatro de los átomos de carbono del anillo se reemplazan independientemente con un heteroátomo del grupo que consiste en O, S y N. En algunas modalidades, los grupos heterociclilo incluyen 3 a 10 eslabones de anillo, mientras que otros grupos de este tipo tienen 3 a 5, 3 a 6, o 3 a 8 miembros del anillo. Los heterociclicos también se pueden unir a otros grupos en cualquier átomo del anillo (es decir, en cualquier átomo de carbono o heteroátomo del anillo heterocíclico). Un grupo heterociclilo puede estar sustituido o no sustituido. Los grupos heterociclilo abarcan sistemas de anillos insaturados, parcialmente saturados y saturados, tales como, por ejemplo, grupos imidazolilo, imidazolinilo e imidazolidinilo. El término «heterociclilo» incluye especies de anillos fusionados, incluidas aquellas que comprenden grupos aromáticos y no aromáticos fusionados, tales como, por ejemplo, benzotriazolilo, 2,3-dihidrobenzo[1,4]dioxinilo y benzo[1,3]dioxolilo. El término también incluye sistemas de anillo policíclico con puente que contienen un heteroátomo tales como, de forma no taxativa, quinuclidilo. Los ejemplos representativos de un grupo heterociclilo incluyen, entre otros, grupos aziridinilo, azetidínilo, pirrolidilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, tiazolidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrofuranilo, dioxolilo, furanilo, tiofenilo, pirrolilo, pirrolinilo, imidazolilo, imidazolinilo, pirazolilo, pirazolinilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiazolinilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, piperidilo, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tetrahidropiranilo (por ejemplo, tetrahidro-2H-piranilo), tetrahidrotiopiranilo, oxatiano, dioxilo, ditianilo, piranilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, pirazinilo, triazinilo, dihidropiridilo, dihidroditiinilo, dihidroditionilo, homopiperazinilo, quinuclidilo, indolilo, indolinilo, isoindolilo, azaindolilo (pirrolopiridilo), indazolilo, indolizínilo, benzotriazolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, benzotiazolilo, benzoxadiazolilo, benzoxazinilo, benzoditiinilo, benzoxatiinilo, benzotiacinilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzo[1,3]dioxolilo, pirazolopiridilo, imidazopiridilo (azabencimidazolilo, por ejemplo, 1H-imidazo[4,5-b]piridilo o 1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-onilo), triazolopiridilo, isoxazolopiridilo, purinilo, xantínilo, adenínilo, guanínilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinolizínilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinnolinilo, ftalazinilo, naftiridinilo, pteridinilo, tianaftalenilo, dihidrobenzotiazinilo, dihidrobenzofuranilo, dihidroindolilo, dihidrobenzodioxinilo, tetrahidroindolilo, tetrahidroindazolilo, tetrahidrobencimidazolilo, tetrahidrobenzotriazolilo, tetrahidropirrollopiridilo, tetrahidropirazolopiridilo, tetrahidroimidazopiridilo,

tetrahidrotriazolopiridilo y tetrahydroquinolinilo. Los grupos heterociclilo sustituidos representativos pueden ser monosustituidos o sustituidos más de una vez, tales como, de modo no taxativo, grupos piridilo o morfolinilo, que están sustituidos en 2, 3, 4, 5 o 6, o disustituidos con varios sustituyentes tales como los que se enumeran a continuación.

5 [0055] Un grupo «cicloalquilo» es un radical con la fórmula -alquilo-cicloalquilo, donde el alquilo y el cicloalquilo se definen anteriormente. Los grupos cicloalquilalquilo sustituidos pueden sustituirse en las partes alquilo, cicloalquilo o tanto la parte alquilo como cicloalquilo del grupo. Los grupos cicloalquilalquilo representativos incluyen, de modo no taxativo, ciclopentilmetilo, ciclopentiletilo, ciclohexilmetilo, ciclohexiletilo y ciclohexilpropilo. Los  
10 grupos cicloalquilalquilo sustituidos representativos pueden estar monosustituidos o sustituidos más de una vez.

[0056] Un grupo «aralquilo» es un radical de fórmula -alquil-arilo, donde alquilo y arilo se definen anteriormente. Los grupos aralquilo sustituidos pueden sustituirse en las partes alquilo, arilo o tanto la parte alquilo como arilo del grupo. Los grupos aralquilo  
15 representativos incluyen, de modo no taxativo, grupos bencilo y fenetilo y grupos (cicloalquilaril)alquilo fusionados tales como 4-etil-indanilo.

[0057] Un grupo «heterociclilalquilo» es un radical con la fórmula -alquil-heterociclilo, donde alquilo y heterociclilo se definen anteriormente. Los grupos heterociclilalquilo sustituidos pueden sustituirse en las partes alquilo, heterociclilo o tanto la parte alquilo como  
20 heterociclilo del grupo. Los grupos heterociclilalquilo representativos incluyen, de modo no taxativo, 4-etil-morfolinilo, 4-propilmorfolinilo, furan-2-ilmetilo, furan-3-ilmetilo, piridin-3-ilmetilo, (tetrahydro-2H-piran-4-il)metilo, (tetrahydro-2H-piran-4-il)etilo, tetrahydrofuran-2-ilmetilo, tetrahydrofuran-2-iletilo e indol-2-ilpropilo.

[0058] Un «halógeno» es cloro, yodo, bromo o flúor.

25 [0059] Un grupo «hidroxialquilo» es un grupo alquilo como se describió anteriormente sustituido con uno o más grupos hidroxilo.

[0060] Un grupo «alcoxi» es O(alquilo), en donde alquilo se define anteriormente.

[0061] Un grupo «alcoxialquilo» es (alquil)O(alquilo), donde alquilo se define anteriormente.

30 [0062] Tal como se usa en la presente, «alquinilo» se refiere a un grupo radical de hidrocarburo monovalente que contiene al menos dos átomos de carbono y uno o más enlaces triples carbono-carbono. El alquinilo está opcionalmente sustituido y puede ser

lineal, ramificado o cíclico. El alquinilo incluye, de modo no taxativo, aquellos radicales que tienen 2-20 átomos de carbono, es decir, alquinilo de  $C_{2-20}$ ; 2-12 átomos de carbono, es decir, alquinilo de  $C_{2-12}$ ; 2-8 átomos de carbono, es decir, alquinilo de  $C_{2-8}$ ; 2-6 átomos de carbono, es decir, alquinilo de  $C_{2-6}$ ; y 2-4 átomos de carbono, es decir, alquinilo de  $C_{2-4}$ . Los ejemplos de restos alquinilo incluyen, de modo no taxativo, etinilo, propinilo y butinilo.

[0063] Como se usa en la presente, «haloalquilo» se refiere a alquilo, como se definió anteriormente, en donde el alquilo incluye al menos un sustituyente seleccionado entre un halógeno, por ejemplo, flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I). Los ejemplos de haloalquilo incluyen, de modo no taxativo,  $-CF_3$ ,  $-CH_2CF_3$ ,  $-CCl_2F$  y  $-CCl_3$ .

[0064] Como se usa en la presente, «haloalcoxi» se refiere a alcoxi, como se definió anteriormente, en donde el alcoxi incluye al menos un sustituyente seleccionado de un halógeno, por ejemplo, F, Cl, Br, o I.

[0065] Como se usa en la presente, «arilalquilo» se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto alquilo, en donde el compuesto alquilo está sustituido con un sustituyente aromático, es decir, el compuesto aromático incluye un enlace simple a un grupo alquilo y en donde el radical es localizado en el grupo alquilo. Un grupo arilalquilo se une a la estructura química ilustrada a través del grupo alquilo. Un arilalquilo puede estar representado por la estructura, por ejemplo,  $B-CH_2^-$ ,  $B-CH_2-CH_2^-$ ,  $B-CH_2-CH_2-CH_2^-$ ,  $B-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2^-$ ,  $B-CH(CH_3)-CH_2-CH_2^-$ ,  $B-CH_2-CH(CH_3)-CH_2^-$ , en donde B es un resto aromático, por ejemplo, fenilo. El arilalquilo está opcionalmente sustituido, es decir, el grupo arilo y/o el grupo alquilo pueden estar sustituidos como se describe en la presente. Los ejemplos de arilalquilo incluyen, de modo no taxativo, bencilo.

[0066] Como se usa en la presente, «alquilarilo» se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto arilo, en donde el compuesto arilo está sustituido con un sustituyente alquilo, es decir, el compuesto arilo incluye un enlace simple a un grupo alquilo y en donde el radical es localizado en el grupo arilo. Un grupo alquilarilo se une a la estructura química ilustrada a través del grupo arilo. Un alquilarilo se puede representar mediante la estructura, por ejemplo,  $-B-CH_3$ ,  $-B-CH_2-CH_3$ ,  $-B-CH_2-CH_2-CH_3$ ,  $-B-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3$ ,  $-B-CH(CH_3)-CH_2-CH_3$ ,  $-B-CH_2-CH(CH_3)-CH_3$ , en donde B es un resto aromático, por ejemplo, fenilo. El alquilarilo está opcionalmente sustituido, es decir, el grupo arilo y/o el grupo alquilo pueden estar sustituidos como se describe en la presente. Los ejemplos de alquilarilo incluyen, de modo no taxativo, toluilo.

[0067] Tal como se usa en la presente, «ariloxi» se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto aromático donde los átomos de anillo son átomos de carbono y donde el anillo se sustituye con un radical de oxígeno, es decir, el compuesto aromático incluye un enlace único a un átomo de oxígeno y donde el radical se localiza en el átomo de oxígeno, por ejemplo,  $C_6H_5-O-$ , para fenoxi. Los sustituyentes ariloxi se unen al compuesto que sustituyen a través de este átomo de oxígeno. El ariloxi está opcionalmente sustituido. El ariloxi incluye, de modo no taxativo, aquellos radicales que tienen de 6 a 20 átomos de carbono en el anillo, es decir, ariloxi  $C_{6-20}$ ; de 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, es decir, ariloxi  $C_{6-15}$ , y de 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, es decir, ariloxi  $C_{6-10}$ . Los ejemplos de restos ariloxi incluyen, de modo no taxativo, fenoxi, naftoxi y antroxí.

[0068] Un grupo «amino» es un radical con la fórmula  $NH_2$ .

[0069] Un grupo «hidroxilamina» es un radical con la fórmula  $N(R^{\#})OH$  o  $NHOH$ , donde  $R^{\#}$  es un grupo alquilo, cicloalquilo, cicloalquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclo o heterociclilo sustituido o no sustituido como se define en la presente.

[0070] Un grupo «alcoxiamina» es un radical de fórmula  $-N(R^{\#})O$ -alquilo o  $-NHO$ -alquilo, donde  $R^{\#}$  es como se definió anteriormente.

[0071] Un grupo «aralcoxiamina» es un radical de fórmula  $N(R^{\#})O$ -arilo o  $NHO$ -arilo, donde  $R^{\#}$  es como se definió anteriormente.

[0072] Un grupo «alquilamina» es un radical con la fórmula  $NH$ alquilo o  $N$ (alquilo) $_2$ , donde cada alquilo es independientemente como se definió anteriormente.

[0073] Un grupo «aminocarbonilo» es un radical con la fórmula  $-C(=O)N(R^{\#})_2$ ,  $-C(=O)NH(R^{\#})$ , o  $C(=O)NH_2$ , donde cada  $R^{\#}$  es como se definió anteriormente.

[0074] Un grupo «acilamino» es un radical con la fórmula  $NHC(=O)(R^{\#})$  o  $N$ (alquilo) $C(=O)(R^{\#})$ , donde cada alquilo y  $R^{\#}$  son independientemente como se definió anteriormente.

[0075] Un grupo «O(alquil)aminocarbonilo» es un radical con la fórmula  $-O$ (alquil) $C(=O)N(R^{\#})_2$ ,  $-O$ (alquil) $C(=O)NH(R^{\#})$  u  $-O$ (alquil) $C(=O)NH_2$ , donde cada  $R^{\#}$  es independientemente como se definió anteriormente.

[0076] Un grupo «N-óxido» es un radical con la fórmula  $-N^+-O^-$ .

[0077] Un grupo «carboxi» es un radical con la fórmula  $C(=O)OH$ .

[0078] Un grupo «cetona» es un radical con la fórmula  $C(=O)(R^{\#})$ , donde  $R^{\#}$  es como se definió anteriormente.

[0079] Un grupo «aldehído» es un radical con la fórmula  $-\text{CH}(=\text{O})$ .

[0080] Un grupo «éster» es un radical con la fórmula  $\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{R}^\#)$  o  $\text{OC}(=\text{O})(\text{R}^\#)$ , donde  $\text{R}^\#$  es como se definió anteriormente.

[0081] Un grupo «urea» es un radical con la fórmula  $-\text{N}(\text{alquil})\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^\#)_2$ , -  
 5  $\text{N}(\text{alquil})\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{R}^\#)$ ,  $-\text{N}(\text{alquil})\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHC}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^\#)_2$ ,  $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{R}^\#)$  o  $\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}_2^\#$ , donde cada alquilo y  $\text{R}^\#$  son independientemente como se definió anteriormente.

[0082] Un grupo «imina» es un radical con la fórmula  $-\text{N}=\text{C}(\text{R}^\#)_2$  o  $-\text{C}(\text{R}^\#)=\text{N}(\text{R}^\#)$ , donde cada  $\text{R}^\#$  es independientemente como se definió anteriormente.

10 [0083] Un grupo «imida» es un radical con la fórmula  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^\#)\text{C}(=\text{O})(\text{R}^\#)$  o  $\text{N}((\text{C}=\text{O})(\text{R}^\#))_2$ , donde cada  $\text{R}^\#$  es independientemente como se definió anteriormente.

[0084] Un grupo «uretano» es un radical de fórmula  $-\text{OC}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^\#)_2$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}(\text{R}^\#)$ , -  
 $\text{N}(\text{R}^\#)\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{R}^\#)$ , o  $-\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{R}^\#)$ , donde cada  $\text{R}^\#$  es independientemente como se definió anteriormente.

15 [0085] Un grupo «amidina» es un radical de fórmula  $-\text{C}(=\text{N}(\text{R}^\#))\text{N}(\text{R}^\#)_2$ , -  
 $\text{C}(=\text{N}(\text{R}^\#))\text{NH}(\text{R}^\#)$ ,  $-\text{C}(=\text{N}(\text{R}^\#))\text{NH}_2$ ,  $-\text{C}(=\text{NH})\text{N}(\text{R}^\#)_2$ ,  $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}(\text{R}^\#)$ ,  $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ , -  
 $\text{N}=\text{C}(\text{R}^\#)\text{N}(\text{R}^\#)_2$ ,  $-\text{N}=\text{C}(\text{R}^\#)\text{NH}(\text{R}^\#)$ ,  $-\text{N}=\text{C}(\text{R}^\#)\text{NH}_2$ ,  $-\text{N}(\text{R}^\#)\text{C}(\text{R}^\#)=\text{N}(\text{R}^\#)$ ,  $-\text{NHC}(\text{R}^\#)=\text{N}(\text{R}^\#)$ , -  
 $\text{N}(\text{R}^\#)\text{C}(\text{R}^\#)=\text{NH}$ , o  $-\text{NHC}(\text{R}^\#)=\text{NH}$ , donde cada  $\text{R}^\#$  es independientemente como se definió anteriormente.

20 [0086] Un grupo «guanidina» es un radical de fórmula  $-\text{N}(\text{R}^\#)\text{C}(=\text{N}(\text{R}^\#))\text{N}(\text{R}^\#)_2$ , -  
 $\text{NHC}(=\text{N}(\text{R}^\#))\text{N}(\text{R}^\#)_2$ ,  $-\text{N}(\text{R}^\#)\text{C}(=\text{NH})\text{N}(\text{R}^\#)_2$ ,  $-\text{N}(\text{R}^\#)\text{C}(=\text{N}(\text{R}^\#))\text{NH}(\text{R}^\#)$ ,  $-\text{N}(\text{R}^\#)\text{C}(=\text{N}(\text{R}^\#))\text{NH}_2$ , -  
 $\text{NHC}(=\text{NH})\text{N}(\text{R}^\#)_2$ ,  $-\text{NHC}(=\text{N}(\text{R}^\#))\text{NH}(\text{R}^\#)$ ,  $-\text{NHC}(=\text{N}(\text{R}^\#))\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}(\text{R}^\#)$ , -  
 $\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ ,  $-\text{N}=\text{C}(\text{N}(\text{R}^\#)_2)_2$ ,  $-\text{N}=\text{C}(\text{NH}(\text{R}^\#))_2$ , o  $-\text{N}=\text{C}(\text{NH}_2)_2$ , donde cada  $\text{R}^\#$  es independientemente como se definió anteriormente.

25 [0087] Un grupo «enamina» es un radical con la fórmula  $-\text{N}(\text{R}^\#)\text{C}(\text{R}^\#)=\text{C}(\text{R}^\#)_2$ , -  
 $\text{NHC}(\text{R}^\#)=\text{C}(\text{R}^\#)_2$ ,  $-\text{C}(\text{N}(\text{R}^\#)_2)=\text{C}(\text{R}^\#)_2$ ,  $-\text{C}(\text{NH}(\text{R}^\#))=\text{C}(\text{R}^\#)_2$ ,  $-\text{C}(\text{NH}_2)=\text{C}(\text{R}^\#)_2$ , -  
 $\text{C}(\text{R}^\#)=\text{C}(\text{R}^\#)(\text{N}(\text{R}^\#)_2)$ ,  $\text{C}(\text{R}^\#)=\text{C}(\text{R}^\#)(\text{NH}(\text{R}^\#))$  o  $-\text{C}(\text{R}^\#)=\text{C}(\text{R}^\#)(\text{NH}_2)$ , donde cada  $\text{R}^\#$  es independientemente como se definió anteriormente.

[0088] Un grupo «oxima» es un radical de fórmula  $-\text{C}(=\text{NO}(\text{R}^\#))(\text{R}^\#)$ ,  $-\text{C}(=\text{NOH})(\text{R}^\#)$ , -  
 30  $\text{CH}(=\text{NO}(\text{R}^\#))$  o  $-\text{CH}(=\text{NOH})$ , donde cada  $\text{R}^\#$  es independientemente como se definió anteriormente.

[0089] Un grupo «hidrazida» es un radical con la fórmula  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^\#)\text{N}(\text{R}^\#)_2$ , -

$C(=O)NHN(R^{\#})_2$ ,  $-C(=O)N(R^{\#})NH(R^{\#})$ ,  $-C(=O)N(R^{\#})NH_2$ ,  $-C(=O)NHNH(R^{\#})_2$  o  $-C(=O)NHNH_2$ , donde cada  $R^{\#}$  es independiente como se definió anteriormente.

[0090] Un grupo «hidrazina» es un radical de fórmula  $-N(R^{\#})N(R^{\#})_2$ ,  $-NHN(R^{\#})_2$ ,  $-N(R^{\#})NH(R^{\#})$ ,  $-N(R^{\#})NH_2$ ,  $-NHNH(R^{\#})_2$  o  $-NHNH_2$ , donde cada  $R^{\#}$  es independientemente como se definió anteriormente.

[0091] Un grupo «hidrazona» es un radical con la fórmula  $-C(=N-N(R^{\#})_2)(R^{\#})_2$ ,  $-C(=NNH(R^{\#}))(R^{\#})_2$ ,  $-C(=N-NH_2)(R^{\#})_2$ ,  $-N(R^{\#})(N=C(R^{\#})_2)$  o  $-NH(N=C(R^{\#})_2)$ , donde cada  $R^{\#}$  es independientemente como se definió anteriormente.

[0092] Un grupo «azida» es un radical con la fórmula  $-N_3$ .

10 [0093] Un grupo «isocianato» es un radical con la fórmula  $N=C=O$ .

[0094] Un grupo «isotiocianato» es un radical con la fórmula  $N=C=S$ .

[0095] Un grupo «cianato» es un radical con la fórmula  $OCN$ .

[0096] Un grupo «tiocianato» es un radical de fórmula  $SCN$ .

15 [0097] Un grupo «tioéter» es un radical con la fórmula  $-S(R^{\#})$ , donde  $R^{\#}$  es como se definió anteriormente.

[0098] Un grupo «tiocarbonilo» es un radical con la fórmula  $-C(=S)(R^{\#})$ , donde  $R^{\#}$  es como se definió anteriormente.

[0099] Un grupo «sulfinilo» es un radical con la fórmula  $-S(=O)(R^{\#})$ , donde  $R^{\#}$  es como se definió anteriormente.

20 [0100] Un grupo «sulfona» es un radical de fórmula  $-S(=O)_2(R^{\#})$ , donde  $R^{\#}$  es como se definió anteriormente.

[0101] Un grupo «sulfonilamino» es un radical con la fórmula  $-NHSO_2(R^{\#})$  o  $-N(\text{alquilo})SO_2(R^{\#})$ , donde cada alquilo y  $R^{\#}$  se definieron anteriormente.

25 [0102] Un grupo «sulfonamida» es un radical de fórmula  $-S(=O)_2N(R^{\#})_2$  o  $-S(=O)_2NH(R^{\#})$  o  $-S(=O)_2NH_2$ , donde cada  $R^{\#}$  es independientemente como se definió anteriormente.

[0103] Un grupo «fosfonato» es un radical con la fórmula  $-P(=O)(O(R^{\#}))_2$ ,  $-P(=O)(OH)_2$ ,  $-OP(=O)(O(R^{\#}))(R^{\#})$  u  $-OP(=O)(OH)(R^{\#})$ , donde cada  $R^{\#}$  es independientemente como se definió anteriormente.

30 [0104] Un grupo «fosfina» es un radical con la fórmula  $-P(R^{\#})_2$ , donde cada  $R^{\#}$  es independientemente como se definió anteriormente.

[0105] Cuando se dice que los grupos descritos en la presente, con excepción del grupo alquilo, son «sustituidos», pueden ser sustituidos con cualquier sustituyente o sustituyentes

apropiados. Los ejemplos ilustrativos de sustituyentes son los que se encuentran en los compuestos y las modalidades descritas en la presente, así como halógeno (cloro, yodo, bromo o flúor); alquilo; hidroxilo; alcoxi; alcoxialquilo; aminado; alquilamino; carboxi; nitro; ciano; tiol; tioéter; yo mismo; imida; amidina; guanidina; enamina; aminocarbonilo; acilamino; fosfonato; fosfina; tiocarbonilo; sulfinilo; sulfona; sulfonamida; cetona; aldehído; éster; urea; uretano; oxima; hidroxilamina; alcoxiamina; aralcoxiamina; N-óxido; hidracina; hidrazida; hidrazona; azida; isocianato; isotiocianato; cianato; tiocianato; oxígeno (=O); B(OH)<sub>2</sub>; O(alquil)aminocarbonilo; cicloalquilo, que puede ser monocíclico o policíclico fusionado o no fusionado (por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo), o un heterociclilo, que puede ser monocíclico o policíclico fusionado o no fusionado (por ejemplo, pirrolidilo, piperidilo, piperazinilo, morfolinilo o tiazinilo); arilo o heteroarilo monocíclico o policíclico condensado o no condensado (por ejemplo, fenilo, naftilo, pirrolilo, indolilo, furanilo, tiofenilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, piridinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, acridinilo, pirazinilo, piridazinilo, pirimidinilo, bencimidazolilo, benzotiofenilo o benzofuranil)ariloxi; aralquilo; heterocicliloxi; y heterociclil alcoxi.

[0106] Tal como se usa en la presente, el término «sal o sales farmacéuticamente aceptables» se refiere a una sal preparada a partir de un ácido o base no tóxico farmacéuticamente aceptable que incluye un ácido o base inorgánicos o un ácido y base orgánicos.

[0107] Tal como se usa en la presente y a menos que se indique lo contrario, el término «solvato» significa un compuesto, o una sal de este, que además incluye una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de un solvente unido por fuerzas intermoleculares no covalentes. En una modalidad, el solvato es un hidrato.

[0108] Tal como se usa en la presente y a menos que se indique lo contrario, el término «hidrato» significa un compuesto, o una sal de este, que además incluye una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unido por fuerzas intermoleculares no covalentes.

[0109] Tal como se usa en la presente y a menos que se indique lo contrario, el término «profármaco» significa un derivado de un compuesto que puede hidrolizarse, oxidarse o hacerse reaccionar de otra manera en condiciones biológicas (*in vitro* o *in vivo*) para proporcionar un compuesto activo. Los ejemplos de profármacos incluyen, de modo no

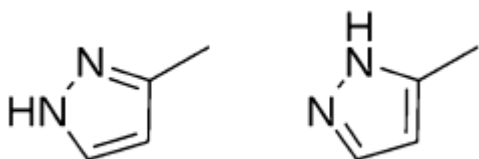
taxativo, derivados y metabolitos de un compuesto que incluyen restos biohidrolizables tales como amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, carbonatos biohidrolizables, ureidos biohidrolizables y análogos de fosfato biohidrolizables. En determinadas modalidades, los profármacos de compuestos con grupos funcionales carboxilo son los ésteres de alquilo inferior del ácido carboxílico. Los ésteres de carboxilato se pueden al esterificar cualquiera de los restos de ácido carboxílico presentes en la molécula. Los profármacos se pueden preparar normalmente mediante métodos bien conocidos, como los descritos en *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery* 6.<sup>a</sup> ed. (Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley) y *Design and Application of Prodrugs* (H. Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers Gmhf).

[0110] Como se usa en la presente y a menos que se indique lo contrario, el término «estereoisómero» o «estereoisómero puro» significa un estereoisómero de un compuesto que está sustancialmente libre de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por ejemplo, una composición estereoméricamente pura con un centro quiral se encontrará sustancialmente libre del enantiómero opuesto del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro con dos centros quirales se encontrará sustancialmente libre de los otros diastereómeros del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro típico comprende más de alrededor del 80 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de alrededor del 20 % en peso de otros estereoisómeros del compuesto, más de alrededor del 90 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de alrededor del 10 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más de alrededor del 95 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de alrededor del 5 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, o más de alrededor del 97 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de alrededor del 3 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto. Los compuestos pueden tener centros quirales y pueden presentarse como racematos, enantiómeros o diastereómeros individuales y mezclas de estos. Todas dichas formas isoméricas se encuentran incluidas en las modalidades descritas en la presente, incluidas sus mezclas. El uso de formas estereoméricamente puras de dichos compuestos, así como el uso de mezclas de esas formas, están abarcados por las modalidades descritas en la presente. Por ejemplo, en los métodos y composiciones descritos en la presente se pueden usar mezclas que comprenden cantidades iguales o desiguales de los enantiómeros de un compuesto particular. Estos isómeros pueden

sintetizarse o resolverse asimétricamente mediante el uso de técnicas estándar como columnas quirales o agentes de resolución quirales. Ver, por ejemplo, Jacques, J., et ál., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (WileyInterscience, Nueva York, 1981); Wilen, S. H., et ál., *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E. L., *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGrawHill, NY, 1962); y Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

[0111] También cabe señalar que los compuestos pueden incluir isómeros E y Z o una mezcla de estos, así como isómeros cis y trans o una mezcla de estos. En determinadas modalidades, los compuestos se aíslan como isómero cis o trans. En otras modalidades, los compuestos son una mezcla de los isómeros en cis y trans.

[0112] «Tautómeros» hace referencia a formas isoméricas de un compuesto que están en equilibrio entre sí. Las concentraciones de las formas isoméricas dependerán del entorno en el que se encuentre el compuesto y pueden diferir dependiendo, por ejemplo, de si el compuesto es un sólido o se encuentra en una solución orgánica o acuosa. Por ejemplo, en solución acuosa, los pirazoles pueden presentar las siguientes formas isoméricas, que se indican como tautómeros entre sí:



[0113] Como comprenderá fácilmente un experto en la técnica, una amplia variedad de grupos funcionales y otras estructuras pueden presentar tautomerismo y todos los tautómeros de los compuestos están comprendidos por el alcance de la presente descripción.

[0114] También cabe señalar que los compuestos pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más átomos. Por ejemplo, los compuestos pueden estar radiomarcados con isótopos radiactivos, tales como por ejemplo tritio ( $^3\text{H}$ ), yodo 125 ( $^{125}\text{I}$ ), azufre 35 ( $^{35}\text{S}$ ), o carbono 14 ( $^{14}\text{C}$ ), o pueden estar enriquecido isotópicamente, como con deuterio ( $^2\text{H}$ ), carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ ) o nitrógeno 15 ( $^{15}\text{N}$ ). Tal como se usa en la presente, un «isotopólogo» es un compuesto enriquecido isotópicamente. La expresión «enriquecido de forma isotópica» hace referencia a un átomo con una composición isotópica diferente a la composición isotópica natural de ese átomo. «Enriquecido de forma isotópica» también

puede hacer referencia a un compuesto con al menos una posición atómica que tiene una composición isotópica diferente a la composición isotópica natural de ese átomo. La expresión «composición isotópica» hace referencia a la cantidad de cada isótopo presente para un átomo específico. Los compuestos radiomarcados y enriquecidos de forma isotópica son útiles como agentes terapéuticos, por ejemplo, agentes terapéuticos contra 5 cáncer e inflamación, reactivos de investigación, por ejemplo, reactivos de ensayos de unión y agentes de diagnóstico, por ejemplo, agentes de imagenología in vivo. Se pretende que todas las variaciones isotópicas de los compuestos, como se describen en la presente, ya sean radioactivas o no, se encuentren comprendidas dentro del alcance de las modalidades 10 que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, se proporcionan isotopólogos de los compuestos, por ejemplo, los isotopólogos son compuestos enriquecidos en deuterio, carbono 13 o nitrógeno 15.

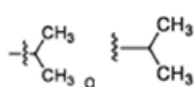
[0115] Cabe señalar que, si existe una discrepancia entre una estructura representada y un nombre para esa estructura, la estructura representada debe recibir más peso.

15 [0116] Tal como se usa en la presente, el término «residuo» se refiere al resto químico dentro de un compuesto que queda después de una reacción química. Por ejemplo, el término «residuo aminoácido» o «residuo de N-alquilaminoácido» se refiere al producto de un acoplamiento de amida o de un acoplamiento de péptido de un aminoácido o un N-alquilaminoácido a un compañero de acoplamiento adecuado; en donde, por ejemplo, se 20 expulsa una molécula de agua después del acoplamiento amida o peptídico del aminoácido o del N-alquilaminoácido, lo que da como resultado el producto que tiene el residuo de aminoácido o el residuo de N-alquilaminoácido incorporado en este.

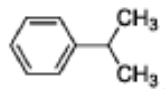
[0117] Como se usa en la presente, «azúcar» o «grupo de azúcar» o «residuo de azúcar» se refiere a un resto de carbohidrato que puede comprender unidades (tosa) de 3 carbonos, 25 unidades (tetrosa) de 4 carbonos, unidades (pentosas) de 5 carbonos, unidades (hexosa) de 6 carbonos, unidades (heptosa) de 7 carbonos, o combinaciones de estas, y puede ser un monosacárido, un disacárido, un trisacárido, un tetrasacárido, un pentasacárido, un oligosacárido o cualquier otro polisacárido. En algunos casos, un «azúcar» o «grupo de azúcar» o «residuo de azúcar» comprende furanosas (por ejemplo, ribofurano- 30 sa, fructofurano- sa) o piranosas (por ejemplo, glucopirano- sa, galactopirano- sa), o una combinación de estas. En algunos casos, un «azúcar» o «grupo de azúcar» o «residuo de azúcar» comprende aldosas o cetosas, o una combinación de estas. Los ejemplos no

taxativos de monosacáridos incluyen ribosa, desoxirribosa, xilosa, arabinosa, glucosa, manosa, galactosa y fructosa. Los ejemplos no taxativos de disacáridos incluyen sacarosa, maltosa, lactosa, lactulosa y trehalosa. Otros «azúcares» o «grupos de azúcar» o «residuos de azúcar» incluyen polisacáridos y/u oligosacáridos, incluidos, de modo no taxativo, amilosa, amilopectina, glucógeno, inulina y celulosa. En algunos casos, un «azúcar» o «grupo de azúcar» o «residuo de azúcar» es un aminoazúcar. En algunos casos, un «azúcar» o «grupo de azúcar» o «residuo de azúcar» es un residuo de glucamina (1-amino-1-desoxi-D-glucitol) enlazado al resto de la molécula a través de su grupo amino para formar un enlace de amida con el resto de la molécula (es decir, una glucamida).

- 10 [0118] Ciertos grupos, restos, sustituyentes y átomos se representan con una línea ondulante, por ejemplo, que cruza un enlace o enlaces para indicar el átomo a través del cual se unen los grupos, restos, sustituyentes y átomos. Por ejemplo, un grupo fenilo sustituido con un grupo propilo representado como:



tiene la siguiente estructura:



- 15 [0119] Como se usa en la presente, «agente aglutinante» se refiere a cualquier molécula, por ejemplo, anticuerpo, capaz de unirse con especificidad a un compañero de unión dado, por ejemplo, antígeno.

- [0120] Tal como se usa en la presente, la expresión, el término «aminoácido» se refiere a un compuesto orgánico que contiene grupos funcionales amino ( $-NH_2$ ) y carboxilo ( $-COOH$ ), junto con una cadena lateral (grupo R), que es específica para cada aminoácido. Los aminoácidos pueden ser proteinogénicos o no proteinogénicos. Por «proteinogénico» se entiende que el aminoácido es uno de los veinte aminoácidos naturales que se encuentran en las proteínas. Los aminoácidos proteinogénicos incluyen alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina. Por «no proteinogénico» se entiende que el aminoácido no se encuentra naturalmente en la proteína o no es producido directamente por la maquinaria celular (por ejemplo, es el producto de una modificación postraduccional). Los ejemplos no taxativos de aminoácidos no proteinogénicos incluyen ácido gamma-aminobutírico (GABA), taurina (ácido 2-aminoetanosulfónico), teanina (L- $\gamma$ -glutamiletilamida), hidroxiprolina, beta-alanina,

ornitina y citrulina.

[0121] Como se usa en la presente, «péptido», en sus diversas formas gramaticales, se define en su sentido más amplio para referirse a un compuesto de dos o más subunidades de aminoácidos, análogos de aminoácidos u otros peptidomiméticos. Las subunidades pueden estar unidas mediante enlaces peptídicos o mediante otros enlaces, por ejemplo, éster, éter y similares. Tal como se usa en la presente, el término «aminoácido» se refiere a los aminoácidos naturales y/o no naturales, proteinogénicos o no proteinogénicos o sintéticos, incluida la glicina y los isómeros ópticos D y L, y los análogos de aminoácidos y peptidomiméticos. Si la cadena peptídica es corta, por ejemplo, dos, tres o más aminoácidos, comúnmente se denomina oligopéptido. Si la cadena peptídica es más larga, el péptido normalmente se denomina polipéptido o proteína. La definición abarca proteínas de longitud completa, análogos, mutantes y fragmentos de estas. Los términos también incluyen modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilación, acetilación, fosforilación y similares. Además, como en la molécula están presentes los grupos amino y carboxilo ionizables, se puede obtener un péptido particular como una sal ácida o básica, o en forma neutra. Un péptido puede obtenerse directamente del organismo fuente o puede producirse de forma recombinante o sintética.

[0122] La secuencia de aminoácidos de un anticuerpo se puede numerar mediante el uso de cualquier esquema de numeración conocido, incluidos los descritos por Kabat et ál., (esquema de numeración de «Kabat»); Al-Lazikani et ál., 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948 (esquema de numeración de «Chothia»); MacCallum et ál., 1996, J. Mol. Biol. 262:732-745 (esquema de numeración «Contact»); Lefranc et ál., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27:55-77 (esquema de numeración «IMGT»); y Honegare y Pluckthun, J. Mol. Biol., 2001, 309:657-70 (esquema de numeración «AHO»). A menos que se especifique lo contrario, el esquema de numeración usado en la presente es el esquema de numeración de Kabat. Sin embargo, no se pretende que la selección de un esquema de numeración implique diferencias en secuencias cuando no las hay, y un experto en la técnica puede confirmar fácilmente la posición de una secuencia examinando la secuencia de aminoácidos de uno o más anticuerpos. A menos que se indique lo contrario, el «esquema de numeración EU» se usa generalmente cuando se hace referencia a un residuo en una región constante de cadena pesada de un anticuerpo (por ejemplo, como se menciona en Kabat et ál., supra).

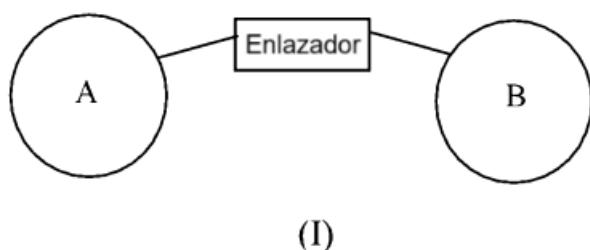
[0123] Como se usa en la presente, el término «actividad destructora de células» se

refiere a la actividad que disminuye o reduce la viabilidad celular de la estirpe celular analizada.

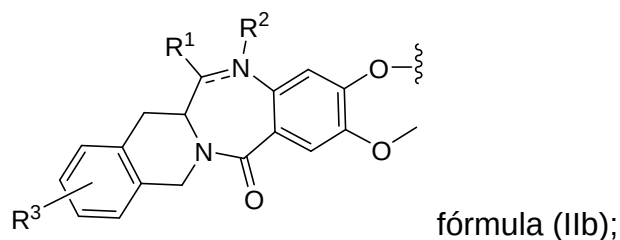
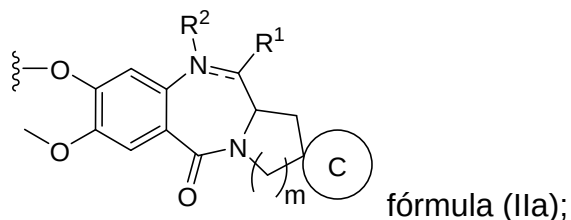
[0124] En las reivindicaciones que siguen y en la descripción anterior de la invención, excepto cuando el contexto requiera lo contrario debido al lenguaje expreso o implicación necesaria, la palabra «comprenden» o variaciones tales como «comprende» o «que comprende» se usa en un sentido inclusivo, es decir, para especificar la presencia de las características indicadas, pero sin excluir la presencia o adición de características adicionales en diversas modalidades.

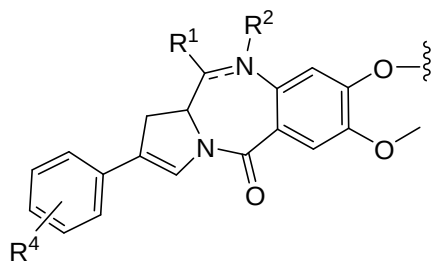
## 7.2. Compuestos de PBD

[0125] En la presente se describen compuestos de la Fórmula (I):

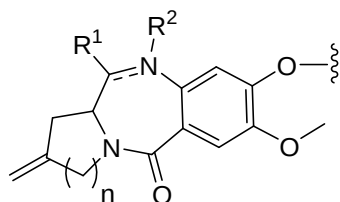


o una sal, tautómero, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos, donde: cada uno del anillo A y del anillo B es, independientemente, una de las siguientes fórmulas:

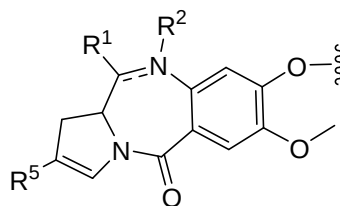




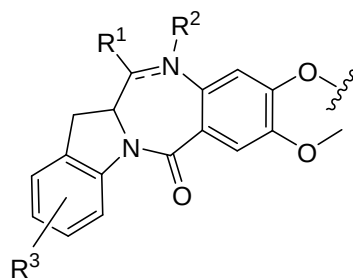
fórmula (IIc);



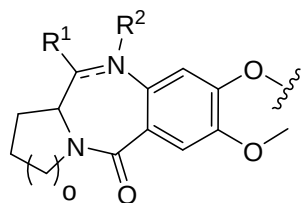
fórmula (IIId);



fórmula (IIe);



fórmula (IIIf); o



fórmula (IIg);

~~~~~ Indica el punto de unión al enlazador;

El enlazador es $-(CH_2)_r-$, $-(CH_2)_p-X-(CH_2)_q-$, o $-(CH_2)_p-CH=CH-(CH_2)_q-$;

X es NR^6 , $NHC(=O)$, $C(=O)NH$, O, SO_2 , un anillo arilo divalente sustituido o no sustituido, un anillo heteroarilo divalente sustituido o no sustituido, un anillo heterocíclico divalente sustituido o no sustituido, o un anillo cíclico divalente sustituido o no sustituido;

el anillo C es un anillo de ciclopropilo o un anillo de ciclobutilo;

cada uno de los enlaces punteados entre $-C(R^1)-$ y $-N(R^2)-$ es, independientemente, un enlace simple o un enlace doble;

cuando el enlace punteado es un enlace simple, cada R^1 es, independientemente, H u OH, y cada R^2 es, independientemente, H;

cuando el enlace punteado es un enlace doble, cada R^1 es, independientemente, H, y cada R^2 está, independientemente, ausente;

- 5 cada uno de R^3 y R^4 , independientemente, es H, NH_2 , NR^aR^b , OH, alquilo C_{1-4} , alcoxilo C_{1-4} o arilo, y R^a y R^b son independientemente H o alquilo C_{1-4} ;

R^5 es H, alquilo C_{1-4} , alcoxilo C_{1-4} o arilo;

R^6 es H o alquilo C_{1-4} ;

cada uno de m, n y o es, independientemente, 1 o 2;

- 10 cada uno de r, p y q, es, independientemente, un número entero de 1 a 8; y
la suma de p y q es un número entero de 1 a 8.

[0126] En algunas modalidades, X es NR^6 , $NHC(=O)$, O, un anillo arilo sustituido o no sustituido, un anillo heteroarilo sustituido o no sustituido, un anillo heterocíclico sustituido o no sustituido, o un anillo cíclico sustituido o no sustituido.

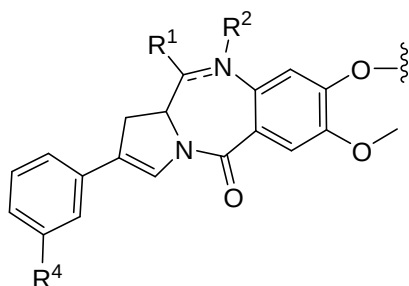
- 15 [0127] En algunas modalidades, el anillo A y el anillo B tienen la misma fórmula.

[0128] En algunas modalidades, el anillo A y el anillo B tienen una fórmula distinta.

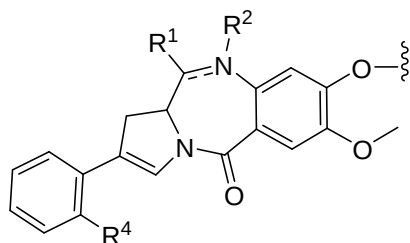
[0129] En algunas modalidades, cuando el enlazador es $-(CH_2)_r-$, el anillo A y el anillo B no tienen la misma fórmula.

- [0130] En algunas modalidades, cuando el enlazador es $-(CH_2)_r-$, el anillo A tiene la
20 fórmula (IIa) y el anillo B tiene la fórmula (IIb).

- [0131] En algunas modalidades, cuando el enlazador es $-(CH_2)_p-X-(CH_2)_q-$ o $-(CH_2)_p-CH=CH-(CH_2)_q-$, el anillo A es de fórmula (IIa), m es 2 en el anillo A y el anillo B es uno de fórmula (IIa), (IIb), (IIc), (IIId), (IIe), (IIIf) y (IIg). En algunas modalidades, cuando el enlazador es $-(CH_2)_p-X-(CH_2)_q-$ o $-(CH_2)_p-CH=CH-(CH_2)_q-$, el anillo A es de fórmula (IIa), m es 1 en el
25 anillo A y el anillo B es uno de fórmula (IIa), (IIb), (IIc), (IIId), (IIe), (IIIf) y (IIg). En algunas modalidades, la fórmula (IIc) es la siguiente fórmula (IIc3) o fórmula (IIc4):



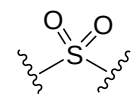
fórmula (IIc3), o



fórmula (IIc4).

[0132] En algunas modalidades, cuando el enlazador es $-(CH_2)_p-X-(CH_2)_q-$ o $-(CH_2)_p-CH=CH-(CH_2)_q-$, el anillo A es de fórmula (IIa), y el anillo B es uno de fórmula (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIE), (IIf) o (IIg).

5 [0133] En algunas modalidades, el enlazador es $-(CH_2)_r-$, $-(CH_2)_p-X-(CH_2)_q-$, o $-(CH_2)_p-$

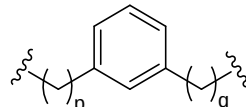
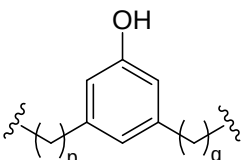
$CH=CH-(CH_2)_q-$; X es O, NR^6 , $NHC(=O)$, $-(m-C_6H_4)-$,  o . En algunas modalidades, R^6 es H o metilo.

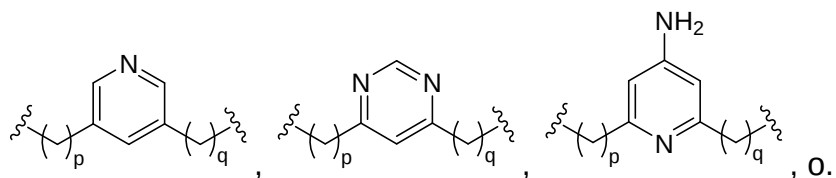
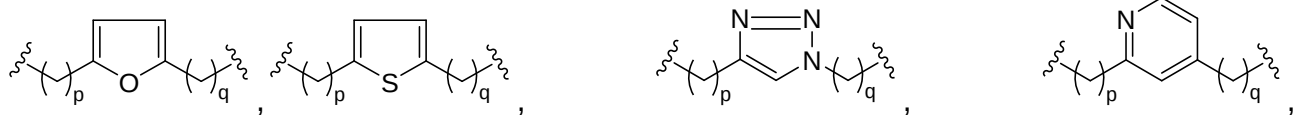
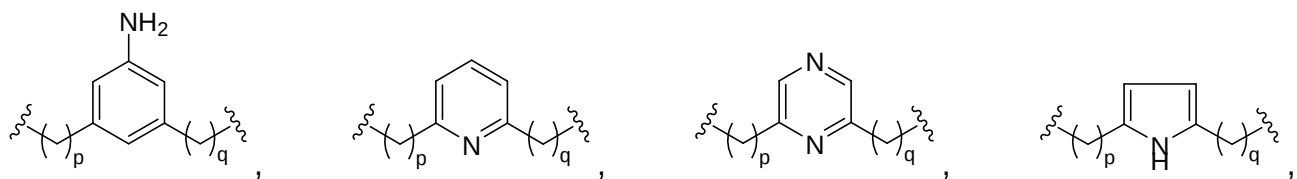
[0134] En algunas modalidades, el enlazador es $-(CH_2)_r-$.

[0135] En algunas modalidades, r es 3 o 5.

10 [0136] En algunas modalidades, el enlazador es $-(CH_2)_p-O-(CH_2)_q-$ o $-(CH_2)_p-NH-(CH_2)_q-$.

[0137] En algunas modalidades, la suma de p y q es 4.

[0138] En algunas modalidades, el enlazador es , ,



15

[0139] En algunas modalidades, la suma de p y q es 2.



[0140] En algunas modalidades, el enlazador es

[0141] En algunas modalidades, la suma de p y q es 2.

[0142] En algunas modalidades, el enlazador es $-(CH_2)_p-CH=CH-(CH_2)_q-$.

[0143] En algunas modalidades, la suma de p y q es 3.

5 [0144] En algunas modalidades, el anillo B es la fórmula (IIa).

[0145] En algunas modalidades, m es 1.

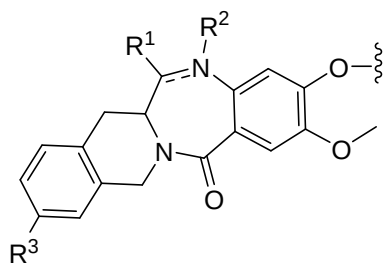
[0146] En algunas modalidades, el anillo C es un anillo de ciclopropilo.

[0147] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo B es un enlace simple, R^1 es H u OH, y R^2 es H.

10 [0148] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo B es un enlace doble, R^1 es H, y R^2 está ausente.

[0149] En algunas modalidades, el anillo A es la fórmula (IIb).

[0150] En algunas modalidades, el anillo A es la fórmula (IIb2):



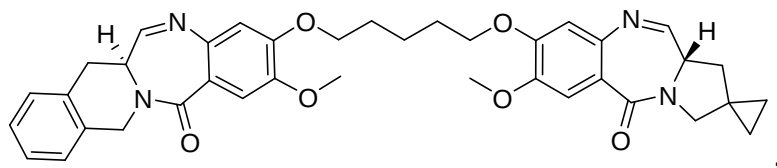
(IIb2).

15 [0151] En algunas modalidades, R^3 es H.

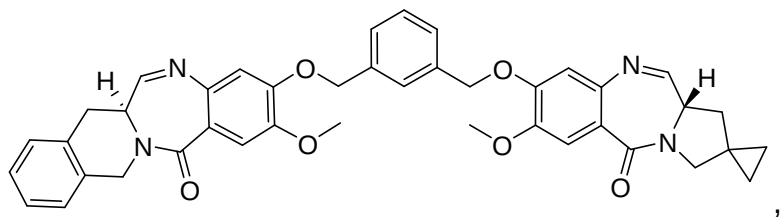
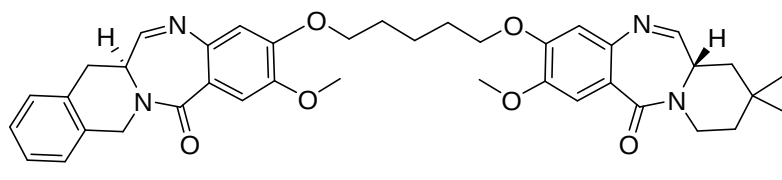
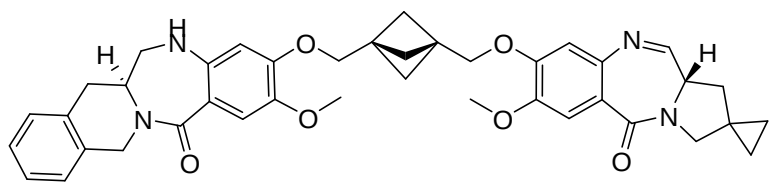
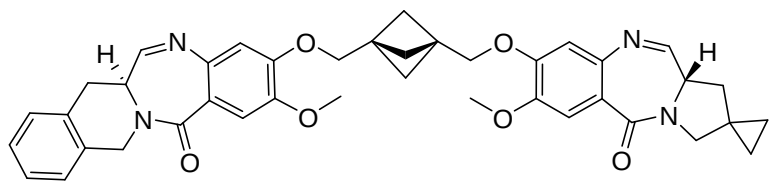
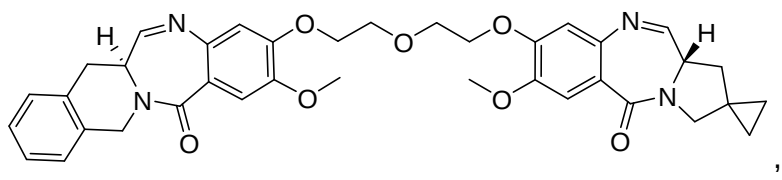
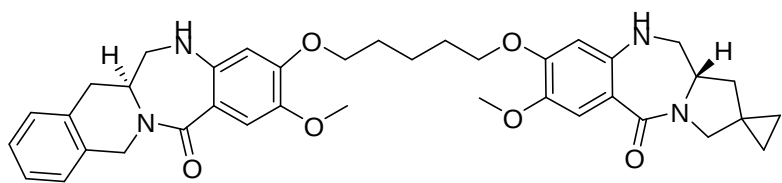
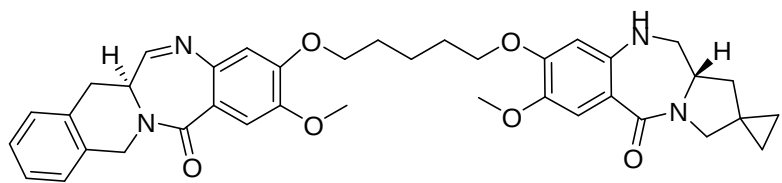
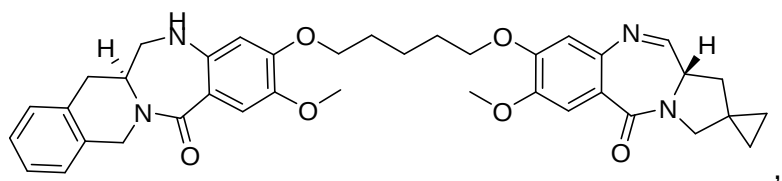
[0152] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace simple, R^1 es H u OH, y R^2 es H.

[0153] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace doble, R^1 es H, y R^2 está ausente.

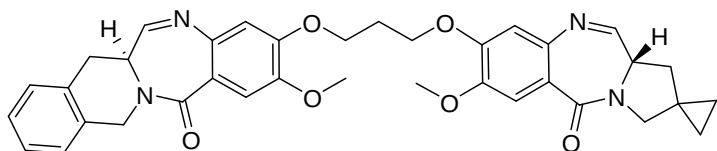
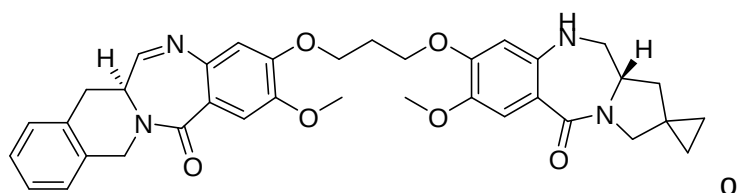
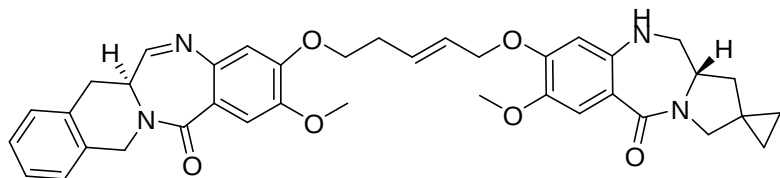
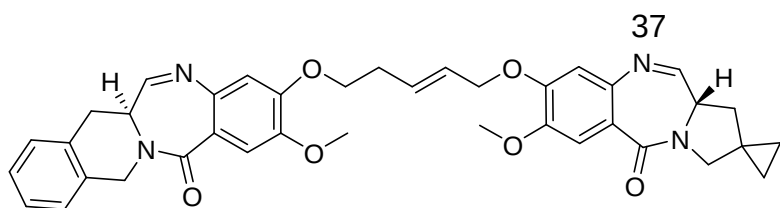
20 [0154] En algunas modalidades, el compuesto es



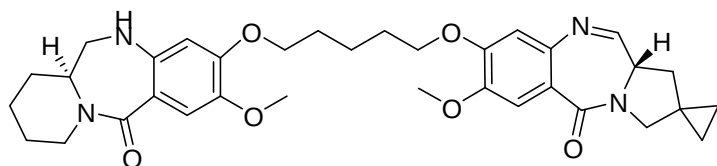
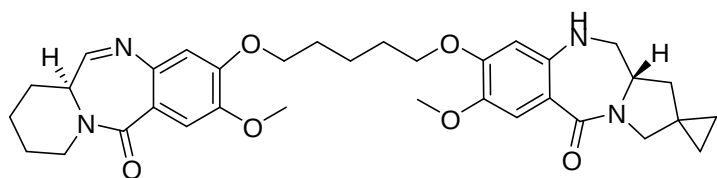
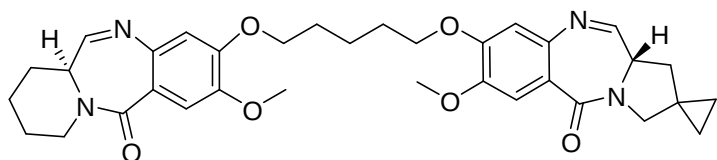
36

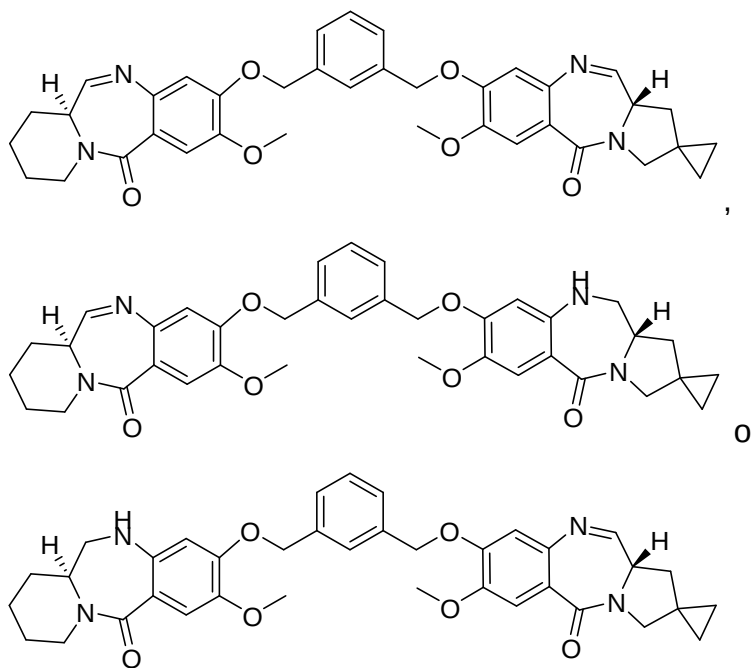


5



- 5 [0155] En algunas modalidades, el anillo A es la fórmula (IIg).
- [0156] En algunas modalidades, o es 2.
- [0157] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace simple, R^1 es H u OH, y R^2 es H.
- [0158] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace doble, R^1 es H, y R^2 está ausente.
- 10 [0159] En algunas modalidades, el compuesto es





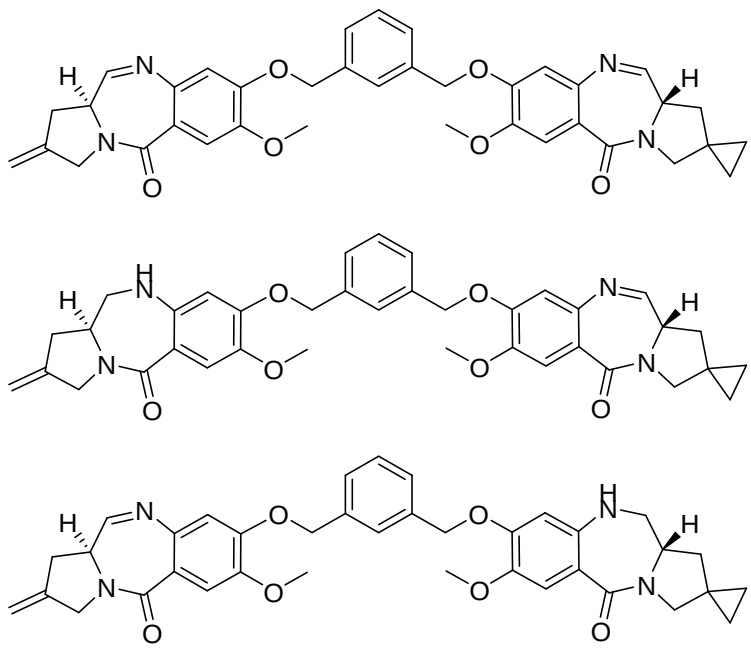
[0160] En algunas modalidades, el anillo A es la fórmula (IId).

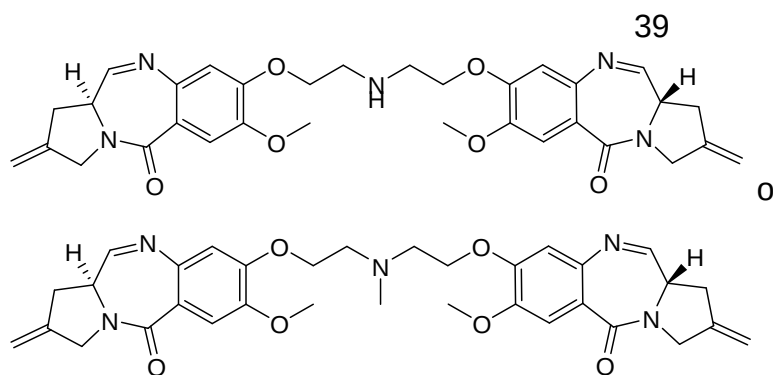
5 [0161] En algunas modalidades, n es 1.

[0162] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace simple, R^1 es H u OH, y R^2 es H.

[0163] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace doble, R^1 es H, y R^2 está ausente.

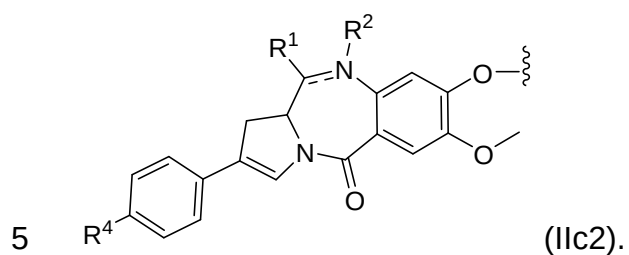
10 [0164] En algunas modalidades, el compuesto es





[0165] En algunas modalidades, el anillo A es la fórmula (IIc).

[0166] En algunas modalidades, el anillo A es la fórmula (IIc2):

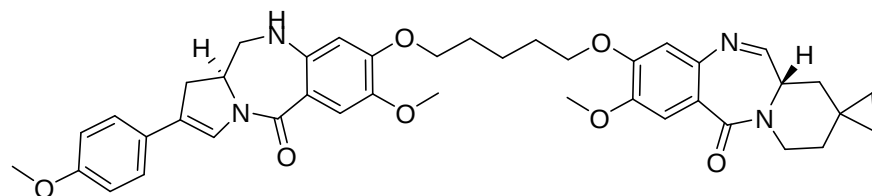


[0167] En algunas modalidades, R⁴ es CH₃O-.

[0168] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace simple, R¹ es H u OH, y R² es H.

10 [0169] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace doble, R¹ es H, y R² está ausente.

[0170] En algunas modalidades, el compuesto es



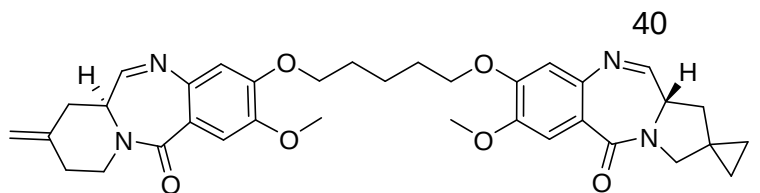
[0171] En algunas modalidades, el anillo A es la fórmula (IIId).

[0172] En algunas modalidades, n es 2.

15 [0173] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace simple, R¹ es H u OH, y R² es H.

[0174] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace doble, R¹ es H, y R² está ausente.

[0175] En algunas modalidades, el compuesto es



[0176] En algunas modalidades, el anillo A es la fórmula (Ile).

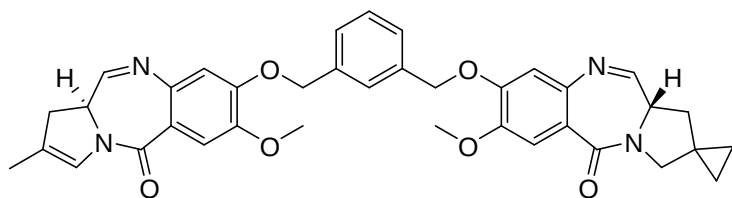
[0177] En algunas modalidades, R^5 es metilo.

[0178] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace simple,

5 R^1 es H u OH, y R^2 es H.

[0179] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo A es un enlace doble, R^1 es H, y R^2 está ausente.

[0180] En algunas modalidades, el compuesto es



10 [0181] En algunas modalidades, cada uno del anillo A y del anillo B, independientemente, comprende la fórmula (IIa).

[0182] En algunas modalidades, m es 1.

[0183] En algunas modalidades, el anillo C es un anillo de ciclopropilo.

[0184] En algunas modalidades, cuando el enlace punteado en el anillo A es un enlace

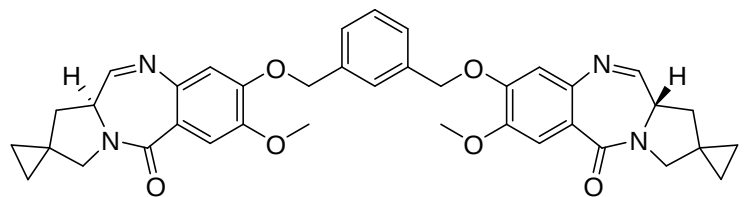
15 simple, R^1 es H u OH, y R^2 es H.

[0185] En algunas modalidades, cuando el enlace punteado en el anillo A es un enlace doble, R^1 es H, y R^2 está ausente.

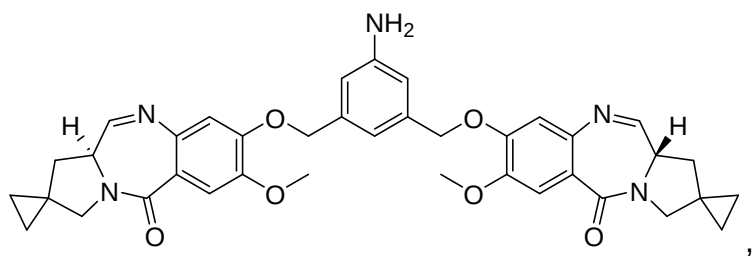
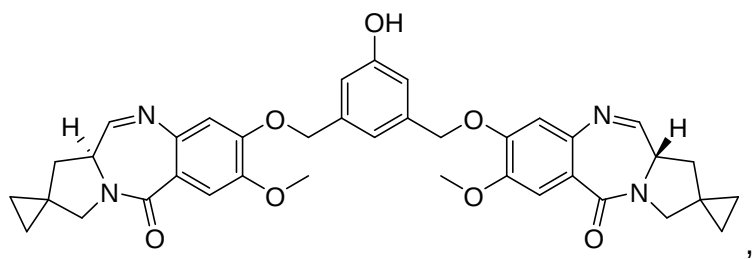
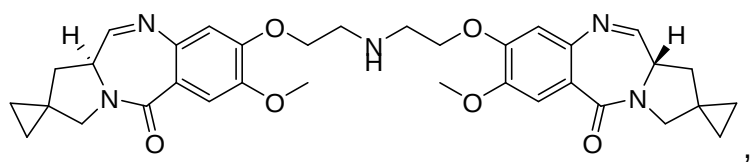
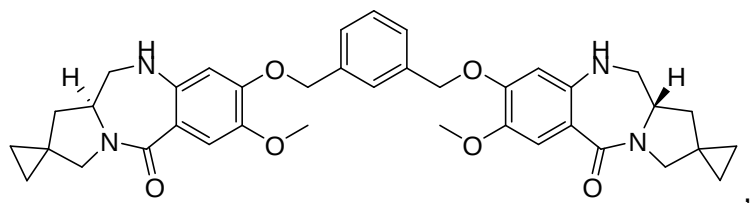
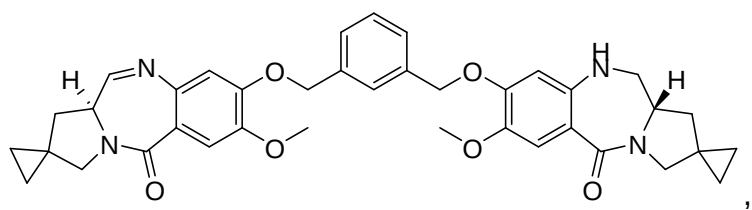
[0186] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo B es un enlace simple, R^1 es H u OH, y R^2 es H.

20 [0187] En algunas modalidades, el enlace punteado en el anillo B es un enlace doble, R^1 es H, y R^2 está ausente.

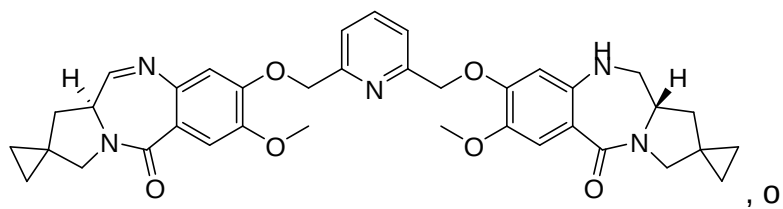
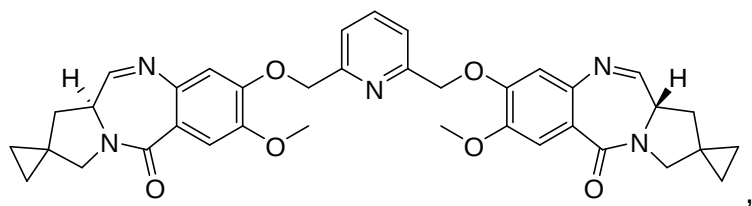
[0188] En algunas modalidades, el compuesto es

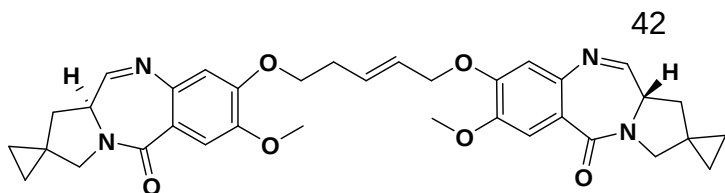


41



5

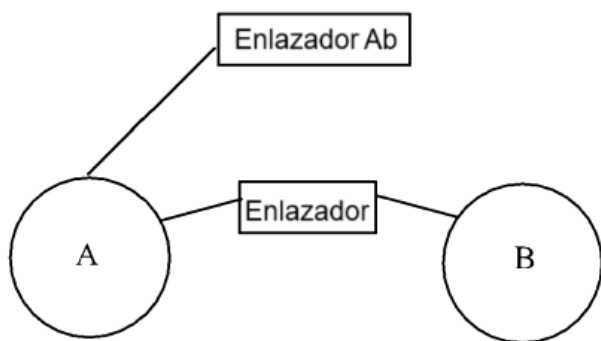




7.3. Compuestos de carga útil de enlace

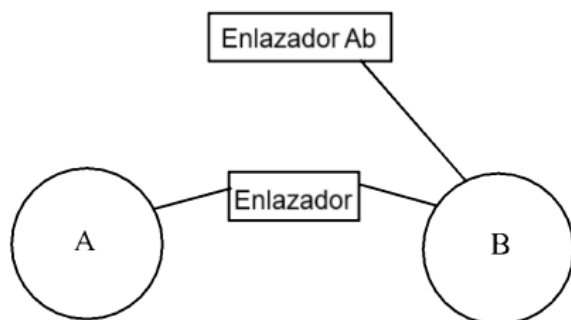
[0189] También se divulgan en la presente compuestos, o una sal, tautómero, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos, incluido un enlazador covalente acoplado a un residuo de al menos un compuesto basado en PBD divulgado en la presente. El enlazador covalente (o «Enlazador Ab») es capaz de unirse a un agente de unión, para formar un conjugado, como se describe a continuación.

[0190] En algunas modalidades, los compuestos tienen una de las siguientes fórmulas:



Fórmula B(i)

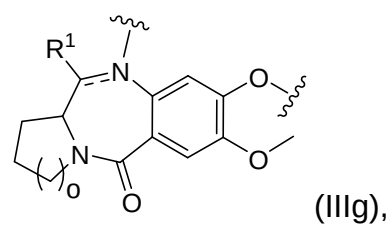
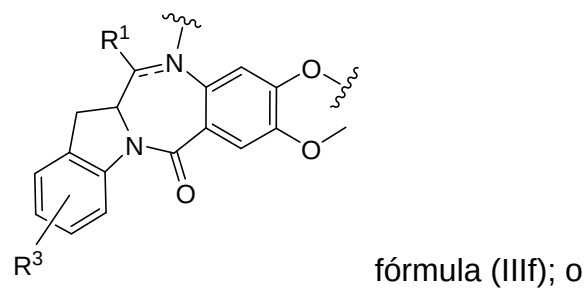
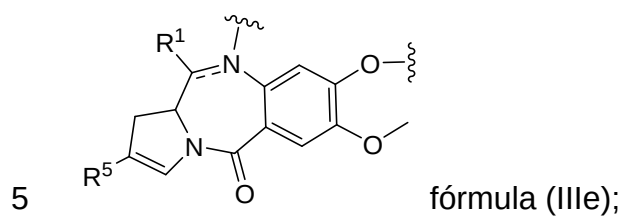
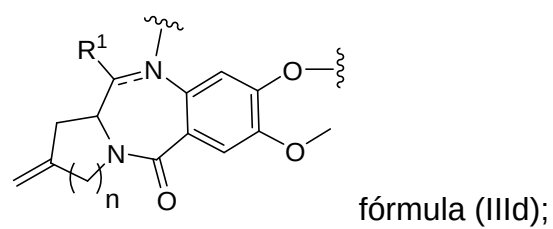
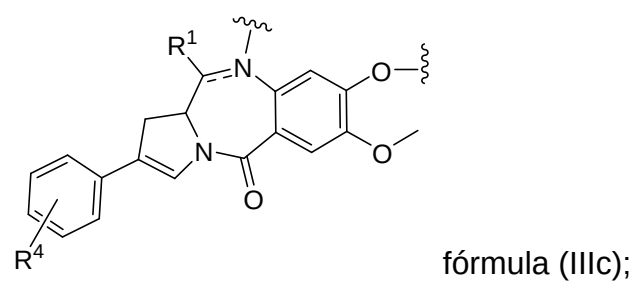
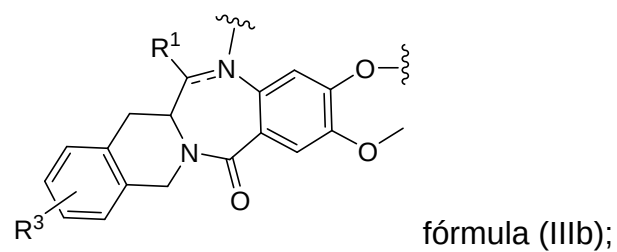
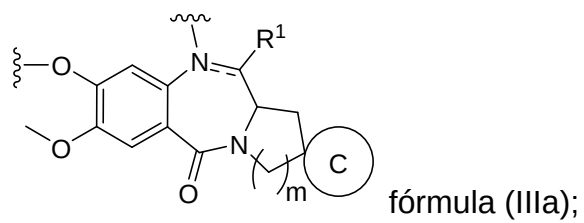
o



Fórmula B(ii)

, o una sal, tautómero, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptables de estos, donde:

cada uno del anillo A y del anillo B es, independientemente, una de las siguientes fórmulas:



~~~~ Indica el punto de unión al enlazador o enlazador Ab;

El enlazador es  $-(CH_2)_r-$ ,  $-(CH_2)_p-X-(CH_2)_q-$ , o  $-(CH_2)_p-CH=CH-(CH_2)_q-$ ;

X es  $NR^6$ ,  $NHC(=O)$ ,  $C(=O)NH$ , O,  $SO_2$ , un anillo arilo sustituido o no sustituido, un anillo heteroarilo sustituido o no sustituido, un anillo heterocíclico sustituido o no sustituido, o un anillo cíclico sustituido o no sustituido;

el anillo C es un anillo de ciclopropilo o un anillo de ciclobutilo;

cada uno de los enlaces punteados ----- entre  $-C(R^1)-$  y  $-N(R^2)-$  es, independientemente, un enlace simple o un enlace doble;

cuando el enlace punteado es un enlace simple, cada  $R^1$  es, independientemente, H u OH, y cada  $R^2$  es H;

cuando el enlace punteado es un enlace doble, cada  $R^1$  es, independientemente, H, y cada  $R^2$  está ausente;

cada uno de  $R^3$  y  $R^4$  es, independientemente, H,  $NH_2$ ,  $NR^aR^b$ , OH, alquilo  $C_{1-4}$ , alcoxilo  $C_{1-4}$  o arilo;

$R^a$  y  $R^b$  son cada uno independientemente H o alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^5$  es H, alquilo  $C_{1-4}$ , alcoxilo  $C_{1-4}$  o arilo;

$R^6$  es H o alquilo  $C_{1-4}$ ;

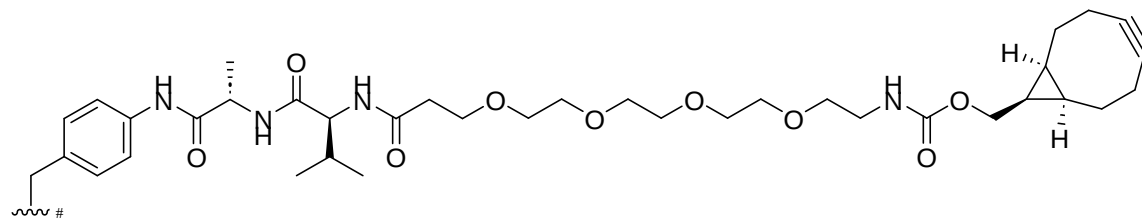
cada uno de m, n y o es, independientemente, 1 o 2;

cada uno de r, p y q, es, independientemente, un número entero de 1 a 8;

la suma de p y q es un número entero de 1 a 8; y

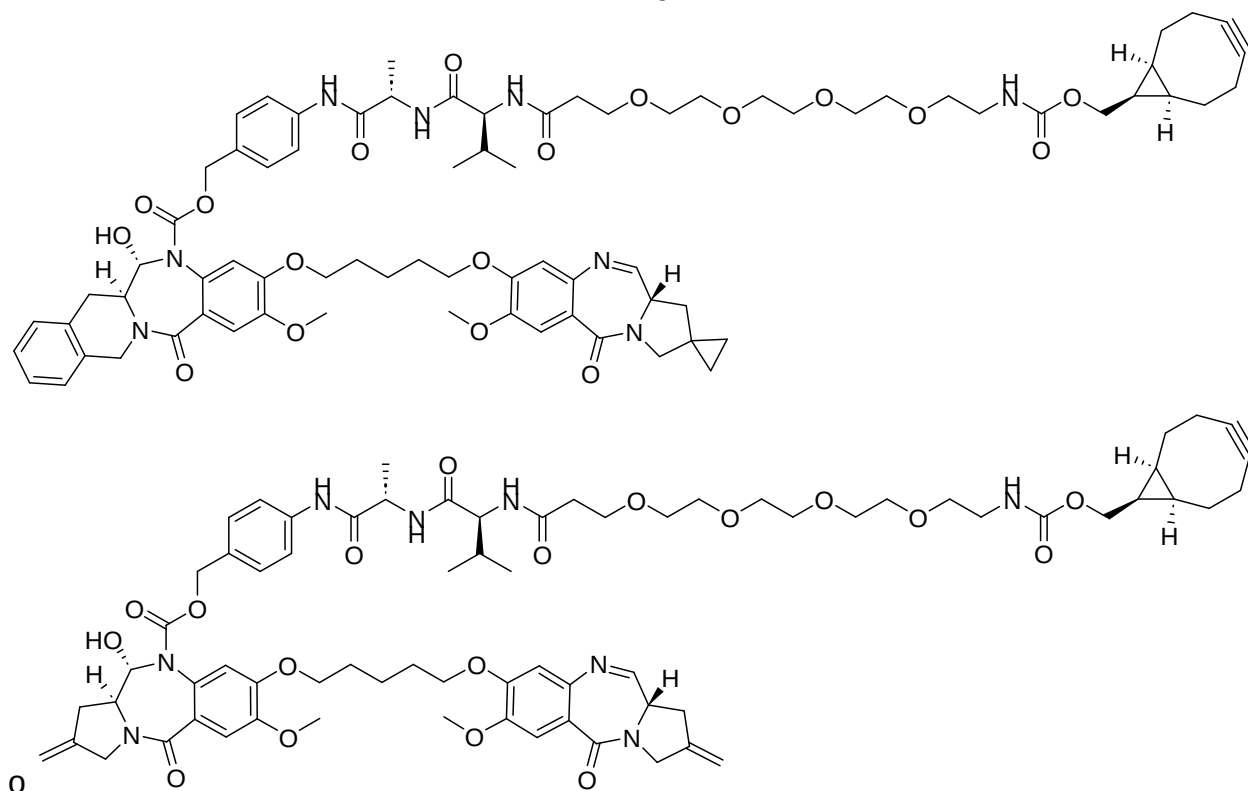
El enlazador Ab es un compuesto capaz de unir el anillo A o el anillo B a un agente de unión.

[0191] En algunas modalidades, el enlazador Ab tiene la siguiente fórmula:



donde ~~~~# indica el punto de unión al anillo A o al anillo B.

[0192] En algunas modalidades, el compuesto tiene la siguiente fórmula:

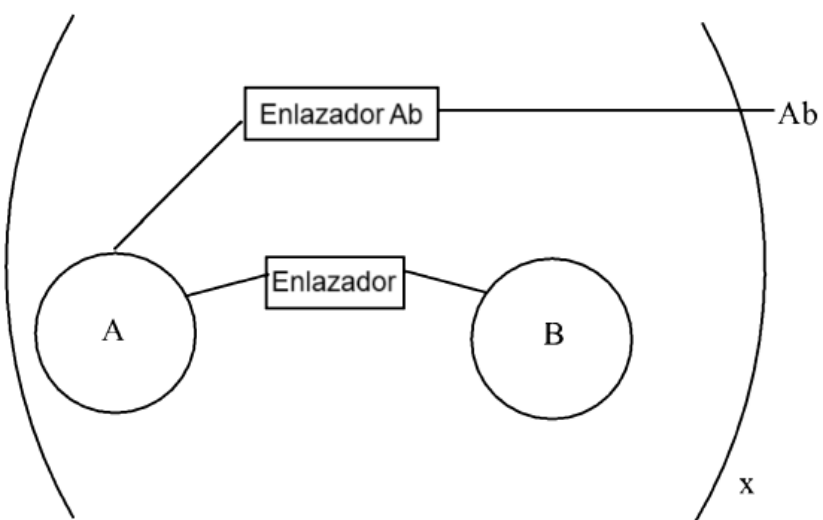


#### 7.4. Conjugados

[0193] También se divulgan en la presente conjugados, o una sal, tautómero, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos, incluido una proteína acoplada a un residuo de al menos un compuesto basado en PBD divulgado en la presente mediante un enlazador covalente. En algunas modalidades, la proteína es un agente de unión, tal como un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. El conjugado puede ser un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC).

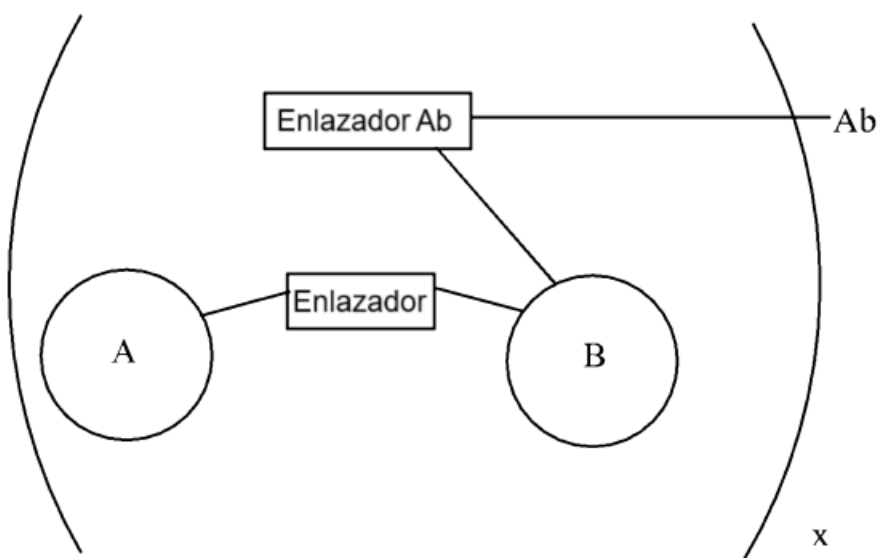
[0194] En algunas modalidades, la proteína está unida directamente a un enlazador covalente, tal como un enlazador Ab establecido en la presente. En dichos casos, el agente de unión está a una posición de enlace de distancia con respecto al enlazador covalente. El enlazador covalente también puede unirse directamente a un residuo de carga útil de modo que el enlazador covalente esté a una posición de enlace de distancia con respecto a un residuo de carga útil. La carga útil puede ser cualquier compuesto basado en PBD establecido en la presente.

[0195] En algunas modalidades, los conjugados tienen una de las siguientes fórmulas:



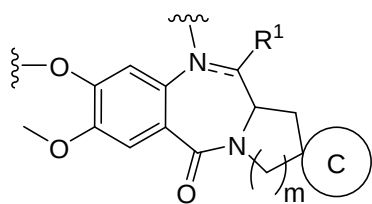
Fórmula A(i)

o

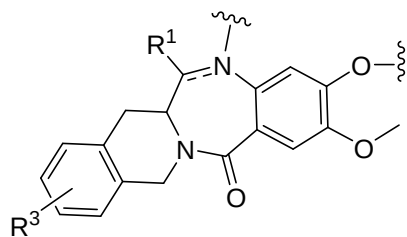


Fórmula A(ii)

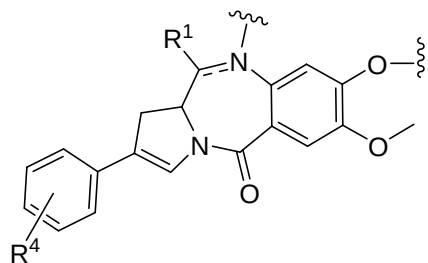
, o una sal, tautómero, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptables de estos, donde: cada uno del anillo A y del anillo B es, independientemente, una de las siguientes fórmulas:



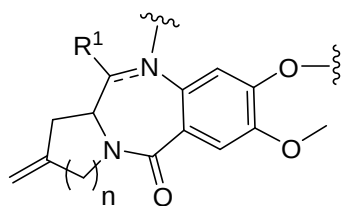
fórmula (IIIa);



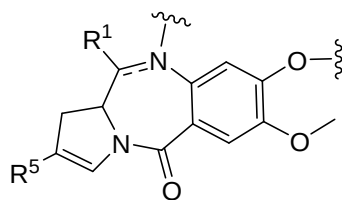
fórmula (IIIb);



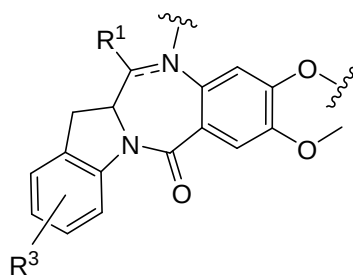
fórmula (IIIc);



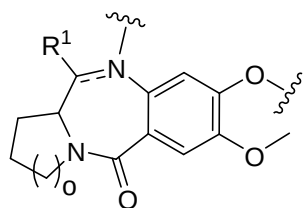
fórmula (IIIId);



fórmula (IIIE);



fórmula (IIIIf); o



(IIIg),

~~~~~ Indica el punto de unión al enlazador o enlazador Ab;

El enlazador es $-(CH_2)_r-$, $-(CH_2)_p-X-(CH_2)_q-$, o $-(CH_2)_p-CH=CH-(CH_2)_q-$;

X es NR^6 , $NHC(=O)$, $C(=O)NH$, O, SO_2 , un anillo arilo sustituido o no sustituido, un anillo

heteroarilo sustituido o no sustituido, un anillo heterocíclico sustituido o no sustituido, o un

anillo cíclico sustituido o no sustituido;

el anillo C es un anillo de ciclopropilo o un anillo de ciclobutilo;

cada uno de los enlaces punteados entre $-C(R^1)-$ y $-N(R^2)-$ es, independientemente, un enlace simple o un enlace doble;

- 5 cuando el enlace punteado es un enlace simple, cada R^1 es, independientemente, H u OH, y cada R^2 es, independientemente, H;

cuando el enlace punteado es un enlace doble, cada R^1 es, independientemente, H, y cada R^2 está, independientemente, ausente;

- 10 cada uno de R^3 y R^4 , independientemente, es H, NH_2 , NR^aR^b , OH, alquilo C_{1-4} , alcoxilo C_{1-4} o arilo, y R^a y R^b son independientemente H o alquilo C_{1-4} ;

R^5 es H, alquilo C_{1-4} , alcoxilo C_{1-4} o arilo;

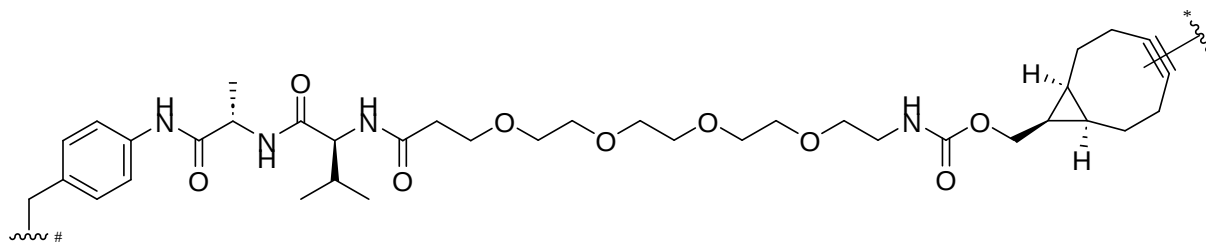
R^6 es H o alquilo C_{1-4} ;

cada uno de m, n y o es, independientemente, 1 o 2;

cada uno de r, p y q, es, independientemente, un número entero de 1 a 8; y

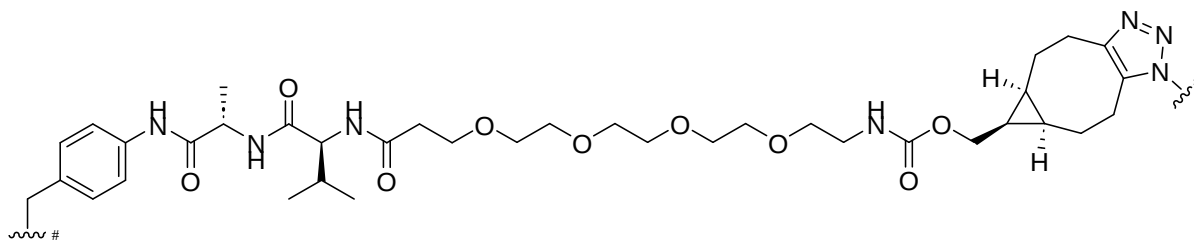
- 15 la suma de p y q es un número entero de 1 a 8.

[0196] En algunas modalidades, el enlazador Ab tiene la siguiente fórmula:



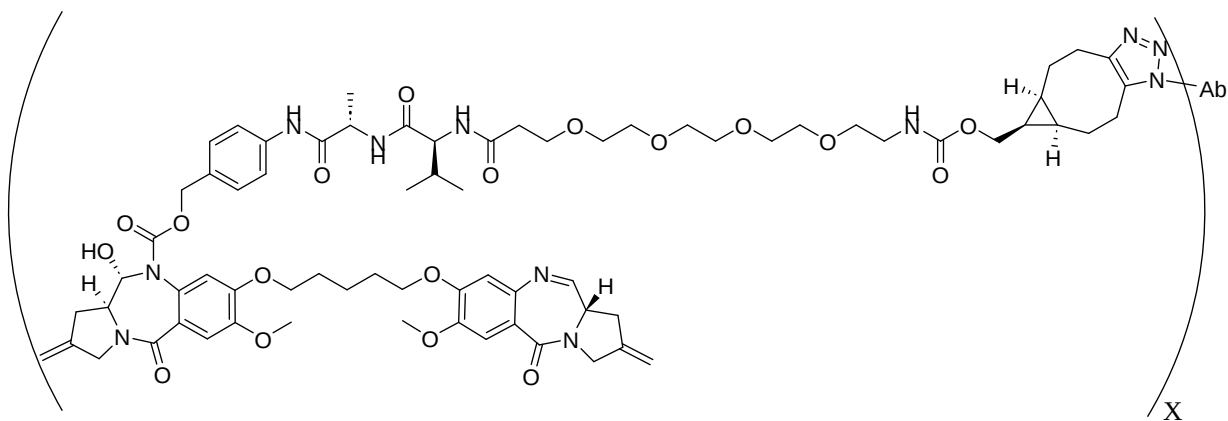
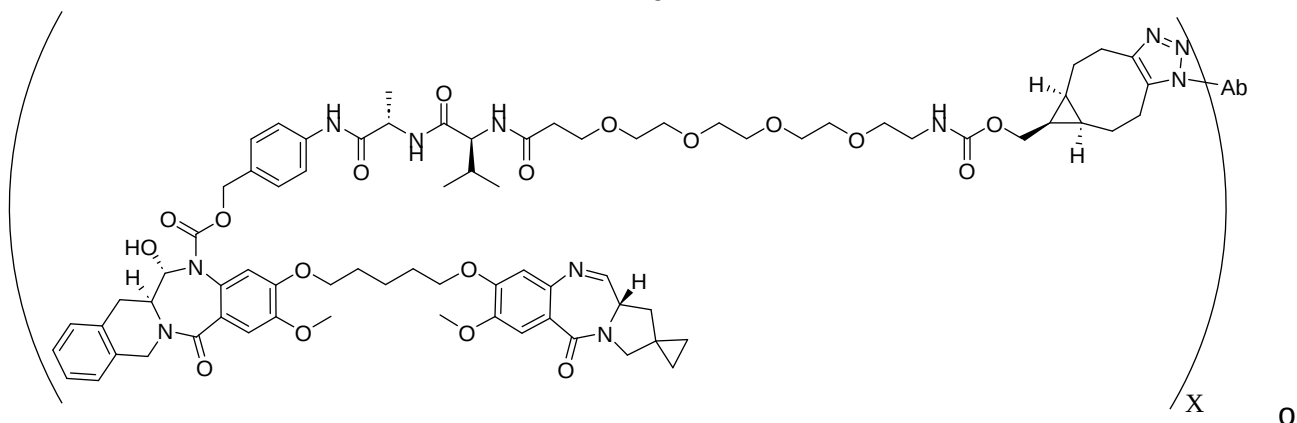
~~~~~\* indica un punto de unión a Ab, y ~~~~~# indica un punto de unión al anillo A o al anillo B.

- 20 [0197] En algunas modalidades, el enlazador Ab tiene la siguiente fórmula:



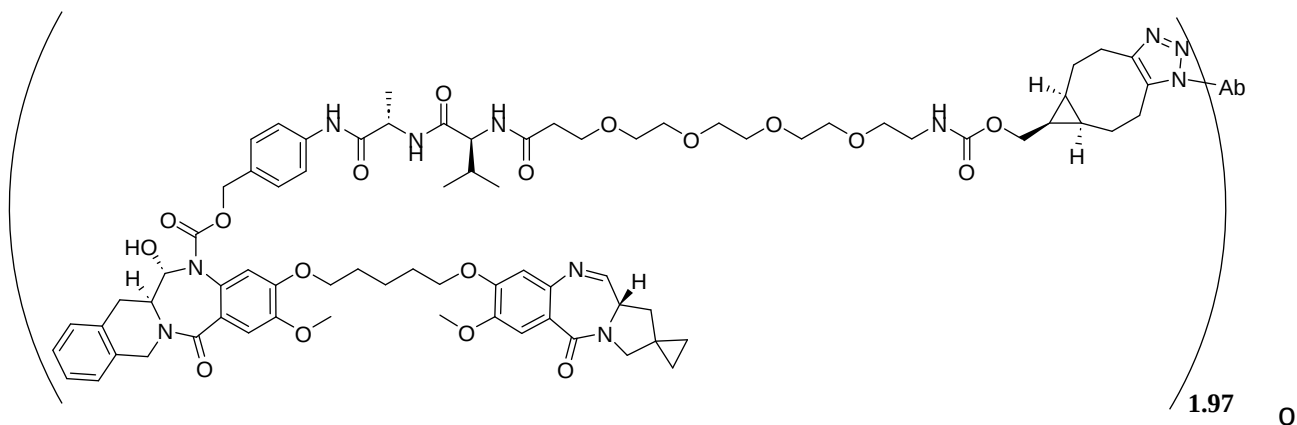
~~~~~\* indica un punto de unión a Ab, y ~~~~~# indica un punto de unión al anillo A o al anillo B.

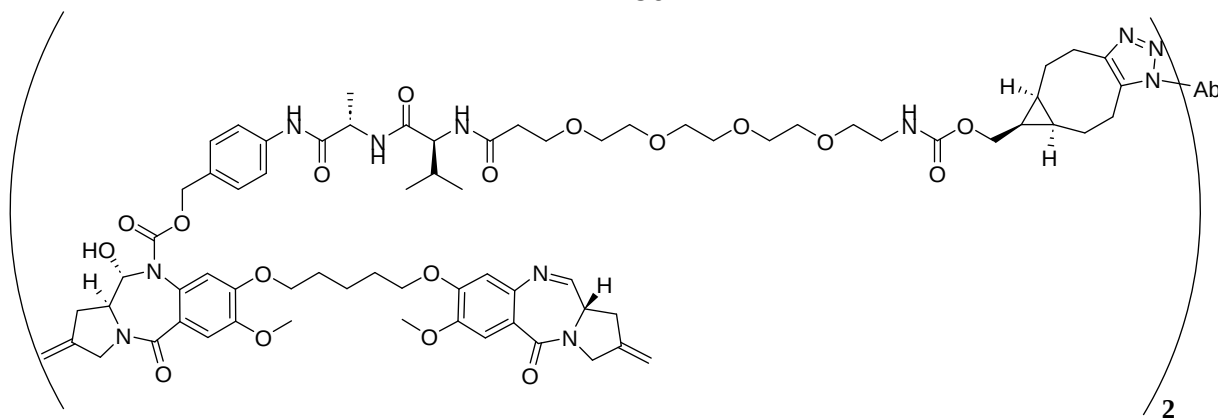
[0198] En algunas modalidades, el conjugado tiene la siguiente fórmula:



donde Ab es un agente de unión seleccionado de un anticuerpo humanizado, quimérico o humano, o un fragmento de unión al antígeno de este, y el subíndice x es de 1 a 15. En algunas modalidades, x es de alrededor de 2.

[0199] En algunas modalidades, el ADC tiene la siguiente fórmula:





donde Ab es un agente de unión seleccionado de un anticuerpo humanizado, quimérico o humano, o un fragmento de unión al antígeno de este.

7.5. Métodos o procesos de elaboración de los conjugados

5 [0200] En la presente se proporcionan métodos para preparar un conjugado al poner en contacto un agente de unión (BA) con un compuesto de enlazador-carga útil en condiciones adecuadas para formar un enlace entre el agente de unión y el compuesto de enlazador-carga útil. Las condiciones de reacción pueden ser cualesquiera condiciones de reacción adecuadas conocidas en la técnica. El agente de unión puede ser un anticuerpo y el enlace
10 puede formar un conjugado de anticuerpo y fármaco.

[0201] En los Ejemplos a continuación se proporcionan ejemplos de tales reacciones.

[0202] En algunas modalidades, los métodos para elaborar un conjugado incluyen el tratamiento o puesta en contacto de un compuesto con un agente de unión en condiciones de acoplamiento. El compuesto puede incluir un enlazador reactivo unido al menos a una
15 carga útil. El compuesto puede ser cualquiera de los compuestos de enlazador o plataforma descritos en la presente.

7.6. Composiciones farmacéuticas

[0203] También se proporcionan en la presente las composiciones, incluidas las composiciones farmacéuticas, que comprenden un ADC establecido en la presente. En
20 algunas modalidades, las composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas) comprenden además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0204] Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente descripción. pueden prepararse al mezclar un conjugado de anticuerpo y fármaco que tenga el grado de pureza deseado con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables opcionales
25 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16.^a edición, Osol, A. Ed. (1980)), en forma de

formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los portadores farmacéuticamente aceptables generalmente no son tóxicos para los receptores en las dosificaciones y concentraciones empleadas e incluyen, de modo no taxativo: tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; 5 conservantes (tales como cloruro de octadecil dimetil bencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; alcohol fenólico, butílico o bencílico; alquilparabenos, tales como metil o propil-parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de alrededor de 10 residuos); proteínas, tales como albúmina de suero, gelatina o 10 inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de 15 proteína Zn) y/o tensioactivos no-iónicos tales como polietilenglicol (PEG). Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables de la presente incluyen adicionalmente agentes de dispersión de fármacos intersticiales tales como glicoproteínas hialouronidasa activa neutral soluble (sHASEGP), por ejemplo, glicoproteínas hialouronidasa PH-20 humanas solubles, tales como rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.). Determinados 20 sHASEGP y métodos de uso ilustrativos, que incluyen rHuPH20, se describen en las patentes estadounidenses n.º US 7,871,607 y 2006/0104968. En un aspecto, un sHASEGP se combina con una o más glicosaminoglicanasas adicionales tales como condroitinasas.

[0205] Se describen formulaciones liofilizadas ejemplares en la patente de EE. UU. n.º 6,267,958. Las formulaciones acuosas incluyen aquellas descritas en la patente de EE. UU. 25 n.º 6,171,586 y en la patente WO2006/044908, estas últimas formulaciones incluyen un tampón de acetato-histidina.

7.7. Métodos de uso

[0206] En algunas modalidades, se establece en la presente un método para tratar una enfermedad o trastorno (por ejemplo, un cáncer) en un sujeto (por ejemplo, un paciente) 30 que lo necesite, que comprende administrarle al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado descrito en la presente.

[0207] Los conjugados descritos en la presente se pueden administrar mediante

cualquier medio adecuado, lo que incluye la administración parenteral, intrapulmonar e intranasal, y, si se desea para tratamiento local, la administración intralesional. Las infusiones parenterales incluyen administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. La dosificación puede ser mediante cualquier vía adecuada, por ejemplo, mediante inyección, tal como mediante inyección intravenosa o subcutánea, en parte de acuerdo con si la administración es breve o crónica. En la presente se contemplan varios cronogramas de dosificación, que incluyen, de modo no taxativo, administraciones simples o múltiples durante varios momentos, administración por bolo e infusión por pulso.

[0208] Los conjugados de la descripción pueden formularse, dosificarse y administrarse de una manera coherente con la buena práctica médica. Los factores que deberán considerarse en este contexto incluyen el trastorno particular que se esté tratando, el mamífero particular que se esté tratando, la condición médica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el método de administración, el cronograma de administración y otros factores conocidos por los médicos.

8. EJEMPLOS

[0209] Se pretende que los ejemplos a continuación sean ilustrativos y no deberían considerarse taxativos de forma alguna. A menos que se especifique lo contrario, los métodos experimentales en los Ejemplos descritos a continuación son métodos convencionales. A menos que se especifique lo contrario, los reactivos y materiales están disponibles comercialmente. Todos los solventes y productos químicos empleados eran de grado analítico o de pureza química. Los solventes se redestilaron antes de su uso. Los solventes anhidros se prepararon según métodos estándar o métodos de referencia. El gel de sílice (mallas 100-200) para cromatografía en columna y el gel de sílice (GF254) para cromatografía de capa fina (TLC) están disponibles comercialmente en Tsingdao Haiyang Chemical Co., Ltd. o Yantai Chemical Co., Ltd. de China; todos se eluyeron con éter de petróleo (60-90 °C)/acetato de etilo (v/v) y se visualizan con yodo o la solución de ácido molibdfosfórico en etanol, a menos que se especifique lo contrario. Todos los solventes de extracción, a menos que se especifique lo contrario, se secaron en Na₂SO₄ anhidro. Los espectros de ¹H NMR se registraron en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear Bruck-400, Varian 400MR con TMS (tetrametilsilano) como patrón interno. Las constantes de acoplamiento se proporcionan en hercios. Los picos se informaron como singlete (s), doblete (d), triplete (t), cuarteto (q), quinteto (p), sexteto (h), septeto (hept), multiplete (m) o

una combinación de estos; br significa amplio. Los datos de LC/MS se registraron mediante el uso de un espectrómetro de masas con trampa de iones y cromatografía ultrarrápida líquida de alto rendimiento Agilent1100,1200 (trampa LC-MSD) equipado con un detector de matriz de diodos (DAD) detectado a 214 nm y 254 nm, y una trampa de iones (fuente ESI). Todos los nombres de los compuestos, excepto los reactivos, se generaron mediante ChemDraw® 18.0.

[0210] Con fines de brevedad, se utilizan determinadas abreviaturas en la presente. Un ejemplo es la abreviatura con una sola letra para representar un aminoácido. Los aminoácidos y sus abreviaturas de tres letras o de una letra correspondientes son los siguientes:

| | | |
|-----------------|-----|-----|
| alanina | Ala | (A) |
| arginina | Arg | (R) |
| asparagina | Asn | (N) |
| ácido aspártico | Asp | (D) |
| cisteína | Cys | (C) |
| ácido glutámico | Glu | (E) |
| glutamina | Gln | (Q) |
| glicina | Gly | (G) |
| histidina | His | (H) |
| isoleucina | Ile | (I) |
| leucina | Leu | (L) |
| lisina | Lys | (K) |
| metionina | Met | (M) |
| fenilalanina | Phe | (F) |
| prolina | Pro | (P) |
| serina | Ser | (S) |
| treonina | Thr | (T) |
| triptófano | Trp | (W) |
| tirosina | Tyr | (Y) |
| valina | Val | (V) |

[0211] En los siguientes ejemplos, se usan las siguientes abreviaturas.

| | |
|------------------------------------|---|
| TEA | Trietilamina |
| THF | Tetrahidrofurano |
| MeOH | Metanol |
| DIPEA | N,N-Diisopropiletilamina |
| DMF | N,N-Dimetilformamida |
| NH ₄ Cl | Cloruro de amonio |
| HCl | Ácido clorhídrico |
| TFA | Ácido trifluoroacético |
| K ₂ CO ₃ | Carbonato de potasio |
| Na ₂ SO ₄ | Sulfato de sodio |
| EtOAc | Acetato de etilo |
| prep-HPLC | Cromatografía líquida de alto rendimiento preparativa |
| TBSCI | t-Butildimetilclorosilano |
| Et ₂ NH | Dietilamina |
| r.t. | Temperatura ambiente |
| MS | Espectrometría de masas |
| ESI | Ionización por pulverización de electrones |
| FA | Ácido fórmico |
| MTBE | Éter metílico de tert-butilo |
| HPLC | Cromatografía líquida de alto rendimiento |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| MeCN | Acetonitrilo |
| TBAF | Fluoruro de tetrabutylamonio |
| Alloc-Cl | cloruro de aliloxycarbonilo |
| Pd(PPh ₃) ₄ | Tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) |
| TBSOTf | trifluorometanosulfonato de terc-butildimetilsililo |
| DMP | Periodinane de Dess-Martin |
| HATU | Hexafluorofosfato azabenzotriazol tetrametil uronio |
| DIAD | Azodicarboxilato de diisopropilo |
| EDCI | 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida |

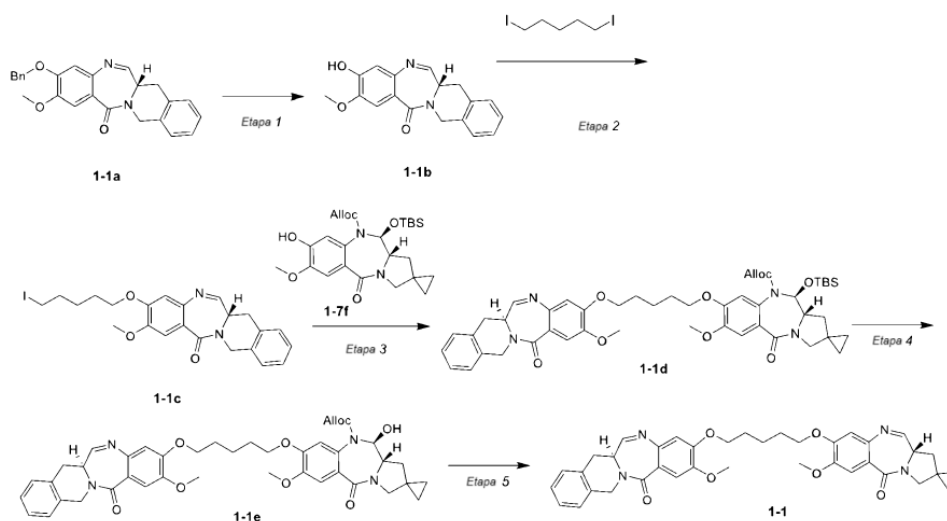
Métodos de análisis de UPLC

[0212] **Método A:** fase móvil A: 0,1% de FA en agua, B: MeCN; gradiente: 10%B mantener 0,2 min, 10% - 95%B, 5,8 min, 95%B mantener 0,5 min; velocidad de flujo: 0,6 mL/min; columna: ACQUITY UPLC® BEH C18 1,7µm.

5 [0213] **Método B:** fase móvil A: 0,1% de FA en agua, B: MeCN; gradiente: 10%B mantener 0,5 min, 10% - 90%B, 2,5 min, 90%B mantener 0,2 min; velocidad de flujo: 0,6 mL/min; columna: ACQUITY UPLC® BEH C18 1,7µm.

[0214] **Método B:** fase móvil A: FA al 0,1 % en agua, B: MeCN; Gradiente: B 10 % mantener 0,2 min, 10 % - B 90 %, 1,3 min, B 90 % mantener 0,3 min; velocidad de flujo: 0,6 mL/min; Columna: ACQUITY UPLC® BEH C18 1,7µm.

Ejemplo 1-1



[0215] Paso 1: (S)-3-hidroxi-2-metoxi-7,12-dihidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-1b**)

15 [0216] El compuesto **1-1b** se sintetizó de acuerdo con el procedimiento descrito en Bioorg Med Chem Lett. 1 de septiembre de 2019;29(17):2455-2458.

[0217] Paso 2: (S)-3-((5-yodopentil)oxi)-2-metoxi-7,12-dihidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-1c**)

[0218] Se disolvieron **1-1b** (50 mg, 0,16 mmol) y 1,5-diyodopentano (0,12 mL, 0,81 mmol) en DMF seco (0,5 mL). La solución se enfrió a 0 °C y se añadió K₂CO₃ (45 mg, 0,32 mmol) en una porción. La mezcla se calentó a r.t. y se agitó a r.t. durante 6 h. Después de esto, se

añadió EtOAc (5 mL) y la fase orgánica diluida se lavó con H₂O (10 mL) y salmuera (10 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para dar el producto crudo, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a 25/75) para dar **1-1c** como un sólido amarillo claro (49 mg, rendimiento del 60 %). MS (ESI) m/z: 505,3 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,53 (s, 1H), 7,49 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 7,39 – 7,34 (m, 2H), 7,31 (dd, J = 3,8, 1,6 Hz, 2H), 6,80 (s, 1H), 5,01 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 4,56 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 4,16 – 4,01 (m, 3H), 3,95 (s, 3H), 3,33 – 3,09 (m, 4H), 1,95 – 1,84 (m, 4H), 1,59 (tt, J = 9,8, 6,1 Hz, 2H).

[0219] Paso 3: (11S,11aS)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-8-((5-(((S)-2-metoxi-14-oxo-6a,7,12,14-tetrahydrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-3-il)oxi)pentil)oxi)-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-1d**)

[0220] Se añadió K₂CO₃ (12,5 mg, 0,09 mmol) a una solución de **1-1c** (50 mg, 0,098 mmol) y **1-7 g** (40 mg, 0,082 mmol) en 0,5 mL de DMF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El LCMS indicó el consumo total de **1-7 g**. Después de esto, se añadió EtOAc (5 mL) y la fase orgánica diluida se lavó con H₂O (10 mL) y salmuera (10 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para dar el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a 0/100) para dar **1-1d** como un sólido blanco (60 mg, rendimiento del 70,6%). MS (ESI) m/z: 865,5 [M+H]⁺.

[0221] Paso 4: (11S,11aS)-11-hidroxi-7-metoxi-8-((5-(((S)-2-metoxi-14-oxo-6a,7,12,14-tetrahydrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-3-il)oxi)pentil)oxi)-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-1e**)

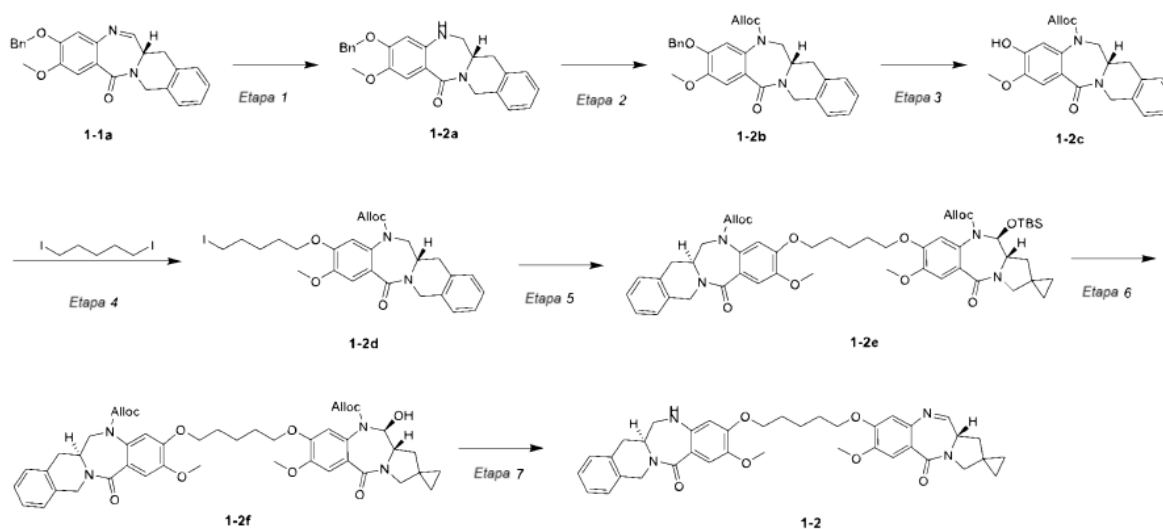
[0222] A una solución de **1-1d** (60 mg, 0,07 mmol) en THF seco (1 mL) se añadió AcOH (24 µL), seguido de la adición gota a gota de TBAF (350 µL, 0,35 mmol, 1 M en THF). Se agitó la mezcla a t.a. durante 6 horas. Al finalizar la reacción según se verificó por LCMS, la mezcla se inactivó con NaHCO₃ sat. La fase orgánica se extrajo con EtOAc (5 mL*3) y se lavó con H₂O (10 mL) y salmuera (10 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para dar el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: CH₂Cl₂/MeOH = 100/0 a 5/95) para dar **1-1e** como un sólido blanco (50 mg, rendimiento del 96 %). MS (ESI) m/z: 751,5 [M+H]⁺.

[0223] Paso 5: (S)-2-metoxi-3-((5-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)pentil)oxi)-7,12-dihidrobenczo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-1**)

[0224] Se añadió Pd(PPh₃)₄ (2 mg, cantidad cat.) a una solución de **1-1e** (50 mg, 0,067 mmol) en CH₂Cl₂ (1 mL) y pirrolidina (14 µL, 0,17 mmol). La mezcla de reacción se agitó a r.t. en N₂ durante 0,5 h. La reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (5 mL) y se lavó con NH₄Cl sat. y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: CH₂Cl₂/MeOH = 100/0 a 5/95) para proporcionar **1-1** como un sólido blanco (43 mg, rendimiento del 99%).

MS (ESI) m/z: 649,4 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,79 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 7,52 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 7,48 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 7,40 – 7,29 (m, 4H), 6,80 (d, J = 4,4 Hz, 2H), 5,01 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 4,56 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 4,19 – 4,02 (m, 4H), 3,94 (d, J = 2,9 Hz, 7H), 3,87 (ddd, J = 7,8, 4,5, 2,7 Hz, 1H), 3,68 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 3,55 – 3,47 (m, 1H), 3,26 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 3,16 (dd, J = 15,4, 4,2 Hz, 1H), 2,52 (dd, J = 13,0, 8,1 Hz, 1H), 2,08 – 1,90 (m, 6H), 1,68 (td, J = 8,6, 5,9 Hz, 2H), 0,81 – 0,68 (m, 4H).

Ejemplo 1-2



[0225] Paso 1: (S)-3-(benciloxi)-2-metoxi-6,6a,7,12-tetrahidrobenczo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(5H)-ona (**1-2a**)

[0226] Se añadió NaBH(OAc)₃ (531,9 mg, 2,5 mmol) a una solución de **1-1a** (500 mg, 1,255 mmol) en CH₂Cl₂ (6 mL) a 0 °C. A continuación, la mezcla de reacción se calentó hasta r.t. y se agitó a r.t. en N₂ durante 2 h. La reacción luego se inactivó con NaHCO₃ sat.,

se lavó con H₂O y salmuera, y se secó sobre Na₂SO₄. La fase orgánica se filtró y se concentró para dar el producto bruto **1-2a** como un sólido blanco (485 mg, rendimiento del 97 %), que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. MS (ESI) m/z: 401,3 [M+H]⁺.

5 [0227] Paso 2: (S)-3-(benciloxi)-2-metoxi-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahydrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de alilo (**1-2b**)

[0228] Se añadió gota a gota Alloc-Cl (0,14 mL, 1,33 mmol) a una solución de **1-2a** (485 mg, 1,2 mmol) y piridina (0,36 mL, 2,9 mmol) en CH₂Cl₂ (2 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C bajo atmósfera de N₂ durante 15 min. La reacción se diluyó con 10 mL de
10 CH₂Cl₂, se lavó con ácido cítrico 0,1 N (10 mL), H₂O (10 mL) y salmuera (10 mL), y se secó sobre Na₂SO₄. La fase orgánica se filtró y el filtrado se concentró. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a 50/50) para dar **1-2b** como un sólido blanco (480 mg, rendimiento del 82%). MS (ESI) m/z: 485,5 [M+H]⁺.

15 [0229] Paso 3: (S)-3-hidroxi-2-metoxi-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahydrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de alilo (**1-2c**)

[0230] Se añadió MeSO₃H (0,64 mL, 9,9 mmol) gota a gota a una solución de **1-2b** (484,5 mg, 0,99 mmol) en CH₂Cl₂ (3 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 10 min y luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó bajo N₂ durante 2 h. La mezcla se
20 extinguió con solución sat. NaHCO₃. La fase orgánica se extrajo con CH₂Cl₂ (5 mL*3) y se lavó con H₂O (10 mL) y salmuera (10 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y el filtrado se concentró para dar el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a 25/75) para dar **1-2c** como un sólido blanco (332 mg, rendimiento del 84,3%). MS (ESI) m/z: 395,4 [M+H]⁺.

25 [0231] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,28 (d, J = 3,3 Hz, 3H), 7,21 (s, 2H), 6,75 (s, 1H), 5,88 (s, 1H), 5,76 (ddd, J = 17,3, 10,5, 5,2 Hz, 1H), 5,10 (dd, J = 10,3, 1,4 Hz, 2H), 4,79 – 4,65 (m, 2H), 4,57 (dd, J = 13,9, 5,2 Hz, 1H), 4,40 (d, J = 13,3 Hz, 1H), 4,05 – 3,95 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,37 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 3,12 (dd, J = 15,2, 5,6 Hz, 1H), 2,77 (dd, J = 15,2, 4,1 Hz, 1H).

30 [0232] Paso 4: (S)-3-((5-yodopentil)oxi)-2-metoxi-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahydrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de alilo (**1-2d**)

[0233] **1-2d** se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Paso 2 del

Ejemplo **1-1** para obtener un sólido blanco (138 mg, rendimiento del 92,2%). MS (ESI) m/z: 591,3 [M+H]⁺.

[0234] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,35 (d, J = 3,5 Hz, 3H), 7,28 (d, J = 1,9 Hz, 2H), 6,72 (s, 1H), 5,84 (ddt, J = 16,3, 10,8, 5,2 Hz, 1H), 5,25 – 5,08 (m, 2H), 4,80 (q, J = 15,9 Hz, 1H), 4,67 (dd, J = 13,7, 5,3 Hz, 1H), 4,48 – 4,40 (m, 1H), 4,14 – 4,00 (m, 4H), 3,98 (s, 3H), 3,46 (d, J = 10,7 Hz, 1H), 3,29 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 3,20 (dd, J = 15,2, 5,4 Hz, 1H), 2,85 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 1,95 (dq, J = 13,4, 7,0 Hz, 4H), 1,66 (q, J = 8,0 Hz, 4H).

[0235] Paso 5: (S)-3-((5-(((11S,11aS)-10-((aliloxi)carbonil)-11-((terc-butildimetilsilil)oxy)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metoxi-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de alilo (**1-2e**)

[0236] **1-2e** se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Paso 3 del Ejemplo **1-1** para obtener un aceite incoloro (70 mg, rendimiento del 85,3%). MS (ESI) m/z: 973,6 [M+Na]⁺.

[0237] Paso 6: (S)-3-((5-(((11S,11aS)-10-((aliloxi)carbonil)-11-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metoxi-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de alilo (**1-2f**)

[0238] **1-2f** se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Paso 4 del Ejemplo **1-1** para obtener un sólido blanco (54 mg, rendimiento del 87,7%). MS (ESI) m/z: 837,5 [M+H]⁺.

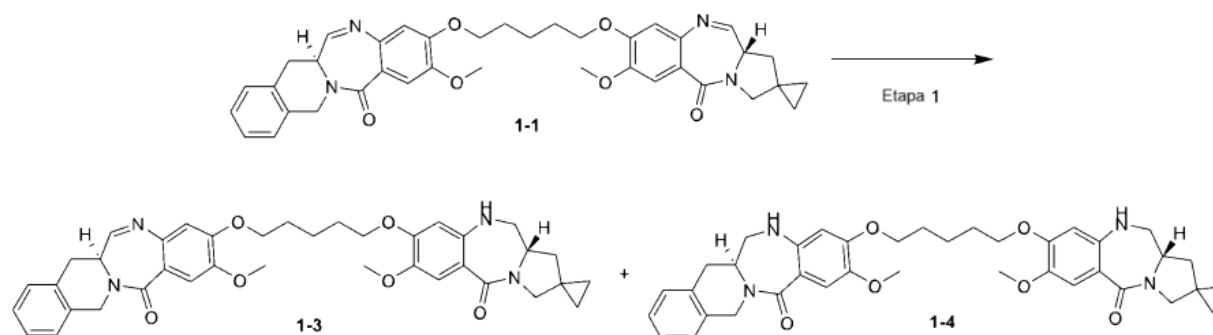
[0239] Paso 7: (S)-2-metoxi-3-((5-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)pentil)oxi)-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(5H)-ona (**1-2**)

[0240] **1-2** se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Paso 5 del Ejemplo **1-1** para obtener un sólido blanco (40 mg, rendimiento del 95,2%). MS (ESI) m/z: 651,4 [M+H]⁺.

[0241] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,79 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,27 (d, J = 6,9 Hz, 4H), 6,79 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 4,87 (d, J = 15,7 Hz, 1H), 4,73 (d, J = 15,7 Hz, 1H), 4,23 – 3,97 (m, 5H), 3,95 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 3,67 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 3,53 – 3,41 (m, 2H), 3,22 (dd, J = 12,1, 9,5 Hz, 1H), 3,11 (dd, J = 15,1, 5,8 Hz, 1H), 2,81 (dd, J = 15,2, 5,3 Hz, 1H), 2,51 (dd, J = 13,1, 8,1 Hz, 1H), 1,96 (dq, J = 24,2, 9,3, 8,1 Hz, 6H), 1,72

– 1,62 (m, 2H).

Ejemplos 1-3 y 1-4



[0242] Paso 1: (S)-2-metoxi-3-((5-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)pentil)oxi)-7,12-dihidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-3**) y (S)-2-metoxi-3-((5-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)pentil)oxi)-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(5H)-ona (**1-4**)

[0243] Se añadió $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (3,4 mg, 1,05 mmol) a una solución de **1-1** (10 mg, 0,015 mmol) en CH_2Cl_2 (0,5 mL) a 0 °C. A continuación, la mezcla de reacción se calentó hasta r.t. y se agitó a r.t. en N_2 durante 0,5 h. La reacción se inactivó con NaHCO_3 , se lavó con H_2O y salmuera, y se secó sobre Na_2SO_4 . La fase orgánica se filtró y se concentró para dar un producto bruto, que se purificó por HPLC preparativa (0,01 % FA en H_2O) para dar **1-3** (3 mg, rendimiento del 30 %) como un sólido blanco, tiempo de retención = 4,9 min, y **1-4** (2,7 mg, rendimiento del 27 %) como un sólido blanco, tiempo de retención = 5,12 min.

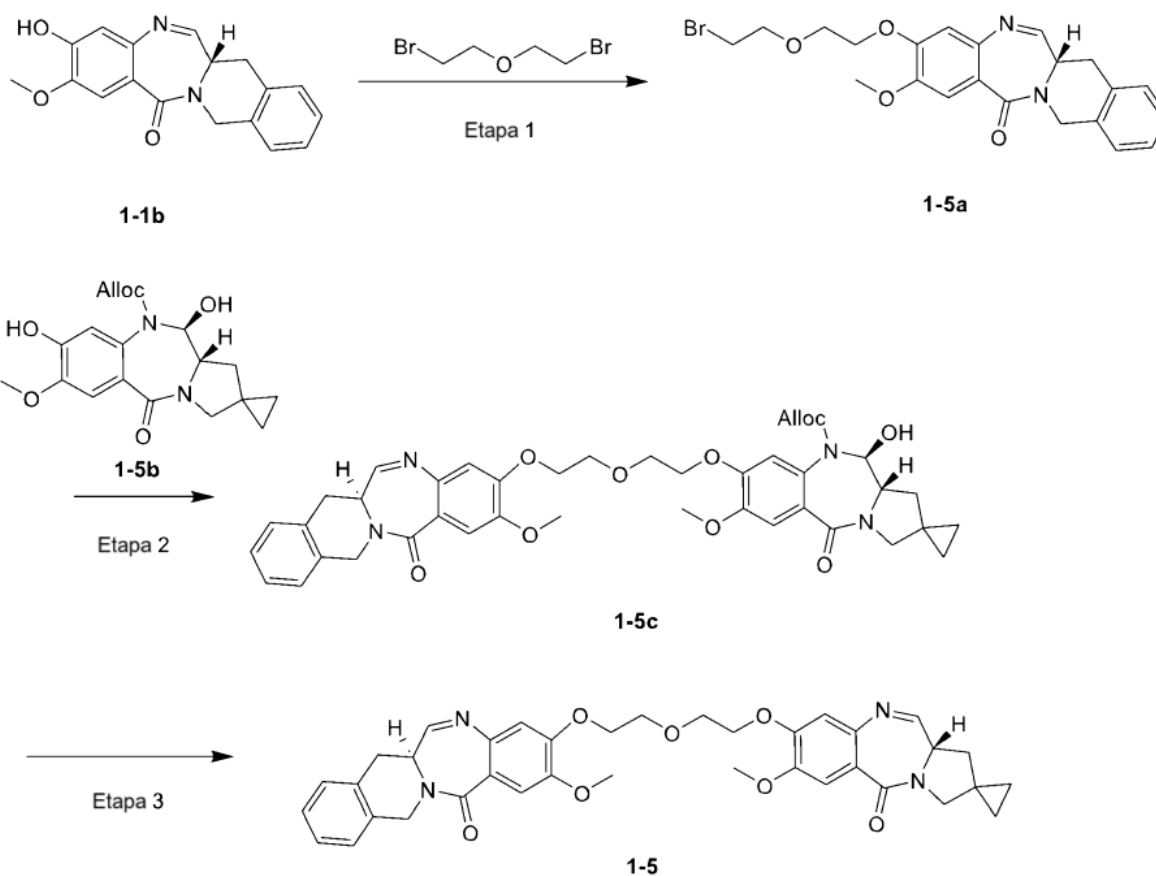
[0244] **1-3** MS (ESI) m/z: 651,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0245] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,71 – 7,59 (m, 1H), 7,55 – 7,43 (m, 3H), 7,39 – 7,27 (m, 4H), 6,76 (s, 1H), 6,18 (s, 1H), 4,98 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 4,53 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 4,17 – 3,95 (m, 5H), 3,92 (d, J = 5,1 Hz, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,65 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 3,58 – 3,39 (m, 3H), 3,25 (dd, J = 15,4, 5,5 Hz, 1H), 3,14 (dd, J = 15,4, 4,3 Hz, 1H), 2,02 (dd, J = 12,7, 7,3 Hz, 1H), 1,91 (h, J = 7,3 Hz, 4H), 1,68 (dq, J = 31,0, 7,8, 7,0 Hz, 4H), 0,75 – 0,50 (m, 4H).

[0246] **1-4** MS (ESI) m/z: 653,6 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0247] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,56 (s, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,32 – 7,27 (m, 5H), 7,22 – 7,13 (m, 1H), 6,21 (s, 1H), 6,08 (s, 1H), 4,88 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H), 4,75 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H), 4,14 (d, $J = 6,2$ Hz, 1H), 4,00 (q, $J = 6,1$ Hz, 5H), 3,89 – 3,79 (m, 6H), 3,71 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,60 – 3,51 (m, 2H), 3,50 – 3,39 (m, 2H), 3,23 (t, $J = 10,8$ Hz, 1H), 3,12 (dd, $J = 15,2$, 5,8 Hz, 1H), 2,83 (dd, $J = 15,2$, 5,4 Hz, 1H), 2,02 (t, $J = 10,3$ Hz, 1H), 1,91 (p, $J = 6,9$ Hz, 4H), 1,78 (dd, $J = 12,7$, 6,9 Hz, 1H), 1,66 (q, $J = 7,8$ Hz, 2H), 0,78 – 0,52 (m, 4H).

Ejemplo 1-5



[0248] Paso 1: (S)-3-(2-(2-bromoetoxi)etoxi)-2-metoxi-7,12-dihidrobenczo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-5a**)

[0249] 1-5a se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Paso 2 del Ejemplo 1-1 para obtener un sólido blanco (50 mg, rendimiento del 67,1%).

[0250] MS (ESI) m/z : 461,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0251] Paso 2: (11S,11aS)-11-hidroxi-7-metoxi-8-(2-(2-(((S)-2-metoxi-14-oxo-6a,7,12,14-tetrahidrobenczo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-3-il)oxi)etoxi)etoxi)-5-oxo-

11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-5c**)

[0252] **1-5c** se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Paso 3 del Ejemplo 1-1 para obtener un sólido blanco (51 mg, rendimiento del 60,3%).

5 [0253] MS (ESI) m/z: 753,5 [M+H]⁺.

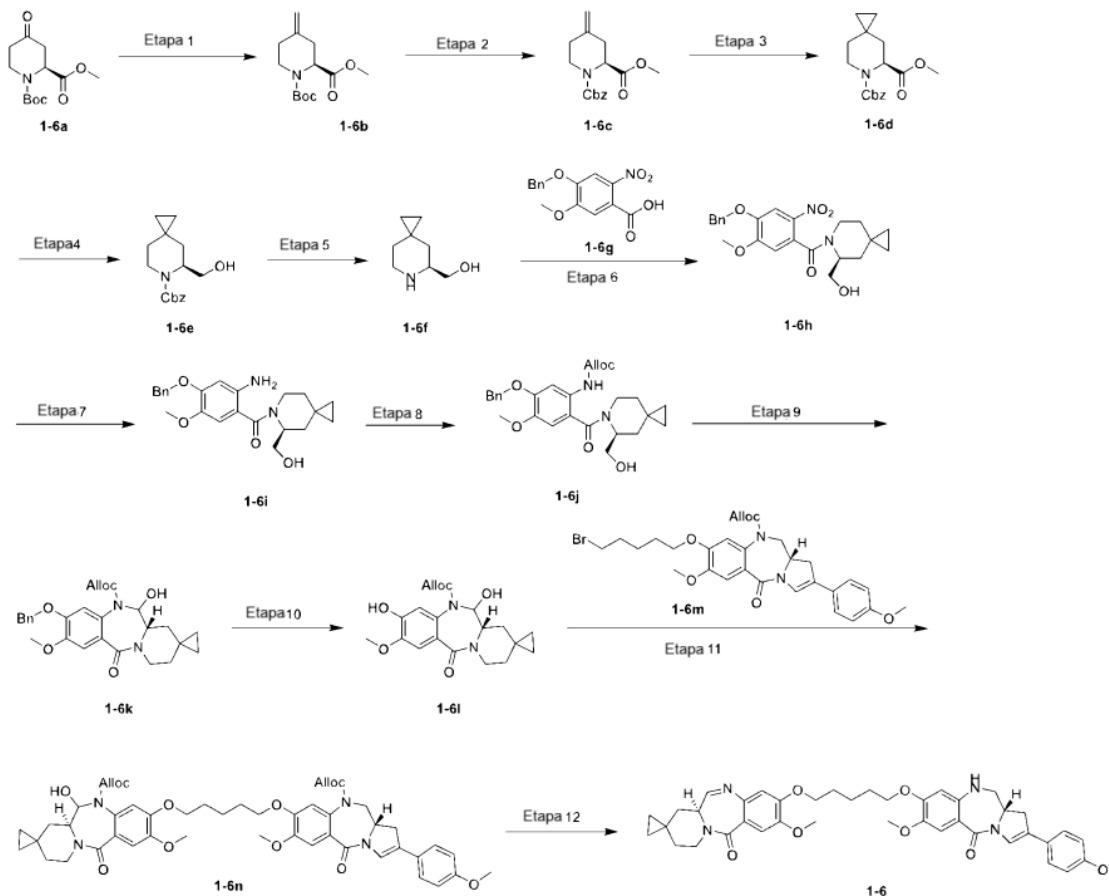
[0254] Paso 3: (S)-2-metoxi-3-(2-(2-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)etoxi)etoxi)-7,12-dihidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-5**)

10 [0255] **1-5** se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Paso 4 del Ejemplo 1-1 para obtener un sólido blanco 25,5 mg, rendimiento del 59%).

[0256] MS (ESI) m/z: 651,4 [M+H]⁺.

[0257] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,78 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 7,51 (d, J = 7,4 Hz, 2H), 7,47 (dd, J = 5,3, 3,3 Hz, 1H), 7,40 – 7,30 (m, 4H), 6,83 (dd, J = 7,3, 4,5 Hz, 2H), 5,00 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 4,56 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 4,37 – 4,16 (m, 4H), 4,01 (t, J = 5,0 Hz, 4H), 3,96 – 3,90 (m, 6H), 3,88 – 3,81 (m, 2H), 3,67 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 3,49 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 3,27 (dd, J = 15,4, 5,5 Hz, 1H), 3,15 (dd, J = 15,4, 4,2 Hz, 1H), 2,51 (dd, J = 13,1, 8,1 Hz, 1H), 1,99 (dd, J = 13,2, 2,8 Hz, 1H), 0,81 – 0,66 (m, 4H).

Ejemplo 1-6



[0258] Paso 1: 1-(*tert*-butil) 2-metil (S)-4-metilenpiperidina-1,2-dicarboxilato (**1-6b**)

[0259] A una solución de MePh_3PBr (1,56 g, 4,27 mmol) en THF seco (20 mL) se añadió KOtBu (*tert*-butóxido de potasio) en THF seco (1 M, 4,7 mL, 4,7 mmol) en atmósfera de N_2 a 0 °C, y se agitó a 0 °C durante 1 h. A la solución de reacción se añadió la solución de **1-6a** (1,0 g, 3,89 mmol) en THF seco (20 mL) bajo atmósfera de N_2 a 0 °C y se agitó durante 1 h. Se agregaron agua (5 mL) y NH_4Cl sat. (10 mL) a la solución. Se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (20 mL * 3). La fase orgánica combinada se concentró y se purificó por cromatografía en columna flash (éter de petróleo/EtOAc = 90/10) para obtener el compuesto del título **1-6b** como un aceite incoloro (588 mg, rendimiento del 59,3 %). MS (ESI) m/z : 156,1 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}]^+$.

[0260] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5,08 – 4,97 (m, 0,5H), 4,87 – 4,78 (m, 0,5H), 4,79 (s, 2H), 4,20 – 3,97 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,12 – 2,90 (m, 1H), 2,81 – 2,67 (m, 1H), 2,49 – 2,37 (m, 1H), 2,218 – 2,10 (m, 2H), 1,47 (s, 9H).

[0261] Paso 2: (S)-4-metilenopiperidina-1,2-dicarboxilato de bencil 2-metilo (**1-6c**)

[0262] A la solución de **1-6b** (585 mg, 2,29 mmol) en MeOH seco (3 mL) se añadió HCl 3 N en MeOH (7 mL) bajo atmósfera de N₂ a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución se concentró y se disolvió en CH₂Cl₂ (10 mL). Se añadió HCl 4 N en EtOAc (10 mL) y se agitó durante 20 min. La solución se concentró y el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (10 mL). A la solución se le añadieron CbzCl (cloroformiato de bencilo, 0,40 mL, 2,75 mmol) y TEA (0,65 mL, 4,58 mmol) a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La solución se añadió a HCl 0,5 N (3 mL) y agua (3 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (5 mL x 3). La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna flash (éter de petróleo/EtOAc = 90/10) para dar el compuesto del título **1-6c** como un aceite incoloro (310 mg, rendimiento del 46,8%). MS (ESI) m/z: 312,2 [M+Na]⁺.

[0263] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,45 – 7,24 (m, 5H), 5,17 (s, 2H), 5,14 – 4,90 (m, 1H), 4,81 (s, 2H), 4,28 – 4,08 (m, 1H), 3,69 (d, J = 18,8 Hz, 3H), 3,23 – 3,01 (m, 1H), 2,77 (t, J = 15,7 Hz, 1H), 2,50 – 2,39 (m, 1H), 2,30 – 2,12 (m, 2H).

[0264] Paso 3: (S)-6-azaespiro[2.5]octano-5,6-dicarboxilato de 6-bencil 5-metilo (**1-6d**)

[0265] Se añadió ZnEt₂ (2 M en hexano, 2,1 mL, 4,2 mmol) a CH₂Cl₂ seco (5 mL) en atmósfera de N₂ a 0 °C y se agitó a 0 °C durante 10 min. Se añadió lentamente TFA seco (0,33 mL, 4,2 mmol) y se agitó a 0 °C durante 1 h. Se añadió lentamente diyodometano (0,35 mL, 4,2 mmol) y se agitó a 0 °C durante 1 h. Se añadió lentamente la solución de **1-6c** (305 mg, 1,05 mmol) en CH₂Cl₂ seco (3 mL * 2), se agitó a 0 °C durante 30 min y luego se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La solución se filtró a través de celite. La filtración se lavó con NH₄Cl sat. (5 mL) y agua (5 mL). La fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (5 mL * 3). La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna flash (éter de petróleo/EtOAc = 90/10) para dar el compuesto del título **1-6d** como un aceite amarillo claro (195 mg, rendimiento del 61%). MS (ESI) m/z: 326,3 [M+Na]⁺.

[0266] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,45 – 7,25 (m, 5H), 5,24 – 5,08 (m, 2H), 5,04 – 4,84 (m, 1H), 4,21 – 4,02 (m, 1H), 3,72 (d, J = 6 Hz, 3H), 3,36 – 3,14 (m, 1H), 2,24 – 2,12 (m, 1H), 2,00 – 1,85 (m, 1H), 1,62 – 1,54 (m, 1H), 0,91 – 0,72 (m, 1H), 0,42 – 0,22 (m, 4H).

[0267] Paso 4: (S)-5-(hidroximetil)-6-azaespiro[2.5]octano-6-carboxilato de bencilo (**1-6e**)

[0268] A la solución de **1-6d** (195 mg, 0,64 mmol) en THF seco (4 mL) se añadió LiBHET₃ (1 M en THF, 1,3 mL, 1,3 mmol) bajo atmósfera de N₂ a 0 °C, y se agitó a 0 °C durante 1 h. A la solución se le añadió agua (0,5 mL), se lavó con salmuera (5 mL) y se extrajo con

EtOAc (5 mL * 3). La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna flash (éter de petróleo/EtOAc = 50/50) para dar el compuesto del título **1-6e** como un aceite incoloro (155 mg, rendimiento del 87,6%). MS (ESI) m/z: 276,3 [M+H]⁺.

[0269] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,40 – 7,29 (m, 5H), 5,22 – 5,09 (m, 2H), 4,53 – 4,39 (m, 1H), 4,20 – 4,06 (m, 1H), 4,02 (dd, J = 11,0, 9,5 Hz, 1H), 3,67 (dd, J = 11,1, 5,6 Hz, 1H), 3,19 – 3,05 (m, 1H), 2,08 – 1,97 (m, 1H), 1,95 – 1,81 (m, 1H), 1,08 – 0,97 (m, 1H), 0,91 – 0,79 (m, 2H), 0,47 – 0,38 (m, 1H), 0,35 – 0,23 (m, 3H).

[0270] Paso 5: (S)-(6-azaespiro[2.5]octan-5-il)metanol (**1-6f**)

[0271] A la solución de **1-6e** (155 mg, 0,56 mmol) en MeOH (2 mL) se añadieron 7 M de NH₃ en MeOH (0,2 mL) y 10 % de Pd/C húmedo (16 mg) en atmósfera de N₂, y se agitó en atmósfera de H₂ durante 3 h. La solución se filtró y se concentró para obtener el compuesto del título **1-6f** como un aceite amarillo pálido (82 mg, quant.) que se utilizó directamente para el siguiente paso sin más purificación. MS (ESI) m/z: 142,1 [M+H]⁺.

[0272] Paso 6: (S)-(4-(benciloxi)-5-metoxi-2-nitrofenil)(5-(hidroximetil)-6-azaespiro[2.5]octan-6-il)metanona (**1-6h**)

[0273] A una solución de **1,6 g** (160 mg, 0,53 mmol) en CH₂Cl₂ (4 mL) se le añadió cloruro de oxalilo (0,14 mL, 1,58 mmol) en atmósfera de N₂ a 0 °C, seguido de una gota de DMF y se agitó durante 20 min. La solución se volvió transparente y no se eluyó gas. La solución se concentró para eliminar el exceso de cloruro de oxalilo. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ seco (2 mL) y se añadió a la solución de **1-6f** (80 mg, 0,53 mmol) y DIPEA (0,38 mL, 2,1 mmol) en CH₂Cl₂ seco (2 mL) a 0 °C, con agitación durante 20 min. La solución se añadió a agua (5 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (5 mL x 3). La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (éter de petróleo/EtOAc = 30/70) para dar el compuesto del título **1-6h** como un sólido blanquecino (178 mg, rendimiento del 79%). MS (ESI) m/z: 427,4 [M+H]⁺.

[0274] Paso 7: (S)-(2-amino-4-(benciloxi)-5-metoxifenil)(5-(hidroximetil)-6-azaspiro[2.5]octan-6-il)metanona (**1-6i**)

[0275] A la solución de **1-6h** (175 mg, 0,41 mmol) y NH₄Cl (336 mg, 6,16 mmol) en MeOH/H₂O (3/1 mL) se añadió polvo de Fe (117 mg, 2,05 mmol) bajo atmósfera de N₂ y se calentó a reflujo durante 3 h. La solución se filtró a través de celite. La filtración se lavó con salmuera (5 mL), se extrajo con EtOAc (5 mL * 3), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró para obtener el compuesto del título **1-6i** (162 mg, quant.) que se usó

directamente para el siguiente paso sin purificación adicional. MS (ESI) m/z : 397,3 $[M+H]^+$.

[0276] Paso 8: (S)-(5-(benciloxi)-2-(5-(hidroximetil)-6-azaespiro[2.5]octano-6-carbonil)-4-metoxifenil)carbamato de alilo (**1-6j**)

[0277] A la solución de **1-6i** (162 mg, 0,41 mmol) y piridina (67 μ L, 0,82 mmol) en CH_2Cl_2 seco (4 mL), se le añadió AllocCl (53 μ L, 0,49 mmol) en atmósfera de N_2 a $-10^\circ C$ y se agitó durante 20 min. La solución se añadió a agua (2 mL) y HCl 0,5 N (2 mL) y se extrajo con CH_2Cl_2 (5 mL x 3). La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (éter de petróleo/EtOAc = 25/75) para dar el compuesto del título **1-6j** como un sólido blanquecino (157 mg, rendimiento del 80%). MS (ESI) m/z : 481,4 $[M+H]^+$.

[0278] Paso 9: (6aS)-3-(benciloxi)-6-hidroxi-2-metoxi-12-oxo-6a,7,9,10-tetrahidro-6H-espiro[benzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepina-8,1'-ciclopropano]-5(12H)-carboxilato de alilo (**1-6k**)

[0279] A la solución de **1-6j** (155 mg, 0,32 mmol) en CH_2Cl_2 (3 mL) se le añadió DMP (209 mg, 0,48 mmol) a $0^\circ C$ y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. A la solución se le añadió $Na_2S_2O_3$ sat. (2 mL) y $NaHCO_3$ sat. (2 mL), se extrajo con CH_2Cl_2 (5 mL * 3). La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (éter de petróleo/EtOAc = 50/50) para dar el compuesto del título **1-6k** como un sólido blanco (130 mg, rendimiento del 84%). MS (ESI) m/z : 479,4 $[M+H]^+$.

[0280] Paso 10: (6aS)-3,6-dihidroxi-2-metoxi-12-oxo-6a,7,9,10-tetrahidro-6H-espiro[benzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepina-8,1'-ciclopropano]-5(12H)-carboxilato de alilo (**1-6l**)

[0281] A la solución de **1-6k** (75 mg, 0,16 mmol) en CH_2Cl_2 (2,5 mL) se añadió MsOH (104 μ L, 1,56 mmol) bajo atmósfera de N_2 a $0^\circ C$, se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. La solución se añadió a salmuera (3 mL), se extrajo con CH_2Cl_2 /MeOH (10:1, 5,5 mL * 3). La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (éter de petróleo/EtOAc = 50/50) para dar el compuesto del título **1-6l** como un sólido blanco (20 mg, rendimiento del 33%). MS (ESI) m/z : 389,3 $[M+H]^+$.

[0282] 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,18 (s, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,11 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 5,91 (s, 1H), 5,90 – 5,75 (m, 1H), 5,28 – 5,10 (m, 2H), 4,66 (dd, J = 13,0, 5,1 Hz, 1H), 4,57 – 4,46 (m, 1H), 4,42 (dt, J = 13,4, 4,5 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,61 – 3,52 (m, 1H), 3,45 (brs, 1H), 3,23 (ddd, J = 13,5, 11,5, 4,1 Hz, 1H), 2,02 (dd, J = 15,5, 7,4 Hz, 1H), 1,91 – 1,80 (m, 1H), 1,58 (d, J = 14,3 Hz, 1H), 1,35 – 1,27 (m, 1H), 0,62 – 0,46 (m, 2H), 0,45 – 0,33 (m, 2H).

[0283] Paso 11: (6a*S*)-3-((5-(((*S*)-10-((aliloxi)carbonil)-7-metoxi-2-(4-metoxifenil)-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1*H*-benzo[*e*]pirrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-6-hidroxi-2-metoxi-12-oxo-6a,7,9,10-tetrahidro-6*H*-espiro[benzo[*e*]pirido[1,2-*a*][1,4]diazepina-8,1'-ciclopropano]-5(12*H*)-carboxilato de alilo (**1-6n**)

5 [0284] A una solución de **1-6l** (20 mg, 0,05 mmol) y **1-6m** (31 mg, 0,05 mmol, sintetizado según el procedimiento descrito en US20200261594A1) en DMF seco (1 mL) se añadió K₂CO₃ (8,7 mg, 0,06 mmol) en atmósfera de N₂, se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. La solución se añadió a agua (12 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (5 mL * 4). La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (éter de petróleo/EtOAc = 25/75) para dar el compuesto del título **1-6n** como un sólido blanquecino (40 mg, rendimiento del 87%). MS (ESI) *m/z*: 893,6 [M+H]⁺.

10

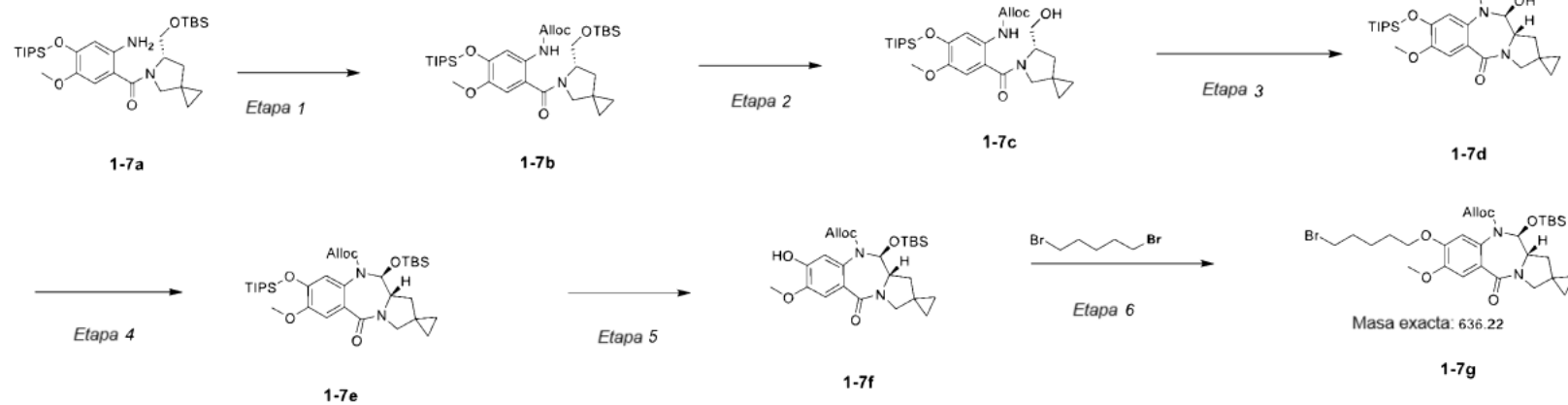
[0285] Paso 12: (*S*)-2-metoxi-3-((5-(((*S*)-7-metoxi-2-(4-metoxifenil)-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1*H*-benzo[*e*]pirrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-6a,7,9,10-tetrahidro-12*H*-espiro[benzo[*e*]pirido[1,2-*a*][1,4]diazepina-8,1'-ciclopropan]-12-ona (**1-6**)

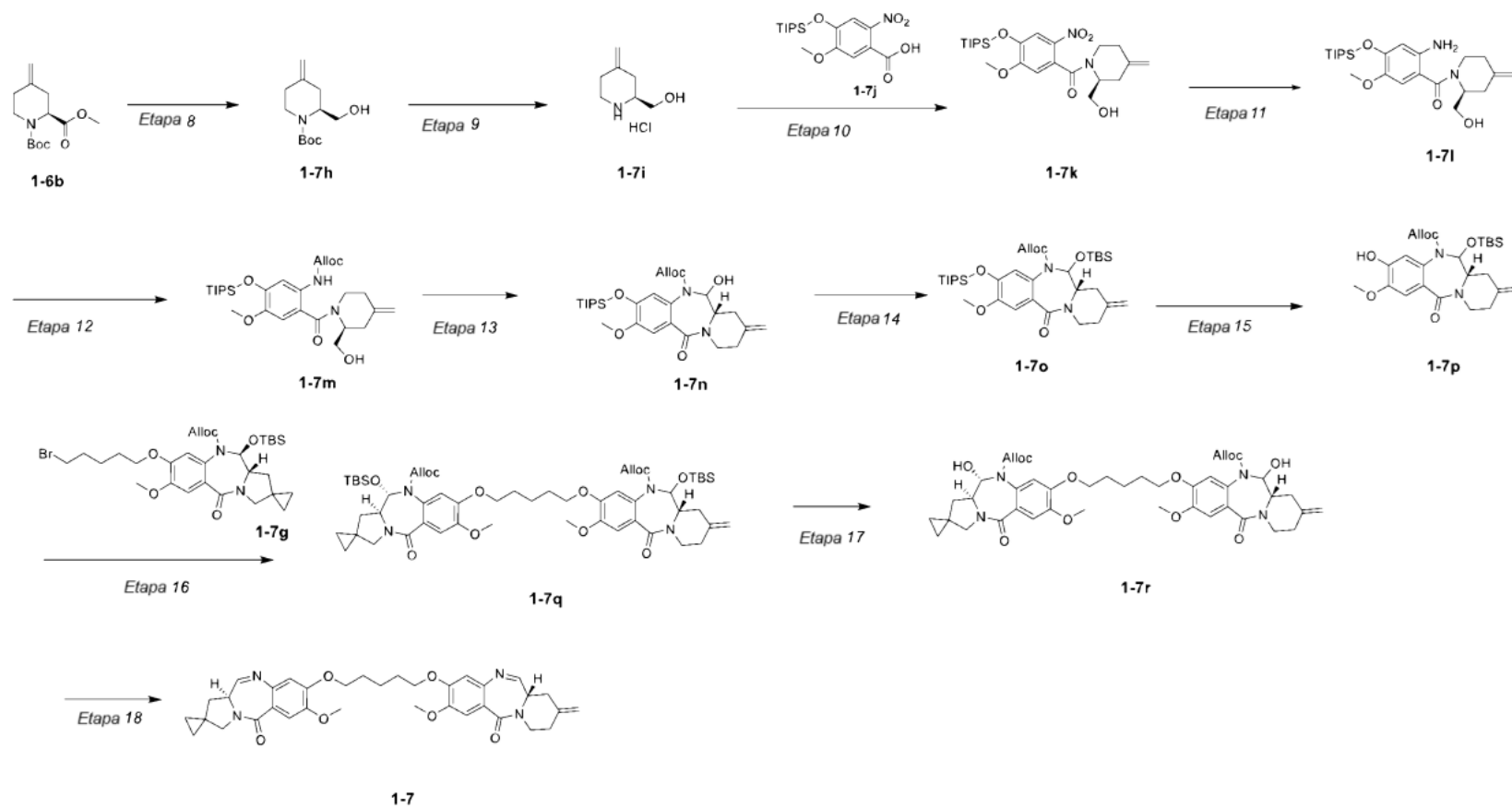
15 [0286] A una solución de **1-6n** (35 mg, 0,04 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (1,2 mg, 0,001 mmol) en CH₂Cl₂ seco (1 mL), se añadió pirrolidina (4 µL, 0,04 mmol) en atmósfera de N₂, y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La solución se concentró y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna (éter de petróleo/EtOAc = 0/100) para obtener el compuesto del título **1-6** en forma de un sólido blanquecino (16 mg, rendimiento del 57,8 %). MS (ESI) *m/z*: 707,5 [M+H]⁺.

20

[0287] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,10 – 8,01 (m, 1H), 7,54 – 7,47 (m, 2H), 7,44 (d, *J* = 6,2 Hz, 1H), 7,31 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,88 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,77 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,23 – 6,05 (m, 1H), 4,37 – 4,21 (m, 2H), 4,19 – 4,04 (m, 2H), 4,00 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 3,95 (d, *J* = 9,6 Hz, 3H), 3,85 (d, *J* = 3,2 Hz, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,64 – 3,50 (m, 2H), 3,49 – 3,29 (m, 2H), 2,73 (dd, *J* = 16,1, 3,5 Hz, 1H), 2,23 (dd, *J* = 14,5, 5,9 Hz, 1H), 2,00 – 1,85 (m, 5H), 1,76 – 1,59 (m, 4H), 1,49 – 1,38 (m, 2H), 0,72 – 0,57 (m, 2H), 0,55 – 0,43 (m, 2H).

25

Ejemplo 1-7



[0288] Paso 1: (S)-(2-(6-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-5-azaespiro[2.4]heptano-5-carbonil)-4-metoxi-5-((trisiopropilsilil)oxi)fenil)carbamato de alilo (**1-7b**)

[0289] Se añadió piridina (433 μ L) a una solución de **1-7a** (1370 mg, 2,44 mmol) en CH_2Cl_2 seco a -5°C . Luego se añadió AllocCl (322 μ L) a la mezcla a -5°C y la mezcla se agitó a -5°C durante 1 h. La finalización de la reacción se observó mediante TLC (éter de petróleo/EtOAc = 5:1). La mezcla se diluyó con CH_2Cl_2 , se lavó con ácido cítrico al 5% NaHCO_3 sat., salmuera y se secó con Na_2SO_4 . La fase orgánica se concentró para obtener el producto bruto que se utilizó directamente para el siguiente paso. MS (ESI) m/z: 647,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0290] Paso 2: (S)-(2-(6-(hidroximetil)-5-azaespiro[2.4]heptano-5-carbonil)-4-metoxi-5-((trisiopropilsilil)oxi)fenil)carbamato de alilo (**1-7c**)

[0291] Se añadió hidrato de ácido para-toluenosulfónico (282 mg, 1,49 mmol) a una solución de **1-7b** (1,60 g, 2,48 mmol) en THF (20 mL) y agua (1 mL). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 1 hora a 22°C . La reacción completa se observó mediante TLC (éter de petróleo/EtOAc = 5:1, 1:1), se diluyó con EtOAc (60 ml), se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida para obtener 1,09 g de **1-7c** (rendimiento del 83 %). MS (ESI) m/z: 533,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0292] Paso 3: (11S,11aS)-11-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-8-((trisiopropilsilil)oxi)-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-7d**)

[0293] Se añadió DMSO anhidro (436 μ L, 6,14 mmol) gota a gota a una solución de cloruro de oxalilo (260 μ L, 3,07 mmol) en CH_2Cl_2 seco (20 mL) a -70°C . Después de 30 min, se añadió lentamente una solución de **1-7c** (1,09 g, 2,05 mmol) en CH_2Cl_2 seco (10 mL) mientras se mantenía la temperatura a -70°C . Después de 40 minutos, se añadió gota a gota trietilamina (1423 μ L, secada sobre tamices moleculares de 4Å) y se dejó que la temperatura alcanzara -50°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta r.t. y se agitó durante 1 h. La finalización de la reacción se observó mediante TLC (éter de petróleo/EtOAc = 1:1, CH_2Cl_2 /EtOAc = 10:1). La mezcla de reacción se lavó con ácido cítrico acuoso al 5% (10 V) a pH = 3. La fase orgánica se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado y agua y se secó sobre sulfato de sodio. La fase orgánica se concentró para dar el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (CH_2Cl_2 /EtOAc = 95/5) para dar **1-7d** (416 mg, rendimiento del 38%). MS (ESI) m/z: 531,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0294] Paso 4: (11S,11aS)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-8-((trisiopropilsilil)oxi)-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-7e**)

[0295] Se añadió TBSOTf (0,54 mL, 2,35 mmol) a una mezcla de **1-7d** (416 mg, 0,78 mmol) y 2,6-lutidina (0,37 mL, 3,14 mmol) en CH₂Cl₂ seco (10 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó agitar a 5 °C durante 30 min, seguido por 1 h a 25 °C. La finalización se observó mediante LCMS. La mezcla de reacción se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró para obtener el producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (éter de petróleo/EtOAc=80/20) para dar **1-7e** (486 mg, rendimiento del 96%). MS (ESI) m/z: 645,5 [M+H]⁺.

[0296] Paso 5: (11S,11aS)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-8-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-7f**)

[0297] Se añadió acetato de litio (50 mg, 0,73 mmol) a una solución de **1-7e** (468 mg, 0,73 mmol) en DMF húmedo (10 mL, 49/1 DMF/agua). Se dejó que la reacción continuara durante 2 horas a 25 °C. La finalización se observó mediante TLC (éter de petróleo/EtOAc = 2:1, 1:1). La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con ácido cítrico acuoso al 5% y salmuera. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró para dar el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida para dar **1-7f** (303 mg, rendimiento del 85%). MS (ESI) m/z: 489,4 [M+H]⁺.

[0298] Paso 6: (11S,11aS)-8-((5-bromopentil)oxi)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-7g**)

[0299] A una solución de **1-7f** (100 mg, 0,20 mmol) y 1,5-dibromopentano (0,42 mL, 3,07 mmol) en 2 mL de DMF se añadió K₂CO₃ (34 mg, 0,25 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla a r.t. durante 2 h. La LCMS mostró que el material de partida se consumió por completo. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O y salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrápida (éter de petróleo/EtOAc) para dar **1-7g** (110 mg, rendimiento del 84%). MS (ESI) m/z: 637,4,3 [M+H]⁺.

[0300] Paso 7: (S)-2-(hidroximetil)-4-metilenopiperidina-1-carboxilato de terc-butilo (**1-7h**)

[0301] Se añadió LiCl (180 mg, 4,23 mmol) en agua (0,67 mL) a **1-6b** (830 mg, 3,25 mmol) en THF seco (10 mL) a temperatura ambiente. Luego se añadió NaBH₄ (160 mg, 4,23 mmol) a la mezcla. La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió HCl 2 N (5 V) a la mezcla a 0 °C y luego se añadió NaHCO₃ sat. a la mezcla hasta que el pH fue de 7~8. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó con Na₂ SO₄ y se concentró para dar el producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (éter de petróleo/EtOAc = 75/25) para dar **1-7h** (495 mg, rendimiento del 71%).

[0302] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4,79 (d, *J* = 23,7 Hz, 2H), 4,41 (d, *J* = 6,1 Hz, 1H), 4,06 (s, 1H), 3,67 (dd, *J* = 11,1, 9,0 Hz, 1H), 3,57 (dd, *J* = 11,2, 5,9 Hz, 1H), 2,91 (s, 1H), 2,37 (dd, *J* = 14,1, 6,1 Hz, 1H), 2,27 – 2,15 (m, 3H), 1,48 (s, 9H).

[0303] Paso 8: Cloruro de (S)-2-(hidroximetil)-4-metilenpiperidin-1-io (**1-7i**)

[0304] Se añadió 4 M HCl en MeOH (6 mL) a **1-7h** (525 mg, 2,31 mmol) en MeOH (5 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 2 h. La finalización se observó mediante TLC (éter de petróleo/EtOAc=2:1). La mezcla de reacción se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado y agua, se secó con Na₂SO₄ y se concentró para obtener el producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida para dar **1-7i** (425 mg). MS (ESI) *m/z*: 128,1 [M+H]⁺.

[0305] Paso 9: (S)-(2-(hidroximetil)-4-metilenpiperidin-1-il)(5-metoxi-2-nitro-4-((trisisopropilsilil)oxi)fenil)metanona (**1-7k**)

[0306] Se añadió cloruro de oxalilo (603 µL, 7,07 mmol) gota a gota a una solución agitada de **1-7i** (870 mg, 2,36 mmol) en CH₂Cl₂ seco (8 mL) y THF (8 mL) y DMF (4 µL) a 0 °C bajo N₂. La reacción se calentó a r.t. y se agitó durante 1 h a r.t. La finalización se observó mediante TLC (éter de petróleo/EtOAc= 1:1). La mezcla se concentró para dar el producto bruto que se usó directamente para el siguiente paso. El producto bruto y **1-7j** (423 mg, 2,59 mmol) se disolvieron en CH₂Cl₂ (8 mL). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota trietilamina (983 µL, 7,07 mmol) bajo N₂. A continuación, la mezcla se calentó hasta r.t. y se agitó durante 3 h. La solución se concentró y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash para obtener **1-7k** (788 mg, rendimiento del 79%).

MS (ESI) *m/z*: 479,4 [M+H]⁺.

[0307] Paso 10: (S)-(2-amino-5-metoxi-4-((trisisopropilsilil)oxi)fenil)(2-(hidroximetil)-4-metilenopiperidin-1-il)metanona (**1-7l**)

[0308] Se añadió polvo de zinc (1,77 g, 27,08 mmol) a una mezcla de etanol (4 mL), agua (0,25 mL) y AcOH (0,25 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 5 °C durante 30 min. Se añadió gota a gota una solución de **1-7k** (0,35 g, 0,73 mmol) en etanol (2 mL) a 5 °C. La reacción se dejó transcurrir a 5 °C durante 30 minutos. Los sólidos se eliminaron por filtración. El filtrado se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua, solución acuosa saturada de NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se filtró, el disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para obtener el producto como un aceite marrón (268 mg, rendimiento del 82%) que se utilizó directamente en el siguiente paso. MS (ESI) m/z: 449,3 [M+H]⁺.

[0309] Paso 11: (S)-(2-(2-(hidroximetil)-4-metilenopiperidina-1-carbonil)-4-metoxi-5-((trisisopropilsilil)oxi)fenil)carbamato de alilo (**1-7m**)

[0310] Se añadió piridina (104 µL) a una solución de **1-7l** (268 mg, 0,60 mmol) en CH₂Cl₂ seco a -5 °C. Luego se añadió AllocCl (64 µL, 72,04 mmol) a la mezcla a -5 °C y la mezcla se agitó a -5 °C durante 0,5 h. La finalización de la reacción se observó mediante LCMS. La mezcla se diluyó con CH₂Cl₂, se lavó con ácido cítrico al 5% NaHCO₃ sat., salmuera y se secó con Na₂SO₄. La fase orgánica se concentró para dar el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (éter de petróleo/EtOAc= 65/35) para dar **1-7m** (236 mg, rendimiento del 74%). MS (ESI) m/z: 533,4 [M+H]⁺.

[0311] Paso 12: (6S,6aS)-6-hidroxi-2-metoxi-8-metilen-12-oxo-3-((trisisopropilsilil)oxi)-6,6a,7,8,9,10-hexahidrobenczo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepina-5(12H)-carboxilato de alilo (**1-7n**)

[0312] Se añadió lentamente, en porciones, DMP (172 mg, 0,41 mmol) a una solución de **1,7 m** (206 mg, 0,39 mmol) en CH₂Cl₂ seco (5 mL) a 0 °C. Luego, la reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. 0,5 eq. Se añadió DMP a la reacción en lotes. Después de 9 horas se consumió el material de partida. La mezcla se neutralizó con una solución sat. de Na₂S₂O₃, seguido de la adición de NaHCO₃ sat. y agua. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con Na₂S₂O₃ sat., NaHCO₃ sat., salmuera y se secó con Na₂SO₄. El producto bruto bse purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (CH₂Cl₂/EtOAc = 93/7) para dar **1-7n** (157 mg, rendimiento del 85%). MS (ESI) m/z: 531,3 [M+H]⁺.

[0313] Paso 13: (6S,6aS)-6-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2-metoxi-8-metilen-12-oxo-3-((trisisopropilsilil)oxi)-6,6a,7,8,9,10-hexahidrobenczo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepina-5(12H)-

carboxilato de alilo (**1-7o**)

[0314] Se añadió TBSOTf (0,23 mL, 1,0 mmol) a una mezcla de **1-7n** (177 mg, 0,33 mmol) y 2,6-lutidina (0,16 mL) en CH₂Cl₂ seco (5 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó agitar a 5 °C durante 30 min, seguido por 1 h a 25 °C. La mezcla de reacción se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró para obtener el producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (CH₂Cl₂/EtOAc = 98/2) para dar **1-7o** (135 mg, rendimiento del 63%). MS (ESI) m/z: 645,4 [M+H]⁺.

[0315] Paso 14: (6S,6aS)-6-((terc-butildimetilsilil)oxi)-3-hidroxi-2-metoxi-8-metileno-12-oxo-6,6a,7,8,9,10-hexahidrobenczo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepina-5(12H)-carboxilato de alilo (**1-7p**)

[0316] Se añadió acetato de litio (14 mg, 0,21 mmol) a una solución de **1-7o** (135 mg, 0,21 mmol) en dimetilformamida húmedo (3 mL, 49/1 DMF/agua). Se dejó que la reacción continuara durante 2 horas a 25 °C. La finalización se observó mediante TLC (éter de petróleo/EtOAc = 1:1). La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con ácido cítrico acuoso al 5%, NaHCO₃ sat. y salmuera. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró para dar el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida para dar **1-7p** (100 mg, rendimiento del 98%). MS (ESI) m/z: 489,3 [M+H]⁺.

[0317] Paso 15: (11S,11aS)-8-((5-(((6S,6aS)-5-((aliloxi)carbonil)-6-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2-metoxi-8-metileno-12-oxo-5,6,6a,7,8,9,10,12-octahidrobenczo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepin-3-il)oxi)pentil)oxi)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-7q**)

[0318] Se agregaron **1-7p** (28 mg, 0,06 mmol) y K₂CO₃ (10 mg, 0,07 mmol) a una solución de **1-7 g** (38 mg, 0,06 mmol) en 1 mL de DMF. La mezcla se agitó a r.t. durante la noche. El producto (éter de petróleo/EtOAc = 1:2) se detectó por LCMS. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrápida (éter de petróleo/EtOAc = 27/73) para dar **1-7q** (48 mg, rendimiento del 84%). MS (ESI) m/z: 1045,7 [M+H]⁺.

[0319] Paso 16: (11S,11aS)-8-((5-(((6S,6aS)-5-((aliloxi)carbonil)-6-hidroxi-2-metoxi-8-metileno-12-oxo-5,6,6a,7,8,9,10,12-octahidrobenczo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepin-3-il)oxi)pentil)oxi)-11-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-

a)[1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-7r**)

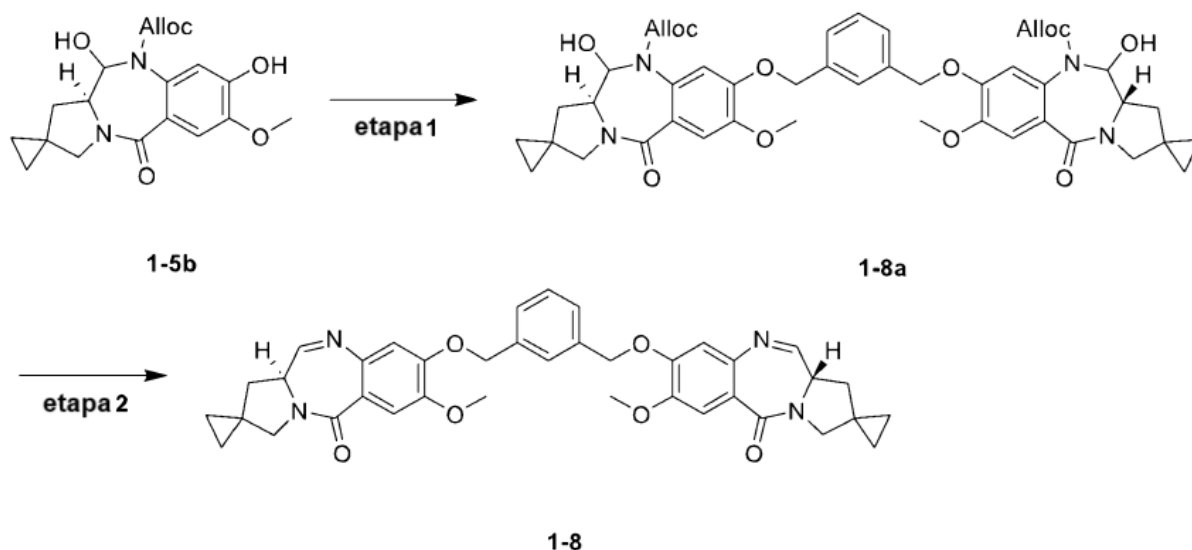
[0320] Se añadió 1 M TBAF (230 μ L, 0,23 mmol) a la solución de **1-7q** (48 mg, 0,05 mmol) en 3 mL de THF seco y AcOH (16 μ L). Se agitó la mezcla a r.t. durante 2 h. Al finalizar la reacción mediante LCMS, la mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con NaHCO₃ sat. y salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida para dar **1-7r** (21 mg, rendimiento del 56%). MS (ESI) m/z: 817,5 [M+H]⁺.

[0321] Paso 17: (S)-7-metoxi-8-((5-(((S)-2-metoxi-8-metileno-12-oxo-6a,7,8,9,10,12-hexahidrobenzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepin-3-il)oxi)pentil)oxi)-1,11a-dihidro-3H,5H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-5-ona (**1-7**)

[0322] Se añadió Pd(PPh₃)₄ (2,2 mg, 0,002 mmol) a una solución de **1-7r** (15 mg, 0,02 mmol) en CH₂Cl₂ (0,5 mL) y pirrolidina (8 μ L, 0,09 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 0,5 h a r.t. La reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (10 mL), se lavó con NH₄Cl sat. y salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó por HPLC preparativa (0,01 % FA en H₂O) para dar **1-7** (9 mg, rendimiento del 80 %) como un sólido blanco. MS (ESI) m/z: 613,4 [M+H]⁺.

[0323] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,82 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 7,78 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 6,81 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 5,09 (d, J = 28,2 Hz, 2H), 4,21 – 4,02 (m, 4H), 4,03 – 3,74 (m, 11H), 3,68 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 3,49 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 2,87-2,75 (m, 1H), 2,70-2,64 (m, 2H), 2,53 (dd, J = 12,9, 8,1 Hz, 2H), 1,97 (m, 6H), 0,84 – 0,66 (m, 4H).

Ejemplo 1-8



[0324] Paso 1: 8,8''-((1,3-fenilenbis(metileno))bis(oxi))(11aS,11a''S)-bis(11-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato) de dialilo (**1-8a**)

[0325] A una solución de **1-5b** (50 mg, 0,13 mmol) y 1,3-bis(bromometil)benceno (17,5 mg, 0,07 mmol) en DMF (2 mL) se añadió K₂CO₃ (36,94 mg, 0,27 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 20 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (10 mL) y se lavó con salmuera (8 mL*3). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró para dar un residuo que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc = 100/0 a 10/90) para dar **1-8a** (50 mg, rendimiento del 78,2%) como un sólido blanco.

[0326] MS (ESI) m/z: 851,3 [M+H]⁺.

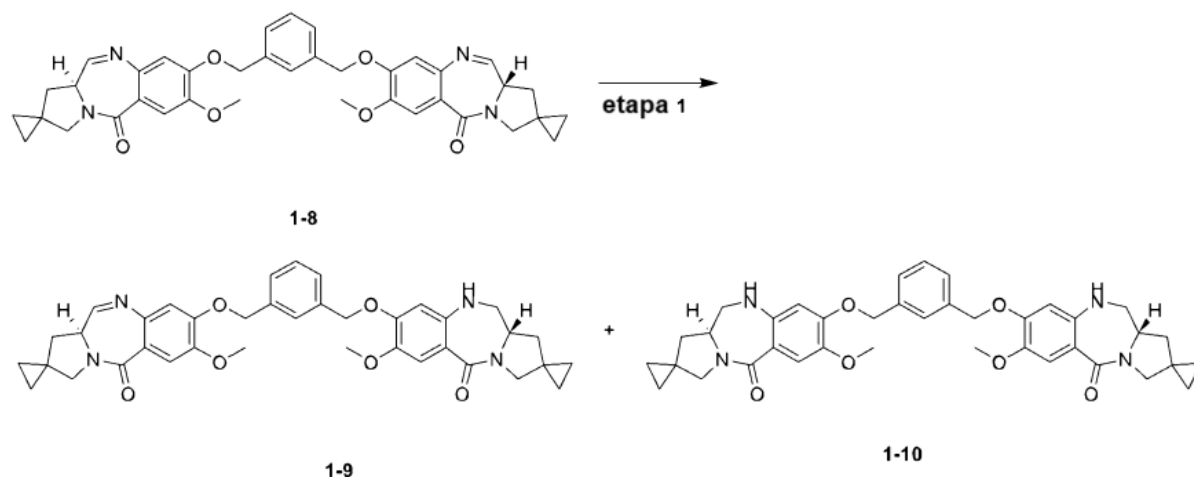
[0327] Paso 2: (11aS,11a''S)-8,8''-((1,3-fenilenbis(metileno))bis(oxi))bis(7-metoxi-1,11a-dihidro-3H,5H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-5-ona) (**1-8**)

[0328] A una solución de **1-8a** (50 mg, 0,06 mmol) y CH₂Cl₂ (2 mL) se añadió Pd(PPh₃)₄ (6,79 mg, 0,01 mmol) y pirrolidina (12 µL, 0,15 mmol) a r.t. La mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min. Se evaporó el disolvente y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:CH₂Cl₂/MeOH= 100/0 a 1/99) y HPLC preparativa (0,01 % FA), obteniéndose el producto **1-8** (33,2 mg, rendimiento del 78,63 %) en forma de un sólido blanco.

[0329] MS (ESI) m/z: 647,3 [M+H]⁺.

[0330] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,80 – 7,75 (2 H, m), 7,54 (2 H, s), 7,51 (1 H, s), 7,40 (3 H, d, J = 4,9), 6,85 (2 H, d, J 1,4), 5,25 – 5,14 (4 H, m), 3,96 (6 H, s), 3,85 (2 H, dd, J = 7,9, 3,2), 3,67 (2 H, d, J = 11,7), 3,52 – 3,45 (2 H, m), 2,51 (2 H, dd, J = 13,0, 8,1), 1,99 (2 H, d, J = 12,8), 0,74 (10 H, dd, J = 10,6, 6,6).

25 **Ejemplos 1-9 y 1-10**



[0331] Paso 1: (S)-7-metoxi-8-((3-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)metil)bencil)oxi)-1,10,11,11a-tetrahidro-3H,5H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-5-ona (**1-9**) y (S)-7-metoxi-8-((3-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)metil)bencil)oxi)-1,10,11,11a-tetrahidro-3H,5H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-5-ona (**1-10**)

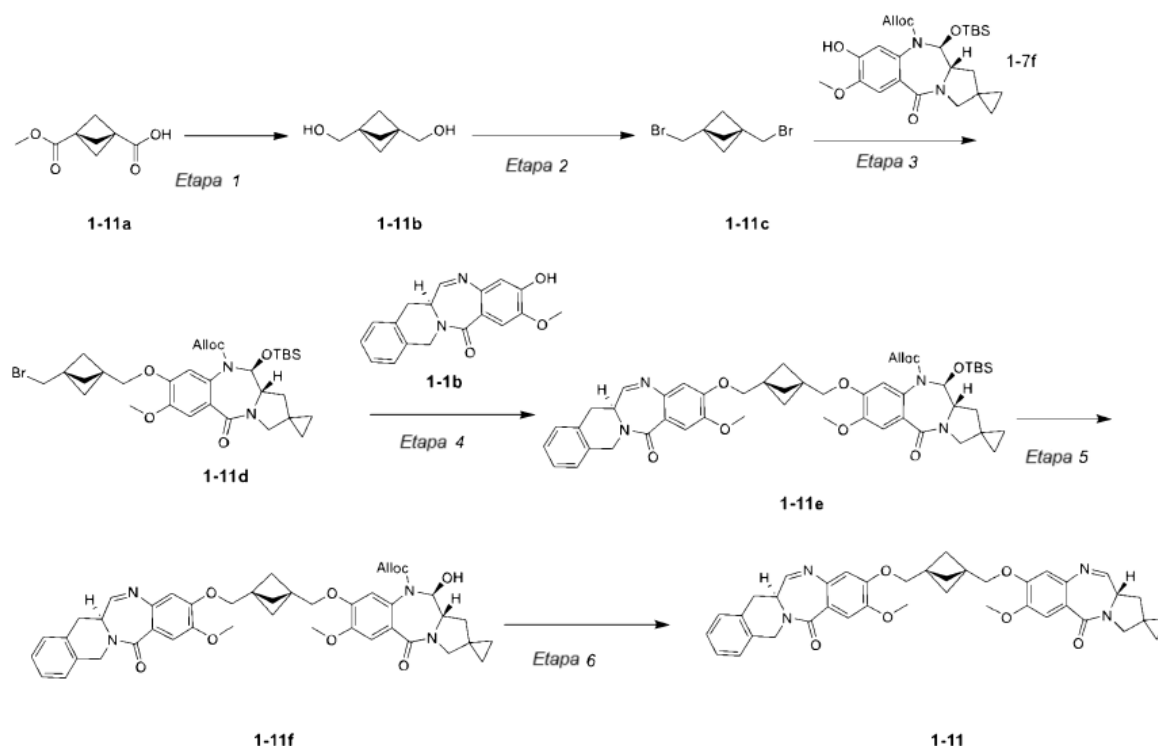
[0332] A una solución de **1-8** (30 mg, 0,05 mmol) en CH₂Cl₂ (3 mL) se añadió NaBH(OAc)₃ (14,76 mg, 0,07 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y se extrajo con EA CH₂Cl₂ (10 mL * 3). La capa orgánica combinada se secó en Na₂SO₄ y se filtró. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por HPLC preparativa (0,01 % FA) para dar el producto **1-9** (8 mg, rendimiento del 25,25 %) como un sólido blanco y **1-10** (12 mg, 38,96 %) como un sólido blanco.

[0333] **1-9** MS (ESI) m/z: 649,3 [M+H]⁺.

[0334] **1-10** MS (ESI) m/z: 651,3 [M+H]⁺.

[0335] **1-10** ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,57 (2 H, s), 7,56 – 7,48 (1 H, m), 7,37 (2 H, d, J = 9,8), 7,34 (3 H, s), 6,08 (2 H, s), 5,13 – 5,02 (4 H, m), 3,96 (2 H, t, J = 7,1), 3,86 (6 H, s), 3,68 (2 H, d, J = 12,0), 3,54 (2 H, d, J = 12,0), 3,50 – 3,46 (2 H, m), 3,38 (2 H, dd, J = 12,4, 8,9), 2,06 – 1,94 (2 H, m), 1,75 (2 H, dd, J = 12,6, 6,7), 0,74 – 0,51 (8 H, m).

Ejemplo 1-11



[0336] Paso 1: biciclo[1.1.1]pentano-1,3-diildimetanol (**1-11b**)

[0337] Se añadió LiAlH_4 (2,1 g, 52,9 mmol) a una solución de **1-11a** (3 g, 17,64 mmol) en THF seco (80 ml) en lotes a 0 °C, luego la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se extinguió con sulfato de sodio decahidratado durante 1 h, se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener el producto de aceite **1-11b** (2,2 g, rendimiento del 97%).

[0338] ^1H NMR (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 4,39 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,34 (t, $J = 4,9$ Hz, 4H), 1,45 (s, 6H).

[0339] Paso 2: 1,3-bis(bromometil)biciclo[1.1.1]pentano (**1-11c**)

[0340] A una solución de trifetilfosfina (2,05 g, 7,81 mmol) en MeCN (30 mL) se añadió gota a gota una solución de bromo líquido (0,4 mL, 7,81 mmol) en 5 mL de MeCN a 0 °C, luego se añadió **1-11b** (500 mg, 3,90 mmol). La reacción se calentó a 80 °C y se mantuvo a reflujo durante la noche. El disolvente se eliminó al vacío y se purificó por cromatografía en columna flash para obtener **1-11c** (770 mg, rendimiento del 78%).

[0341] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3,47 (s, 4H), 1,73 (s, 6H).

[0342] Paso 3: (11S,11As)-8-((3-(bromometil)biciclo[1.1.1]pentan-1-il)metoxi)-11-((terc-

butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-11d**)

[0343] A una solución de **1-7f** (30 mg, 0,06 mmol) y **1-11c** (154 mg, 0,61 mmol) en 2 mL de DMF se añadió K₂CO₃ (12 mg, 0,07 mmol) a r.t. Se agitó la mezcla a r.t. durante 3 h. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O y salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida para dar **1-11d** (40 mg, rendimiento del 99%). MS (ESI) m/z: 661,3 [M+H]⁺.

[0344] Paso 4: (11S,11aS)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-8-((3-(((S)-2-metoxi-14-oxo-6a,7,12,14-tetrahydrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-3-il)oxi)metil)biciclo[1.1.1]pentan-1-il)metoxi)-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-11e**)

[0345] Se agregaron **1-1b** (19 mg, 0,06 mmol) y K₂CO₃ (11 mg, 0,07 mmol) a una solución de **1-11d** (43 mg, 0,06 mmol) en 1 mL de DMF. La reacción se calentó a 40 °C durante 36 h. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (CH₂Cl₂/MeOH = 94/6) para dar **1-11e** (28 mg, rendimiento del 51%). MS (ESI) m/z: 889,6 [M+H].

[0346] Paso 5: (11S,11aS)-11-hidroxi-7-metoxi-8-((3-(((S)-2-metoxi-14-oxo-6a,7,12,14-tetrahydrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-3-il)oxi)metil)biciclo[1.1.1]pentan-1-il)metoxi)-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-11f**)

[0347] Se añadió un amortiguador de 1 M TBAF (158 µL, 0,16 mmol) y AcOH (11 µL, 0,19 mmol) a una solución de **1-11e** (28 mg, 0,03 mmol) en 5 mL de THF seco. Se agitó la mezcla a r.t. durante 2 h. Al finalizar la reacción según se determinó mediante LCMS, la mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O, ácido cítrico al 5% y salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida para dar **1-11f** (24 mg, rendimiento del 98%). MS (ESI) m/z: 775,4 [M+H]⁺.

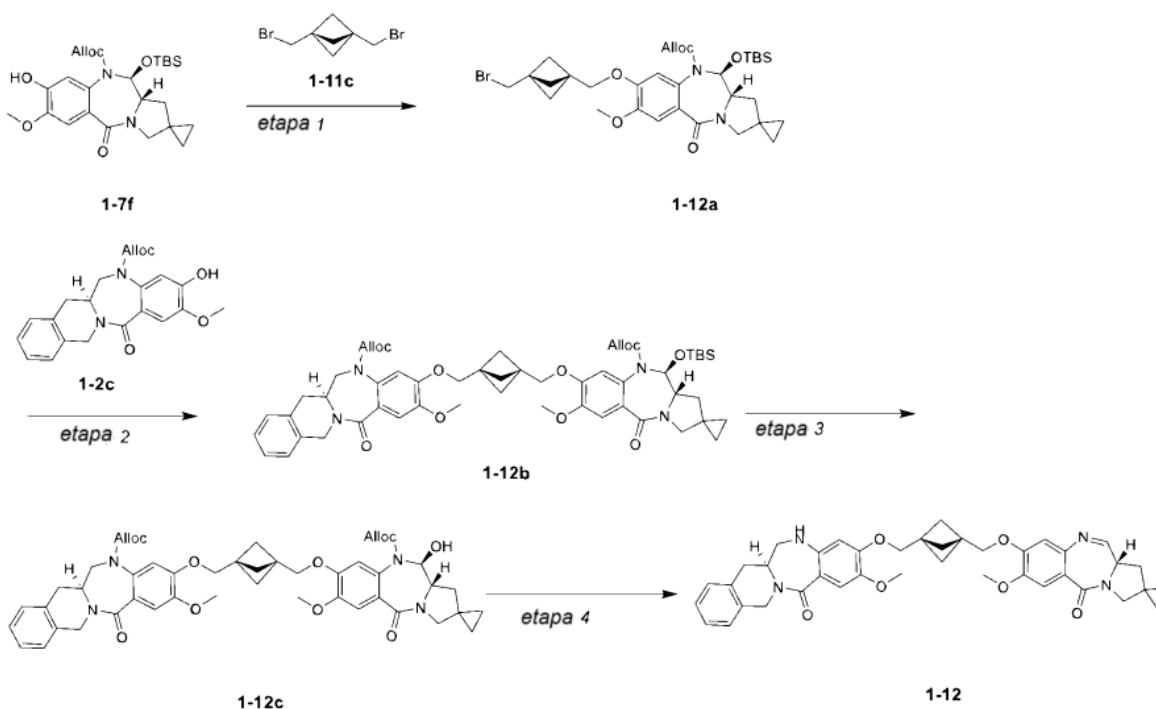
[0348] Paso 6: (S)-2-metoxi-3-((3-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-8-il)oxi)metil)biciclo[1.1.1]pentan-1-il)metoxi)-7,12-dihidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-11**)

[0349] Se añadió Pd(PPh₃)₄ (3,6 mg, 0,003 mmol) a una solución de **1-11f** (24 mg, 0,03

mmol) en CH_2Cl_2 (0,5 mL) y pirrolidina (11 μL , 0,15 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 0,5 h a r.t. La reacción se concentró y se purificó por HPLC preparativa (0,01 % FA en H_2O) para dar **1-11** (10,1 mg, rendimiento del 53%) como un sólido blanco. MS (ESI) m/z : 673,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

- 5 [0350] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,78 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 7,51 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H), 7,46 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H), 7,42 – 7,29 (m, 4H), 6,79 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H), 5,00 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H), 4,56 (d, $J = 15,4$ Hz, 1H), 4,25 – 4,07 (m, 4H), 3,96-3,94 (m, 1H), 3,94 (d, $J = 2,0$ Hz, 6H), 3,85 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 3,67 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 3,49 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 3,27 (dd, $J = 15,2, 5,3$ Hz, 1H), 3,16 (dd, $J = 15,4, 3,9$ Hz, 1H), 2,52 (dd, $J = 13,0, 7,9$ Hz, 1H), 2,07 –
- 10 1,97 (m, 1H), 1,90 (s, 6H), 0,80 – 0,68 (m, 4H).

Ejemplo 1-12



- [0351] Paso 1: (11S,11aS)-8-((3-(bromometil)biciclo[1.1.1]pentan-1-il)metoxi)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-12a**)
- 15

[0352] A una solución de **1-7f** (35 mg, 0,07 mmol) y 1-11c (180 mg, 0,72 mmol) en 2 mL de DMF se añadió K_2CO_3 (12 mg, 0,09 mmol) a r.t. Se agitó la mezcla a t.a. durante 5 horas. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H_2O y salmuera. La fase orgánica se concentró

y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida para dar **1-12a** (41 mg, rendimiento del 86%). MS (ESI) m/z: 661,3 [M+H]⁺.

[0353] Paso 2: (S)-3-((3-(((11S,11aS)-10-((aliloxi)carbonil)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)metil)biciclo[1.1.1]pentan-1-il)metoxi)-2-metoxi-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de alilo (**1-12b**)

[0354] Se agregaron **1-2c** (23 mg, 0,06 mmol) y K₂CO₃ (11 mg, 0,08 mmol) a una solución de **1-12a** (41 mg, 0,06 mmol) en 1 mL de DMF. La mezcla se agitó a r.t. durante la noche. El producto (éter de petróleo/EtOAc = 1:2) se detectó por LCMS. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrápida (éter de petróleo/EtOAc = 27/73) para dar **1-12b** (48 mg, rendimiento del 84%). MS (ESI) m/z: 4974,6 [M+H]⁺.

[0355] Paso 3: (S)-3-((3-(((11S,11aS)-10-((aliloxi)carbonil)-11-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)metil)biciclo[1.1.1]pentan-1-il)metoxi)-2-metoxi-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de alilo (**1-12c**)

[0356] Se añadió una solución mixta de 1 M TBAF (248 µL, 0,25 mmol) y AcOH (18 µL, 0,30 mmol) a la solución de **1-12b** (48 mg, 0,05 mmol) en 5 mL de THF seco. Se agitó la mezcla a r.t. durante 2 h. Al finalizar la reacción mediante LCMS, la mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O, ácido cítrico al 5%, salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida para dar **1-12c** (30 mg, rendimiento del 78%). MS (ESI) m/z: 861,5 [M+H]⁺.

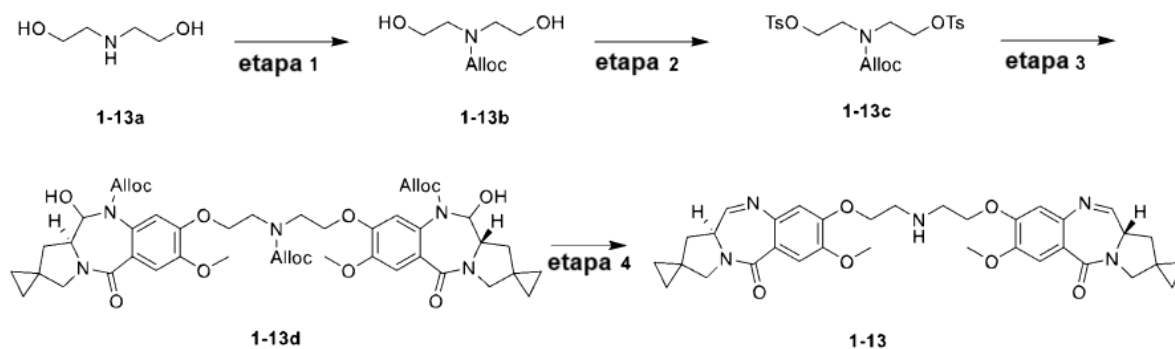
[0357] Paso 4: (S)-2-metoxi-3-((3-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)metil)biciclo[1.1.1]pentan-1-il)metoxi)-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(5H)-ona (**1-12**)

[0358] Se añadió Pd(PPh₃)₄ (4,0 mg, 0,003 mmol) a una solución de **1-12c** (30 mg, 0,03 mmol) en CH₂Cl₂ (0,5 mL) y pirrolidina (13 µL, 0,17 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 0,5 h a r.t. La reacción se concentró y se purificó por HPLC preparativa (0,01 % FA en H₂O) para dar **1-12** (18 mg, rendimiento del 77%) como un sólido blanco. MS (ESI) m/z: 675,4 [M+H]⁺.

[0359] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,78 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 7,71 – 7,63 (m, 2H), 7,57-

7,53 (m, 1H), 7,51 – 7,43 (m, 3H), 7,34-7,32 (m, 1H), 7,21 – 7,15 (m, 1H), 6,80 (s, 1H), 4,87 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H), 4,71 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H), 4,21 – 4,02 (m, 6H), 3,94 (s, 3H), 3,84-3,82 (s, 3H), 3,67 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 3,53 – 3,39 (m, 2H), 3,21 (t, $J = 10,9$ Hz, 1H), 3,10 (dd, $J = 15,2, 5,7$ Hz, 1H), 2,80 (dd, $J = 15,2, 5,0$ Hz, 1H), 2,52 (dd, $J = 13,0, 8,1$ Hz, 1H), 2,00 (dd, $J = 13,1, 2,6$ Hz, 1H), 1,89 (s, 6H), 0,74 (m, 4H).

Ejemplo 1-13



[0360] Paso 1: bis(2-hidroxietil)carbamato de alilo (**1-13b**)

[0361] A una solución de **1-13a** (423 mg, 3 mmol) en THF (3,1 mL) y agua (5,7 mL) se añadieron AllocCl (361,45 mg, 3 mmol) y K_2CO_3 (1036 mg, 7,5 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. TLC (éter de petróleo:EtOAc=1:1, v/v) mostró que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se vertió en agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (20 mL*3). La capa orgánica combinada se secó en Na_2SO_4 y se filtró. El solvente se evaporó y el producto bruto **1-13b** (567 mg) se usó en la siguiente etapa sin tratamiento o purificación adicional.

[0362] Paso 2: (((aliloxi)carbonil)azanedil)bis(etano-2,1-diil)bis(4-metilbencenosulfonato) (**1-13c**)

[0363] A una solución de **1-13b** (567 mg, 3 mmol) en CH_2Cl_2 (7 mL) se añadió TsCl (1,7 g, 9 mmol) y trietilamina (1,67 mL, 12 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. TLC (éter de petróleo:EtOAc=3:1, v/v) mostró que la reacción se había completado. La reacción se vertió en agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (30 mL*3). La capa orgánica combinada se secó en Na_2SO_4 y se filtró. El solvente se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc = 100/0 a 30/70) para dar **1-13c** (1,2 g, rendimiento del 73,08%) como un aceite incoloro.

[0364] Paso 3: 8,8"-((((aliloxi)carbonil)azanedil)bis(etano-2,1-

diil))bis(oxi))(11aS,11a"S)-bis(11-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato) de dialilo (**1-13d**)

5 [0365] A una solución de **1-13c** (50 mg, 0,10 mmol) y **1-5b** (75,25 mg, 0,20 mmol) en DMSO (2 mL) se añadió K₂CO₃ (41,70 mg, 0,30 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 50 °C durante 16 h. LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (10 mL) y se lavó con salmuera (8 mL*3). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró para dar el residuo, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc = 100/0 a 10/90) para dar **1-13d** (38 mg, rendimiento del 49,64%) como un aceite incoloro.

[0366] MS (ESI) m/z: 902,3 [M+H]⁺.

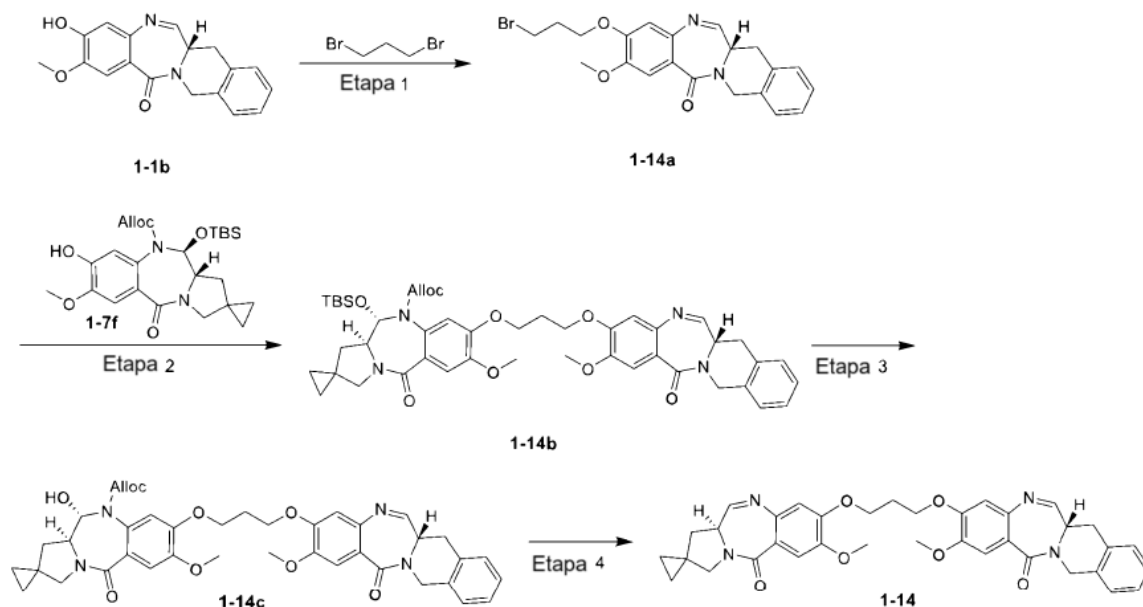
[0367] Paso 4: (11aS,11a"S)-8,8"-((azanodiilbis(etano-2,1-diil))bis(oxi))bis(7-metoxi-1,11a-dihidro-3H,5H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-5-ona) (**1-13**)

15 [0368] A una solución de **1-13d** (45 mg, 0,05 mmol) y CH₂Cl₂ (3 mL) se añadió Pd(PPh₃)₄ (5,77 mg, 0,005 mmol) y pirrolidina (12 µL, 0,12 mmol) a r.t. La mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min. La LCMS mostró que la reacción se había completado. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por HPLC preparativa (FA al 0,01 %) para dar el producto **1-13** (12 mg, rendimiento del 35,27%) como un sólido blanco.

20 [0369] MS (ESI) m/z: 614,3 [M+H]⁺.

[0370] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,79 (2 H, d, J = 4,4), 7,51 (2 H, s), 6,84 (2 H, d, J = 2,2), 4,30 – 4,13 (4 H, m), 3,93 (6 H, d, J = 0,9), 3,87 – 3,81 (2 H, m), 3,67 (2 H, d, J = 11,7), 3,49 (2 H, d, J = 11,7), 3,26 – 3,17 (4 H, m), 2,52 (2 H, dd, J = 13,0, 8,1), 2,00 (2 H, dd, J = 13,0, 2,6), 0,73 (8 H, ddd, J = 11,3, 8,3, 4,5).

25 **Ejemplo 1-14**



[0371] Paso 1: (S)-3-(3-bromopropoxi)-2-metoxi-7,12-dihidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-14a**)

[0372] A una solución de **1-1b** (83 mg, 0,27 mmol) y 1,3-dibromopropano (0,42 mL, 4,04 mmol) en 2 mL de DMF se añadió K_2CO_3 (45 mg, 0,32 mmol) a r.t. Se agitó la mezcla a r.t. durante 2 h. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H_2O y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 96/4$) para proporcionar **1-14a** (98 mg, rendimiento del 85%).

[0373] MS (ESI) m/z: 429,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0374] Paso 2: (11S,11aS)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-8-(3-(((S)-2-metoxi-14-oxo-6a,7,12,14-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-3-il)oxi)propoxi)-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-14b**)

[0375] Se agregaron **1-7f** (25 mg, 0,06 mmol) y K_2CO_3 (10,5 mg, 0,08 mmol) a una solución de **1-14a** (43 mg, 0,09 mmol) en 1 mL de DMF. La mezcla se agitó a 40 °C durante 36 h. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 96/4$) para proporcionar **1-14b** (40 mg, rendimiento del 82%).

[0376] MS (ESI) m/z: 837,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0377] Paso 3: (11S,11aS)-11-hidroxi-7-metoxi-8-(3-(((S)-2-metoxi-14-oxo-6a,7,12,14-tetrahydrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-3-il)oxi)propoxi)-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-14c**)

5 [0378] Se añadió 1 M TBAF (240 μ L, 0,24 mmol) a la solución de **1-14b** (40 mg, 0,05 mmol) en 1,5 mL de THF seco y AcOH (16 μ L, 0,29 mmol). Se agitó la mezcla a r.t. durante 2 h. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con NaHCO₃ sat. y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH = 96/4) para proporcionar **1-14c** (30 mg, rendimiento del 77%).

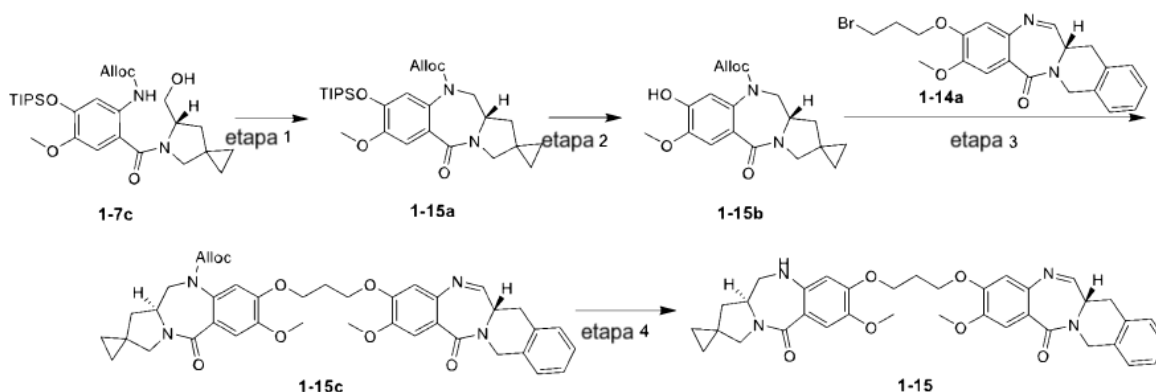
[0379] MS (ESI) m/z: 723,4 [M+H]⁺.

[0380] Paso 4: (S)-2-metoxi-3-(3-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)propoxi)-7,12-dihidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-14**)

15 [0381] Se añadió Pd(PPh₃)₄ (3,84 mg, 0,003 mmol) a una solución de **1-14c** (24 mg, 0,033 mmol) en CH₂Cl₂ (1 mL) y pirrolidina (6,82 μ L, 0,083 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 20 min a r.t. La reacción se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa (método: columna: XBridge Prep C18 OBD 5 μ m 19*150 mm; fase móvil: A-agua (sin ácido fórmico): B-acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 mL/min). La fracción se liofilizó para dar **1-14** (6,5 mg, rendimiento del 32%) como un sólido blanco.

[0382] MS (ESI) m/z: 621,4 [M+H]⁺.

Ejemplo 1-15



[0383] Paso 1: (S)-7-metoxi-5-oxo-8-((triisopropilsilil)oxi)-11,11a-dihidro-1H,3H-

espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-15a**)

[0384] Se añadió DIAD (1,14 mL, 5,75 mmol) a una solución de **1-7c** (1,53 g, 2,87 mmol) y PPh₃ (2,26 g, 8,62 mmol) en THF (30 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a 40 °C en N₂. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 30/70) para obtener **1-15a** (940 mg, rendimiento del 64%).

[0385] MS (ESI) m/z: 515,4 [M+H]⁺.

[0386] Paso 2: (S)-8-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-15b**)

[0387] Se añadió acetato de litio (121 mg, 1,83 mmol) a una solución de **1-15a** (940 mg, 1,83 mmol) en DMF húmedo (15 mL, DMF/agua = 49/1). La reacción se agitó durante 2 h a 25 °C. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O y salmuera dos veces. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH = 96/4) para proporcionar **1-15b** (605 mg, rendimiento del 92%).

[0388] MS (ESI) m/z: 359,2 [M+H]⁺.

[0389] Paso 3: (S)-7-metoxi-8-(3-(((S)-2-metoxi-14-oxo-6a,7,12,14-tetrahydrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-3-il)oxi)propoxi)-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-15c**)

[0390] Se agregaron **1-15b** (26 mg, 0,06 mmol) y K₂CO₃ (10,03 mg, 0,07 mmol) a una solución de **1-14a** (20 mg, 0,06 mmol) en 1 mL de DMF. La mezcla se agitó a r.t. durante la noche. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH = 96/4) para proporcionar **1-15c** (33 mg, rendimiento del 84%).

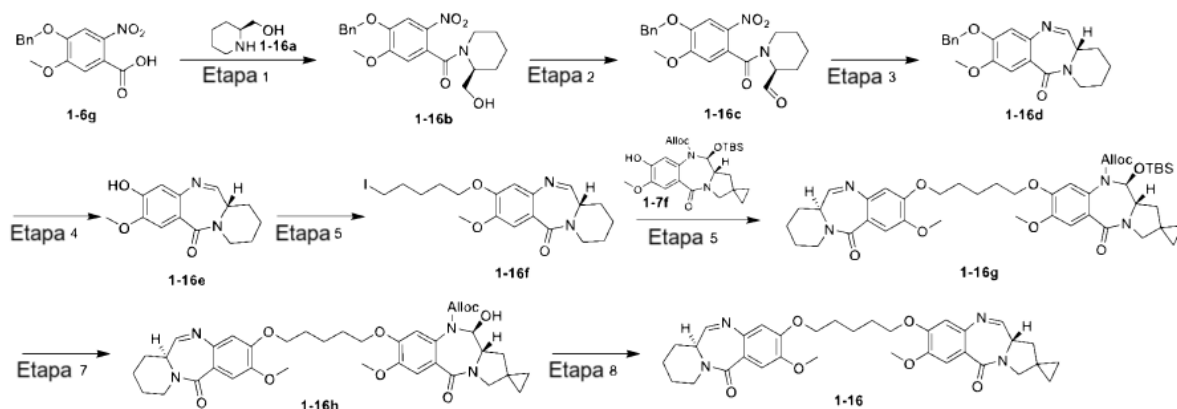
[0391] MS (ESI) m/z: 707,4 [M+H]⁺.

[0392] Paso 4: (S)-2-metoxi-3-(3-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahydro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-8-il)oxi)propoxi)-7,12-dihidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-15**)

[0393] Se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (5,4 mg, 0,005 mmol) a una solución de **1-15c** (33 mg, 0,047 mmol) en CH_2Cl_2 (1 mL) y pirrolidina (9,6 μL , 0,117 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 0,5 h a r.t. en N_2 . La reacción se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa (método: columna: XBridge Prep C18 OBD 5 μm 19*150 mm; fase móvil: A-agua (sin ácido fórmico): B-acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 mL/min). La fracción se liofilizó para dar **1-15** (5,1 mg, rendimiento del 17%) como un sólido blanco.

[0394] MS (ESI) m/z : 623,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ejemplo 1-16



[0395] Paso 1: (S)-(4-(benciloxi)-5-metoxi-2-nitrofenil)(2-(hidroximetil)piperidin-1-il)metanona (**1-16b**)

[0396] Se añadió cloruro de oxalilo (0,43 mL, 4,94 mmol) gota a gota a una solución agitada de **1-6g** (600 mg, 1,97 mmol) en CH_2Cl_2 (5,1 mL), THF (0,51 mL) y DMF (2,4 μL , 0,031 mmol) a 0 °C en N_2 . La mezcla de reacción se calentó hasta r.t. y se agitó durante 1 h.

La mezcla de reacción se concentró para obtener un sólido amarillo pálido y se utilizó para el siguiente paso sin purificación.

[0397] El sólido obtenido y **1-16a** (250,6 mg, 2,18 mmol) se disolvieron en CH_2Cl_2 (5,6 mL), luego la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se agregó Et_3N (0,4 mL, 2,96 mmol) gota a gota bajo N_2 . La mezcla de reacción luego se calentó hasta r.t. y se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró para obtener el producto bruto, que se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyente: EtOAc/hexanos = 0% a 80%) para obtener **1-16b** (720 mg, rendimiento del 91%) como un sólido amarillo.

[0398] MS (ESI) m/z : 401,16 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0399] Paso 2: (S)-1-(4-(benciloxi)-5-metoxi-2-nitrobenzoyl)piperidina-2-carbaldehído (**1-16c**)

[0400] Se añadió lentamente, en porciones, DMP (805 mg, 1,89 mmol) a 0 °C a una solución de **1-16b** (700 mg, 1,75 mmol) en CH₂Cl₂ (7 mL). Luego, la reacción se calentó hasta r.t. y se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se lavó con solución acuosa saturada de tiosulfato de sodio (10 mL), seguido de una adición lenta de NaHCO₃ ac. sat. (10 mL) y H₂O (10 mL). La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (10 mL*3) y la capa orgánica se lavó con salmuera (5 mL), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para obtener el compuesto del título **1-16c** (730 mg, bruto) como un sólido amarillo, que se utilizó para el siguiente paso sin purificación.

[0401] MS (ESI) m/z: 399,15 [M+H]⁺.

[0402] Paso 3: (S)-3-(benciloxi)-2-metoxi-7,8,9,10-tetrahidrobenzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepin-12(6aH)-ona(**1-16d**)

[0403] El compuesto **1-16c** (730 mg, 1,83 mmol) se disolvió en un disolvente mixto de THF (0,9 mL), metanol (4,5 mL) y agua (0,9 mL), luego se añadió NH₄Cl (980,06 mg, 18,32 mmol), seguido de polvo de hierro (511,6 mg, 9,16 mmol). Luego, la reacción se calentó a 50 °C bajo N₂ y se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite. El filtrado se diluyó con agua (5 mL), se extrajo con EtOAc (10 mL*3). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró para obtener el producto bruto, que se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyente: EtOAc/hexano = 0% a 60%) para obtener **1-16d** (500 mg, rendimiento del 77,8%) como un sólido amarillo.

[0404] MS (ESI) m/z: 351,2 [M+H]⁺.

[0405] Paso 4: (S)-3-hidroxi-2-metoxi-7,8,9,10-tetrahidrobenzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepin-12(6aH)-ona (**1-16e**)

[0406] Se añadió MeSO₃H (0,37 mL, 5,7 mmol) gota a gota a una solución de **1-16d** (200 mg, 0,57 mmol) en CH₂Cl₂ (2,5 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 10 min, luego se calentó hasta r.t. y se agitó durante 2 h. La mezcla se neutralizó con NaHCO₃ sat. (10 mL), luego se extrajo con CH₂Cl₂ (5 mL*3), la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄, se filtró y concentró para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a 20/80) para dar **1-16e** (120 mg, rendimiento del 80,7%) como un sólido blanco.

[0407] MS (ESI) m/z: 261,2 [M+H]⁺.

[0408] Paso 5: (S)-3-((5-yodopentil)oxi)-2-metoxi-7,8,9,10-tetrahidrobenzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepin-12(6aH)-ona (**1-16f**)

[0409] Se añadió 1,5-diiodopentano (0,34 mL, 2,31 mmol) a una solución de **1-16e** (120 mg, 0,46 mmol) en DMF seco (2 mL). La solución luego se enfrió a 0 °C, se añadió K₂CO₃ (127 mg, 0,92 mmol) en una porción. La reacción se agitó a r.t. durante 6 h. Se agregó EtOAc (20 mL) y H₂O (10 mL), la capa orgánica se lavó con salmuera (5 mL), se secó en Na₂SO₄, se filtró y concentró para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a 50/50) para dar **1-16f** (130 mg, rendimiento del 61,7%) como un sólido amarillo.

[0410] MS (ESI) m/z: 457,1 [M+H]⁺.

[0411] Paso 6: (11S,11aS)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-8-((5-(((S)-2-metoxi-12-oxo-6a,7,8,9,10,12-hexahidrobenzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepin-3-il)oxi)pentil)oxi)-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-16g**)

[0412] A una solución de **1-7f** (50 mg, 0,102 mmol) y **1-16f** (51,3 mg, 0,11 mmol) en DMF (0,5 mL) se le añadió K₂CO₃ (16,9 mg, 0,12 mmol). Se agitó la mezcla a r.t. durante 3 h. Se agregó EtOAc (15 mL) y H₂O (10 mL), la capa orgánica se lavó con salmuera (5 mL), se secó en Na₂SO₄, se filtró y concentró para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a 50/50) para dar **1-16g** (60 mg, rendimiento del 71,7%) como un sólido blanco.

[0413] MS (ESI) m/z: 817,5 [M+H]⁺.

[0414] Paso 7: (11S,11aS)-11-hidroxi-7-metoxi-8-((5-(((S)-2-metoxi-12-oxo-6a,7,8,9,10,12-hexahidrobenzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepin-3-il)oxi)pentil)oxi)-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-16h**)

[0415] A una solución de **1-16g** (60 mg, 0,07 mmol) en THF seco (1 mL) se añadió AcOH (24 µL), seguido de la adición gota a gota de TBAF (350 µL, 0,35 mmol, 1 M en THF). Se agitó la mezcla a t.a. durante 6 horas. La mezcla se neutralizó con NaHCO₃ sat. y se extrajo con EtOAc (5 mL*3), la capa orgánica se lavó con salmuera (5 mL), se secó en Na₂SO₄, se filtró y concentró para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: CH₂Cl₂/MeOH = 100/0 a 5/95) para dar **1-16h** (40 mg, rendimiento del 77,5%) como un sólido blanco.

[0416] MS (ESI) m/z : 703,4 $[M+H]^+$.

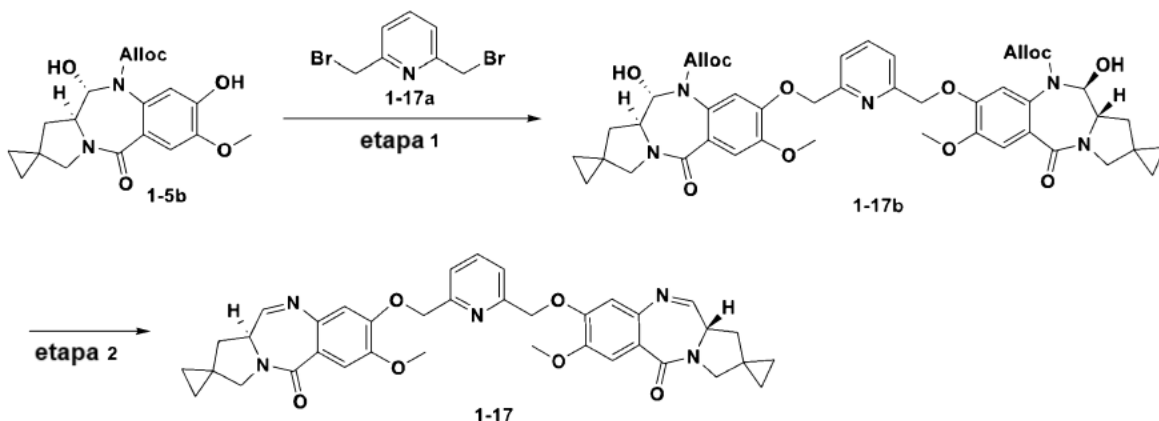
[0417] Paso 8: (S)-7-metoxi-8-((5-(((S)-2-metoxi-12-oxo-6a,7,8,9,10,12-hexahidrobenzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepin-3-il)oxi)pentil)oxi)-1,11a-dihidro-3H,5H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-5-ona (**1-16**)

5 [0418] A una solución de **1-16h** (40 mg, 0,056 mmol) en CH_2Cl_2 (1 mL) se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2,0 mg, cantidad cat.) y pirrolidina (11 μL , 0,14 mmol). La mezcla de reacción se agitó a r.t. en N_2 durante 15 min. La reacción se neutralizó con AcOH y se concentró para dar el residuo, que se purificó mediante HPLC preparativa (método: columna: XBridge Prep C18 OBD 5 μm 19*150 mm; fase móvil: A-agua (ácido fórmico al 0,01%); B-acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 mL/min) para dar **1-16** (9,6 mg, rendimiento del 28,1%) como un sólido blanco.

[0419] MS (ESI) m/z : 601,1 $[M+H]^+$.

[0420] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,92 (s, 1H), 7,81 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 6,79 (d, $J = 14,2$ Hz, 2H), 4,24 (s, 1H), 4,10 (d, $J = 22,7$ Hz, 4H), 3,94 (d, $J = 3,5$ Hz, 6H),
15 3,87 (s, 1H), 3,79 (s, 1H), 3,69 (d, $J = 11,3$ Hz, 1H), 3,51 (d, $J = 12,2$ Hz, 1H), 3,25 (s, 1H), 2,62 – 2,47 (m, 1H), 2,19 – 1,77 (m, 11H), 1,68 (s, 4H), 0,83 – 0,64 (m, 4H).

Ejemplo 1-17



[0421] Paso 1: 8,8''-((piridina-2,6-diilbis(metileno))bis(oxi))(11S,11aS,11''S,11a''S)-bis(11-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato) de dialilo (**1-17b**)

[0422] A una solución de **1-5b** (84 mg, 0,23 mmol) y **1-17a** (30 mg, 0,11 mmol) en 3 mL de DMF se añadió carbonato de potasio (84 mg, 0,77 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con

acetato de etilo (10 mL*2). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y se secó en sulfato de sodio anhidro. Después de esto, la fase orgánica se concentró al vacío para obtener el producto bruto, que se utilizó en el siguiente paso directamente sin purificación adicional.

5 [0423] MS (ESI) m/z: 852,9 [M+H]⁺.

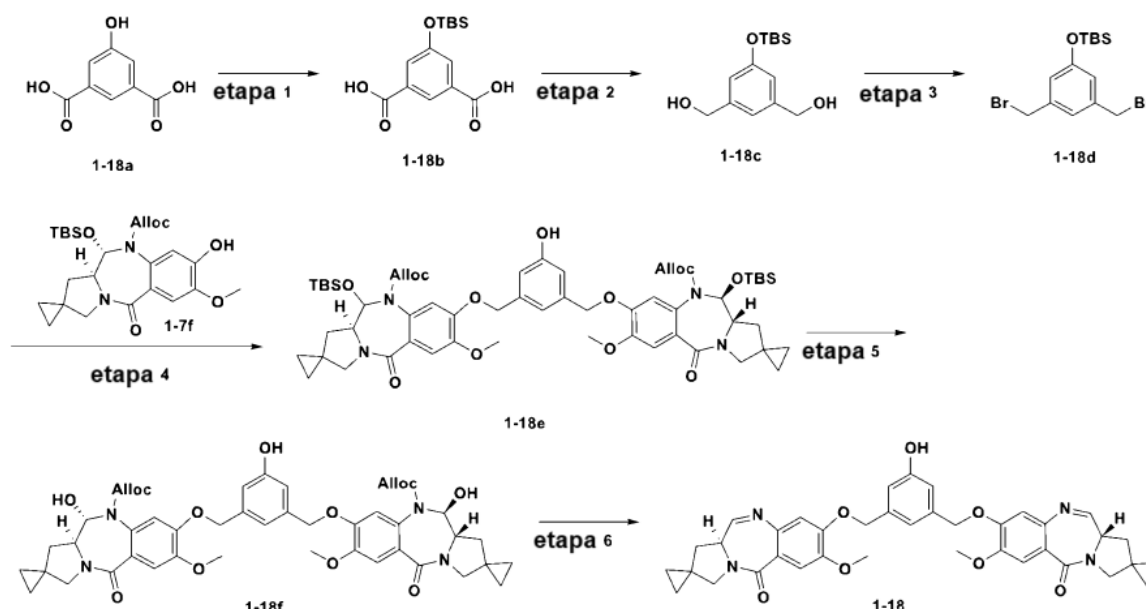
[0424] Paso 2: (11aS,11a''S)-8,8''-((piridina-2,6-diilbis(metileno))bis(oxi))bis(7-metoxi-1,11a-dihidro-3H,5H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-5-ona) (**1-17**)

10 [0425] A una solución de **1-17b** (84 mg, 0,23 mmol) en THF/CH₂Cl₂ (1mL/1mL) se añadió Pd(PPh₃)₄ (12 mg, 0,01 mmol) y 1,3-dimedona (32 mg, 0,23 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La solución se purificó por HPLC preparativa (Método: columna: XBridge Prep C18 OBD 5µm 19*150 mm; fase móvil: A-agua (0,01% ácido fórmico): B-acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 mL/min) para dar **1-17** (36 mg, rendimiento del 50%) como un sólido blanco.

15 [0426] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,81 (m, 3H), 7,61 (s, 2H), 7,53 (d, J = 7,7 Hz, 2H), 6,92 (s, 2H), 5,85 – 5,03 (m, 4H), 4,27 – 3,96 (m, 6H), 3,96 (m, 2H), 3,73 (d, J = 11,7 Hz, 2H), 3,55 (d, J = 11,7 Hz, 2H), 2,57 (d J = 12,9, 2H), 2,05 (d, J = 12,8 Hz, 2H), 0,93 – 0,71 (m, 8H).

[0427] MS (ESI) m/z: 648,7 [M+H]⁺.

20 **Ejemplo 1-18**



[0428] Paso 1: ácido 5-((terc-butildimetilsilil)oxi)isofáltico (**1-18b**)

[0429] A una solución de **1-18a** (0,5 g, 2,74 mmol) en 10 mL de DMF se añadió TBS-Cl (2 g, 13,7 mmol) e imidazol (1,12 g, 16,4 mmol), y la mezcla se agitó a 50 °C durante 4 h.

5 La mezcla se acidificó con HCl 1 N a pH=3, se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (10 mL*2). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Después de eso, la fase orgánica se concentró al vacío para dar el residuo, y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 50/50) para dar **1-18b** (170 mg, rendimiento del 21%)
10 como un sólido blanco.

[0430] MS (ESI) m/z: 297,4 [M+H]⁺.

[0431] Paso 2: (5-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1,3-fenileno)dimetanol (**1-18c**)

[0432] A una solución de **1-18b** (50 mg, 0,17 mmol) en 2 mL de THF se añadió LiAlH₄ (1 M, 0,34 mL, 0,34 mmol) y la mezcla se agitó a 40 °C durante 2 h. La mezcla se inactivó con
15 H₂O (36 µL), NaOH ac. al 10% (40 µL) y H₂O (200 µL), la mezcla se agitó durante 1 h a r.t., se filtró la solución y se concentró el filtrado al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (método: columna: XBridge Prep C18 OBD 5µm 19*150 mm; fase móvil: A-agua (ácido fórmico al 0,1 %): B-acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 mL/min) para dar **1-18c** (27 mg, rendimiento del 27,1%) como un sólido blanco.

20 [0433] MS (ESI) m/z: 269,4 [M+H]⁺.

[0434] Paso 3: (3,5-bis(bromometil)fenoxi)(terc-butil)dimetilsilano (**1-18d**)

[0435] Una solución de **1-18c** (21 mg, 0,08 mmol) en 2 mL de CH₃CN se enfrió a 0 °C, luego se agregaron PPh₃ (62 mg, 0,24 mmol) y CBr₄ (78 mg, 0,24 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La solución se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (10 mL*2). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y se secó en sulfato de sodio anhidro. Después de esto, la fase orgánica se concentró al vacío para obtener el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 90/10) para dar **1-18d** (30 mg, rendimiento del 96 %) como un aceite incoloro.

[0436] MS (ESI) m/z: 395,2 [M+H]⁺.

[0437] Paso 4: (11S,11aS)-8-((3-(((11aS)-10-((aliloxi)carbonil)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahydro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)metil)-5-hidroxibencil)oxi)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-18e**)

[0438] A una solución de **1-18d** (30 mg, 0,08 mmol) y **1-7f** (79 mg, 0,16 mmol) en 3 mL de DMF se añadió carbonato de potasio (23 mg, 0,16 mmol) y la mezcla se agitó a r.t. durante 4 h. La mezcla se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (10 mL*2). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y se secó en sulfato de sodio anhidro. La solución se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 90/10) para dar **1-18e** (58 mg, rendimiento del 63 %) como un sólido blanco.

[0439] MS (ESI) m/z: 1096,5 [M+H]⁺.

[0440] Paso 5: 8,8"-(((5-hidroxi-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(oxi))(11S,11aS,11"S,11a"S)-bis(11-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato) de dialilo (**1-18f**)

[0441] A una solución de **1-18e** (58 mg, 0,05 mmol) en 3 mL de THF se añadió gota a gota TBAF (159 µL, 0,16 mmol) y AcOH (15 µL, 0,27 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (10 mL*2). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y se secó en sulfato de sodio anhidro. La solución se concentró para dar un residuo que se

purificó por cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=90/10$) para dar **1-18f** (42 mg, rendimiento del 91,3%) como un sólido blanco.

[0442] MS (ESI) m/z : 867,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

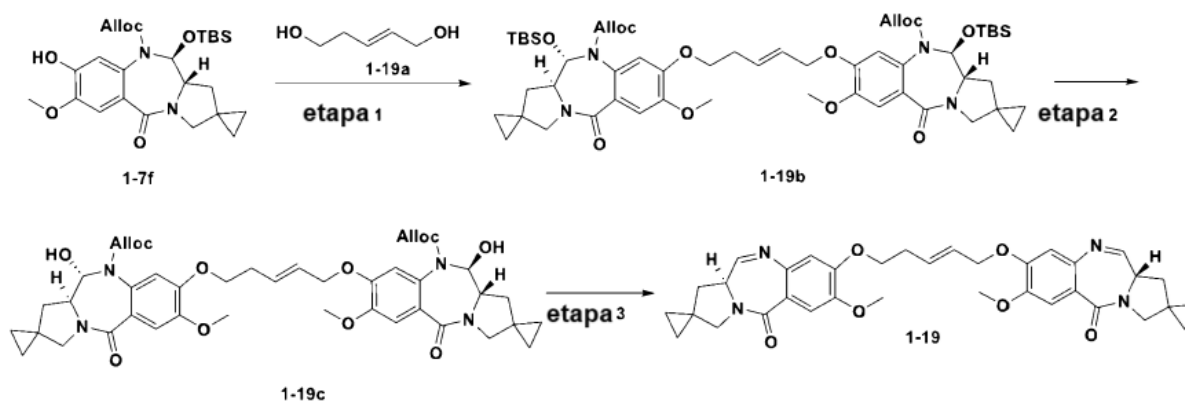
[0443] Paso 6: (11aS,11a"S)-8,8"-(((5-hidroxi-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(oxi))bis(7-metoxi-1,11a-dihidro-3H,5H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-5-ona) (**1-18**)

[0444] A una solución de **1-18f** (42 mg, 0,05 mmol) en CH_2Cl_2 (2 mL) se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (3 mg, 0,003 mmol) y pirrolidina (21 μL , 0,25 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. **La solución se purificó** mediante HPLC preparativa (método: columna: XBridge Prep C18 OBD 5 μm 19*150 mm; fase móvil: A-agua (ácido fórmico al 0,01 %): B-acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 mL/min) para dar **1-18** (18 mg, rendimiento del 55%) como un sólido blanco.

[0445] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,75 (s, 2H), 7,48 (s, 2H), 6,90 (m, 5H), 5,08 (m, 4H), 4,01 – 3,79 (m, 8H), 3,66 (d, $J = 11,8$ Hz, 2H), 3,47 (d, $J = 11,7$ Hz, 2H), 2,69 – 2,37 (m, 2H), 2,02 – 1,89 (m, 2H), 0,78 (dm, 8H).

[0446] MS (ESI) m/z : 663,7 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ejemplo 1-19



[0447] Paso 1: 8,8"-(((E)-pent-2-eno-1,5-diil)bis(oxi))(11S,11aS,11"S,11a"S)-bis(11-(((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato) de dialilo (**1-19b**)

[0448] Se disolvieron PPh_3 (96 mg, 0,37 mmol) y DIAD (74 μL , 0,37 mmol) en THF (3 mL) y se agitaron a temperatura ambiente durante 2 h. Luego se añadieron **1-7 f** (107 mg, 0,22 mmol) y **1-19a** (8 mg, 0,07 mmol) y la mezcla se agitó durante 1 h más a temperatura

ambiente. La solución se concentró y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}=50/50$) para dar **1-19b** (33 mg, rendimiento del 15 %) como un sólido blanco.

[0449] MS (ESI) m/z: 1044,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5 [0450] Paso 2: (11S,11aS)-8-(((E)-5-(((11S,11aS)-10-((aliloxi)carbonil)-11-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)pent-2-en-1-il)oxi)-11-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**1-19c**)

10 [0451] A una solución de **1-19b** (33 mg, 0,03 mmol) en 3 mL de THF se añadió gota a gota TBAF (106 μL , 0,11 mmol) y AcOH (10 μL , 0,15 mmol), la mezcla se agitó a r.t. durante 1 h. La mezcla se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (10 mL*2). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y se secó en sulfato de sodio anhidro. La solución se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna
15 de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=90/10$) para dar **1-19c** (21 mg, rendimiento del 81%) como un sólido blanco.

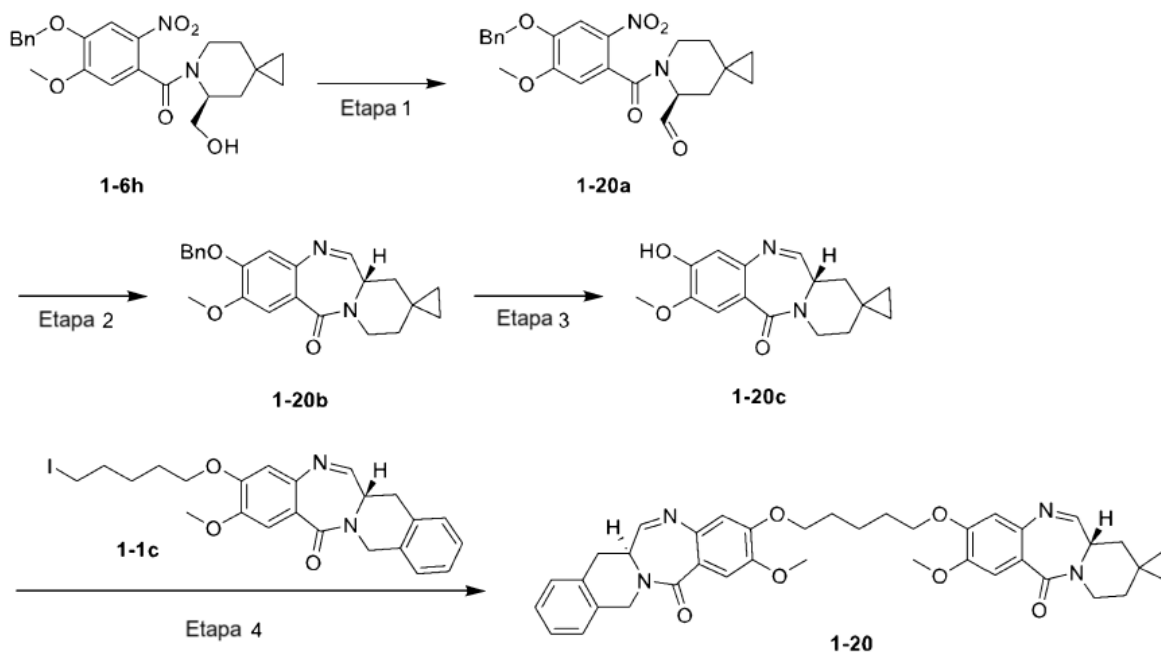
[0452] MS (ESI) m/z: 815,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0453] Paso 3: (11aS,11a"S)-8,8"-(((E)-pent-2-eno-1,5-diol)bis(oxo))bis(7-metoxi-1,11a-dihidro-3H,5H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-5-ona) (**1-19**)

20 [0454] A una solución de **1-19c** (21 mg, 0,025 mmol) en CH_2Cl_2 (2 mL) se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2 mg, 0,0013 mmol) y pirrolidina (11 μL , 0,13 mmol), y la mezcla se agitó a r.t. durante 1 h. **La solución se purificó** mediante HPLC preparativa (método: columna: XBridge Prep C18 OBD 5 μm 19*150 mm; fase móvil: A-agua (ácido fórmico al 0,01 %): B-acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 mL/min) para dar **1-19** (4 mg, rendimiento del 26%) como
25 un sólido blanco.

[0455] MS (ESI) m/z: 611,7 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ejemplo 1-20



[0456] Paso 1: (S)-6-(4-(benciloxi)-5-metoxi-2-nitrobenzoyl)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbaldehído (**1-20a**)

[0457] A una solución de **1-6h** (80 mg, 0,16 mmol) en CH₂Cl₂ (3 mL) se añadió DMP (105 mg, 0,24 mmol) a 0 °C, luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. A la solución se le añadió Na₂S₂O₃ sat. (5 mL) y NaHCO₃ sat. (5 mL), luego se extrajo con CH₂Cl₂ (5 mL * 3). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró para dar el residuo, que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a 50/50) para dar **1-20a** (70 mg, rendimiento del 90%) como un sólido blanco.

[0458] MS (ESI) m/z: 425,1 [M+H]⁺.

[0459] Paso 2: (S)-3-(benciloxi)-2-metoxi-6a,7,9,10-tetrahidro-12H-espiro[benzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepina-8,1'-ciclopropan]-12-ona (**1-20b**)

[0460] A una solución de **1-20a** (70 mg, 0,16 mmol) en MeOH (3 mL) y H₂O (1 mL), se añadió NH₄Cl (134 mg, 2,46 mmol), seguido de polvo de hierro (46,5 mg, 0,81 mmol). La reacción se sometió a reflujo durante 3 h en N₂. La mezcla de reacción se filtró a través de celite. El filtrado se diluyó con agua (5 mL) y se extrajo con EtOAc (5 mL*3). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró para dar **1-20b**

(54 mg, bruto), que se utilizó directamente para el siguiente paso sin purificación adicional.

[0461] MS (ESI) m/z: 377,2 [M+H]⁺.

[0462] Paso 3: (S)-3-hidroxi-2-metoxi-6a,7,9,10-tetrahidro-12H-espiro[benzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepina-8,1'-ciclopropan]-12-ona (**1-20c**)

5 [0463] A la solución de **1-20b** (50 mg, 0,08 mmol) en CH₂Cl₂ (2,5 mL) se añadió MsOH (55 µL, 0,8 mmol) a 0 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 5 h. La mezcla se neutralizó con NaHCO₃ sat. y se extrajo con CH₂Cl₂ (5 mL*3). La capa orgánica se lavó con salmuera (5 mL), se secó en Na₂SO₄ y se concentró para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a
10 25/75) para dar **1-20c** (25 mg, rendimiento del 65,7%) como un sólido amarillo.

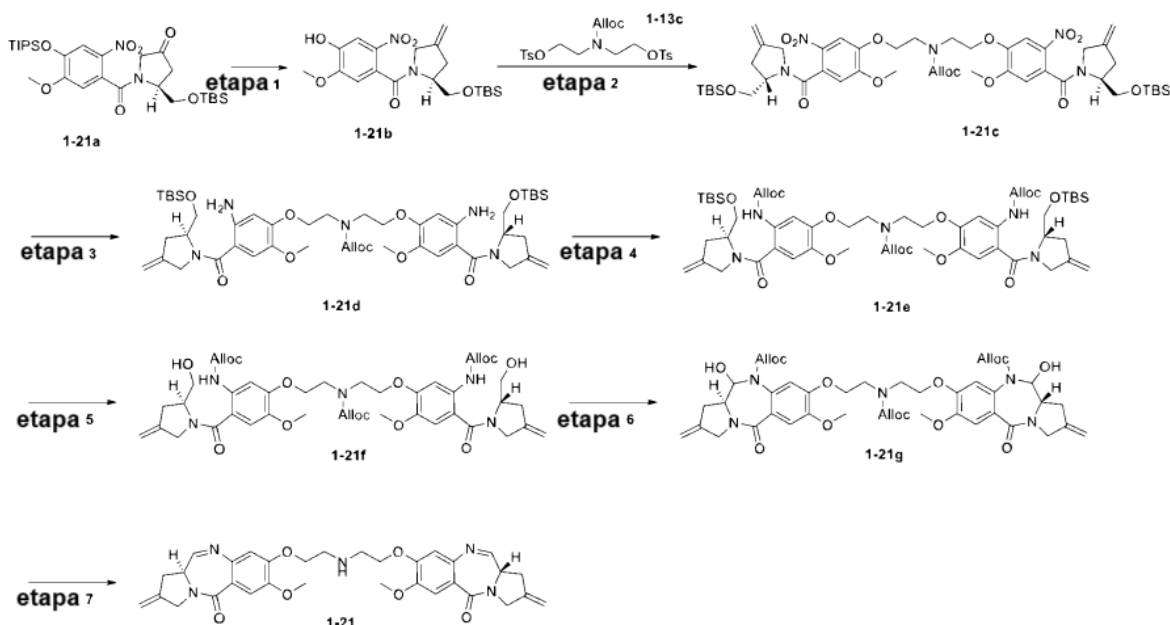
[0464] MS (ESI) m/z: 287,1 [M+H]⁺.

[0465] Paso 4: (S)-2-metoxi-3-((5-(((S)-2-metoxi-12-oxo-6a,9,10,12-tetrahidro-7H-espiro[benzo[e]pirido[1,2-a][1,4]diazepina-8,1'-ciclopropan]-3-il)oxi)pentil)oxi)-7,12-dihidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolin-14(6aH)-ona (**1-20**)

15 [0466] A una solución de **1-20c** (25 mg, 0,087 mmol) y **1-1c** (48,4 mg, 0,096 mmol) en DMF (0,5 mL) K₂ se añadió CO₃ (14,5 mg, 0,1 mmol). La reacción se agitó a r.t. durante 3 h. La reacción luego se inactivó con H₂O (15 mL) y se extrajo con EtOAc (10 mL*3). La capa orgánica se lavó con salmuera (5 mL), se secó en Na₂SO₄, se filtró y concentró para dar el producto bruto, que se purificó mediante HPLC preparativa (método: columna: XBridge Prep
20 C18 OBD 5 µm 19*150 mm; fase móvil: A-agua (ácido fórmico al 0,01%): B-acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 mL/min) para dar **1-20** (8,9 mg, rendimiento del 15,6%) como un sólido blanco.

[0467] MS (ESI) m/z: 663,7 [M+H]⁺.

Ejemplo 1-21



[0468] Paso 1: (S)-2-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-metilenpirrolidin-1-il)(4-hidroxi-5-metoxi-2-nitrofenil)metanona (**1-21b**)

[0469] A una mezcla de MePh_3PBr (24,6 g, 68,86 mmol) en THF (100 mL) se le añadió
 5 t-BuOK (6,95 g, 61,98 mmol) a 0 °C bajo N_2 . La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, luego se añadió gota a gota una solución de **1-21a** (4 g, 6,89 mmol) en THF (30 mL) a la mezcla y se agitó a 0 °C durante 16 h. La mezcla se neutralizó con ácido cítrico y se extrajo con EtOAc (100 mL*3). La fase orgánica se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró para dar el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:
 10 hexano/EtOAc = 100/0 a 25/75) para dar **1-21b** (1,1 g, rendimiento del 37,8%) como un sólido amarillo.

[0470] MS (ESI) m/z: 423,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0471] Paso 2: Alilbis(2-(4-(((S)-2-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-metilenpirrolidin-1-carbonil)-2-metoxi-5-nitrofenoxi)etil)carbamato (**1-21c**)

15 [0472] A una solución de **1-13c** (100 mg, 0,2 mmol) y **1-21b** (186,83 mg, 0,44 mmol) en DMSO (3 mL) se añadió K_2CO_3 (55,5 mg, 0,4 mmol). La mezcla se agitó a 50 °C durante 16 h. La reacción luego se inactivó con H_2O y se extrajo con EtOAc (30 mL). La fase orgánica se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró para dar el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a 0/100) para

dar **1-21c** (108 mg, rendimiento del 53,83%) como un sólido amarillo.

[0473] MS (ESI) m/z: 998,5 [M+H]⁺.

[0474] Paso 3: Alilbis(2-(5-amino-4-((S)-2-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-metilenopirrolidina-1-carbonil)-2-metoxifenoxi)etil)carbamato (**1-21d**)

5 [0475] Una mezcla de polvo de Zn (28,24 mg, 4,08 mmol) en EtOH (3 mL), AcOH (0,2 mL) y H₂O (0,2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 10 min, luego se agregó una solución de **1-21c** (108 mg, 0,11 mmol) en EtOH (2 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró para obtener el producto bruto, que se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyente: CH₂Cl₂/MeOH = 20/1) para obtener **1-21d** (73 mg, rendimiento del 72,2 %) como un aceite amarillo.

[0476] MS (ESI) m/z: 938,6 [M+H]⁺.

[0477] Paso 4: Alilbis(2-(5-(((aliloxi)carbonil)amino)-4-((S)-2-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-metilenopirrolidina-1-carbonil)-2-metoxifenoxi)etil)carbamato (**1-21e**)

15 [0478] A una solución de **1-21d** (73 mg, 0,077 mmol) en CH₂Cl₂ seco (2 mL) se añadió Alloc-Cl (53 µL, 0,49 mmol) y piridina (24,73 µL, 0,311 mmol) en atmósfera de N₂ a -10 °C. La mezcla se agitó a -10 °C durante 1 h. La solución se añadió a agua (10 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (5 mL * 3). La fase orgánica se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró para dar el productobruto, que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (eluyente: éter de petróleo/EtOAc = 1/3) para dar **1-21e** (75 mg, rendimiento del 87,13%) como un sólido blanquecino.

[0479] MS (ESI) m/z: 1106,6 [M+H]⁺.

[0480] Paso 5: alilbis(2-(5-(((aliloxi)carbonil)amino)-4-((S)-2-(hidroximetil)-4-metilenopirrolidina-1-carbonil)-2-metoxifenoxi)etil)carbamato (**1-21f**)

25 [0481] Se añadió hidrato de ácido para-toluenosulfónico (25,79 mg, 0,13 mmol) a una solución de **1-21e** (75 mg, 0,067 mmol) en THF (2 mL) y agua (0,1 mL). La mezcla de reacción se agitó a r.t. durante 1 h. La mezcla se concentró directamente y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (eluyente: CH₂Cl₂/MeOH = 20/1) para dar **1-21f** (52 mg, rendimiento del 87,38 %) como un sólido amarillo.

30 [0482] MS (ESI) m/z: 878,4 [M+H]⁺.

[0483] Paso 6: dialil8,8'-((((aliloxi)carbonil)azanediil)bis(etano-2,1-diil))bis(oxi))(11aS,11a'S)-bis(11-hidroxi-7-metoxi-2-metilen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahidro-

1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-10(5H)-carboxilato)1H,3H-

espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato (**1-21 g**)

[0484] Se añadió DMP (55,27 mg, 0,13 mmol) a 0 °C a una solución de **1-21f** (52 mg, 0,059 mmol) en CH₂Cl₂ (2 mL). Luego, la reacción se calentó hasta r.t. y se agitó durante 4 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se inactivó con solución acuosa saturada de tiosulfato de sodio (5 mL), seguido de una adición lenta de NaHCO₃ ac. sat. (5 mL) y H₂O (10 mL). La mezcla se extrajo con diclorometano (5 mL*3), y la capa orgánica se lavó con salmuera (5 mL), se secó en Na₂SO₄, se filtró y concentró para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (eluyente: CH₂Cl₂/MeOH = 20/1) para dar **1-21g** (32 mg, rendimiento del 61,82%) como un sólido blanco.

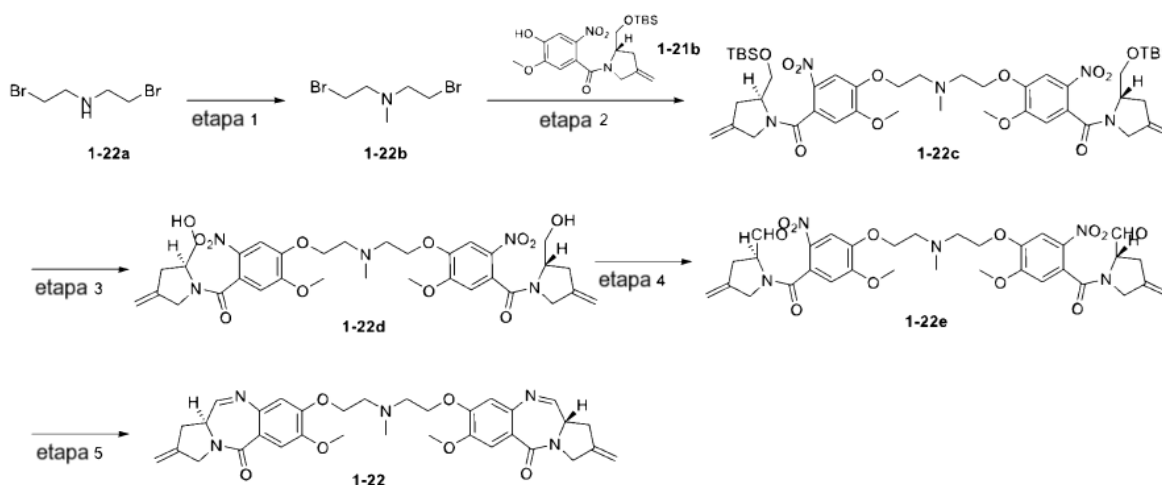
[0485] MS (ESI) m/z: 874,4 [M+H]⁺.

[0486] Paso 7: (11aS,11a'S)-8,8'-((azanediilbis(etano-2,1-diil))bis(oxi))bis(7-metoxi-2-metilen-1,2,3,11a-tetrahidro-5H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5-ona) (**1-21**)

[0487] A una solución de **1-21g** (32 mg, 0,036 mmol) en CH₂Cl₂ (2 mL) se añadió Pd(PPh₃)₄ (2,12 mg, 0,0018 mmol) y pirrolidina (6 µL, 0,073 mmol) y se agitó a r.t. durante 15 min en N₂. La reacción se neutralizó con AcOH y se concentró para dar el producto bruto, que se purificó mediante HPLC preparativa (columna: XBridge Prep C18 OBD 5 µm 19*150 mm); fase móvil: A-agua (ácido fórmico al 0,01%): B-acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 mL/min) para dar **1-21** (9,7 mg, rendimiento del 45,23%) como un sólido blanco.

[0488] MS (ESI) m/z: 586,3 [M+H]⁺.

Ejemplo 1-22



[0489] Paso 1: 2-bromo-N-(2-bromoetil)-N-metiletan-1-amina (**1-22b**)

[0490] A una solución de formaldehído al 37% (0,66 mL) y ácido fórmico al 98% (0,26 mL) se añadió **1-22a** (1,0 g) y la solución se calentó a reflujo durante 2 h. La mezcla se concentró al vacío para obtener un aceite incoloro, que se cristalizó con MeOH para obtener

5 **1-22b** (700 mg, rendimiento del 65 %) como un sólido blanco.

[0491] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,66 (s, 1H), 3,79-3,72 (m, 4H), 3,65-3,58 (m, 4H), 2,85 (s, 3H).

[0492] Paso 2: (((((metilazanediiil)bis(etano-2,1-diil))bis(oxi))bis(5-metoxi-2-nitro-4,1-fenileno))bis(((S)-2-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-metilenpirrolidin-1-il)metanona) (**1-**

10 **22c**)

[0493] A una solución de **1-22b** (100 mg, 0,408 mmol) y **1-21b** (379,50 mg, 0,898 mmol) en DMSO (3 mL) se añadió K₂CO₃ (112,84 mg, 0,816 mmol). La mezcla se agitó a 50 °C durante 16 h. La reacción luego se inactivó con H₂O y se extrajo con EtOAc (30 mL). La fase orgánica se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró para dar el producto bruto, que se purificó

15 por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/EtOAc = 100/0 a 0/100) para dar **1-22c** (200 mg, rendimiento del 52,78%) como un sólido amarillo.

[0494] MS (ESI) m/z: 928,6 [M+H]⁺.

[0495] Paso 3: (((((metilazanediiil)bis(etano-2,1-diil))bis(oxi))bis(5-metoxi-2-nitro-4,1-fenileno))bis(((S)-2-(hidroximetil)-4-metilenopirrolidin-1-il)metanona) (**1-22d**)

[0496] Se añadió hidrato de ácido para-toluenosulfónico (90,16 mg, 0,474 mmol) a una solución de **1-22c** (200 mg, 0,215 mmol) en THF (2 mL) y agua (0,1 mL). La mezcla de reacción se dejó agitar a r.t durante 2 h. La mezcla se concentró y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (eluyente: CH₂Cl₂/MeOH = 20/1) para proporcionar **1-22d** (110 mg, rendimiento del 72,96%) como un sólido blanco.

[0497] MS (ESI) m/z: 700,4 [M+H]⁺.

[0498] Paso 4: (2S,2'S)-1,1'-(4,4'-(((metilazanediiil)bis(etano-2,1-diil))bis(oxi))bis(5-metoxi-2-nitrobenzoi))bis(4-metilenpirrolidina-2-carbaldehído) (**1-22e**)

[0499] Se añadió DMP (146,69 mg, 0,345 mmol) a una solución de **1-22d** (110 mg, 0,157 mmol) en diclorometano (2 mL), THF (2 mL) y DMF (1 mL) a 0 °C. A continuación, la reacción

30 se calentó hasta r.t. y se agitó a r.t. durante 4 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró directamente para obtener el producto bruto, que se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyente: CH₂Cl₂/MeOH = 20/1) para dar **1-22e** (60 mg, rendimiento del

55,83 %) como un sólido amarillo.

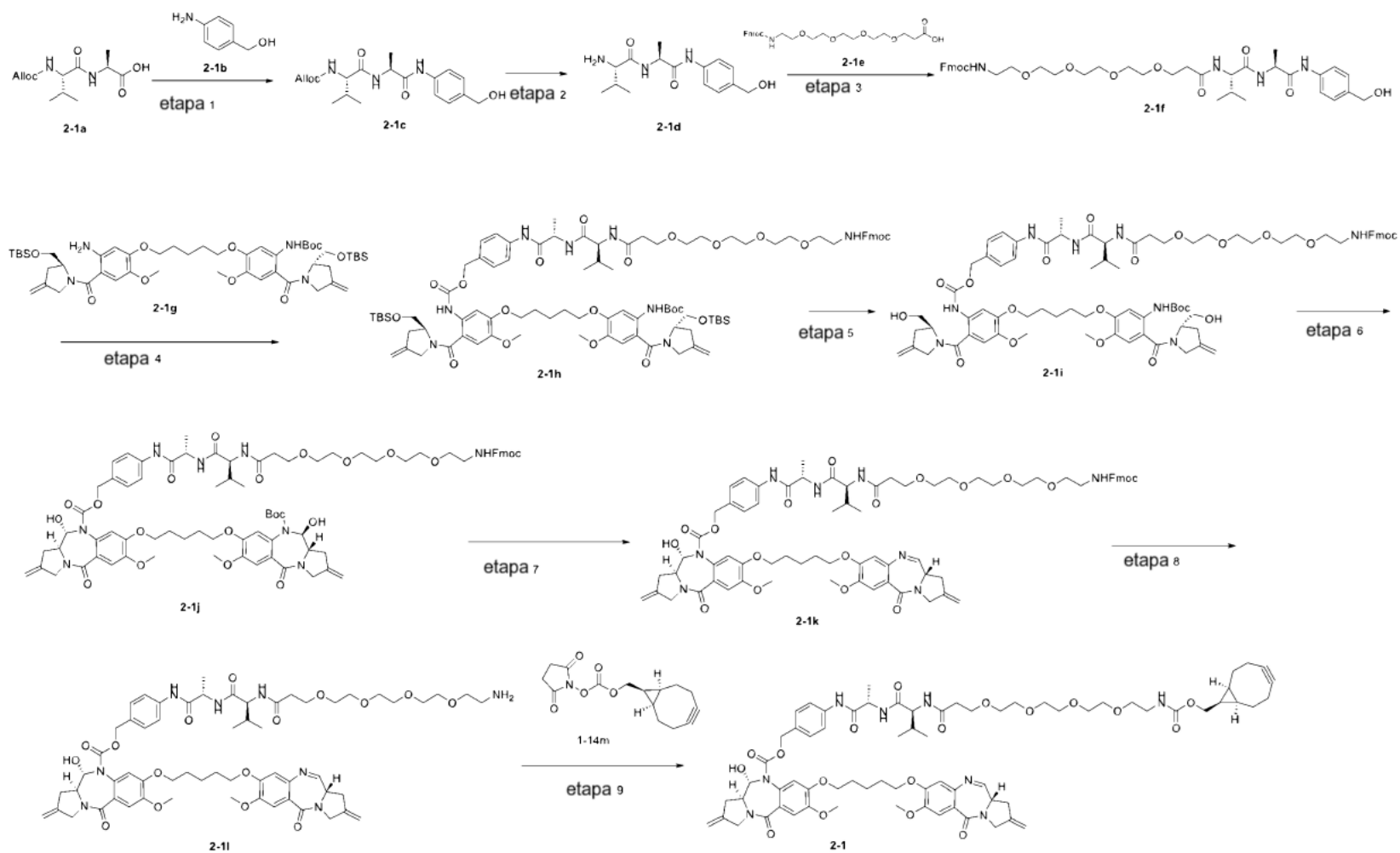
[0500] MS (ESI) m/z: 696,3 [M+H]⁺.

[0501] Paso 5: (11aS,11a'S)-8,8'-(((metilazanodiil)bis(etano-2,1-diil))bis(oxi))bis(7-metoxi-2-metilen-1,2,3,11a-tetrahidro-5H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5-ona) (**1-22**)

5 [0502] A una solución de **1-22e** (60 mg, 0,086 mmol) en THF (0,896 mL), metanol (4,48 mL) y agua (0,896 mL) se añadió NH₄Cl (92,26 mg, 1,72 mmol), seguido de polvo de hierro (48,16 mg, 0,862 mmol). Luego la mezcla se calentó a 50 °C en N₂ durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta r.t. y se filtró a través de celite. El filtrado se concentró directamente para dar el producto bruto, que se purificó mediante HPLC preparativa
10 (columna: XBridge Prep C18 OBD 5 µm 19*150 mm; método: fase móvil: A-agua (ácido fórmico al 0,01%): B-acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 mL/min) para dar **1-22** (4,8 mg, rendimiento del 9,28%) como un sólido blanco.

[0503] MS (ESI) m/z: 600,3 [M+H]⁺.

[0504] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,68 (d, J = 4,4 Hz, 2H), 7,49 (s, 2H), 6,83 (s, 2H),
15 5,19 (d, J = 11,2 Hz, 4H), 4,38 – 4,17 (m, 8H), 3,91 (s, 6H), 3,89 – 3,84 (m, 2H), 3,12 – 3,08 (m, 6H), 2,97-2,93 (m, 2H), 2,56 (s, 3H).

Ejemplo 2-1

[0505] Paso 1: ((S)-1-(((S)-1-((4-(hidroximetil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)carbamato de alilo (**2-1c**)

[0506] Se añadió EEDQ (2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina, 4,77 g, 19,3 mmol) a una solución de **2-1a** (5 g, 18,4 mmol) y **2-1b** (2,37 g, 19,3 mmol) en 100 mL de THF seco.

5 Se agitó la mezcla a t.a. durante 40 horas. Una vez completada la reacción, según lo determinado por LCMS/TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 20:1$), la mezcla se concentró. El residuo se suspendió con MTBE (30 V) y se agitó durante 2 h. El sólido se aisló por filtración al vacío durante 3 h para obtener **2-1c** (5,16 g, rendimiento del 74%). MS (ESI) m/z : 378,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0507] ^1H NMR (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 9,90 (s, 1H), 8,14 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,25 (t, $J = 9,0$ Hz, 3H), 5,91 (ddd, $J = 22,3, 10,5, 5,3$ Hz, 1H), 5,30 (dd, $J = 17,2, 1,5$ Hz, 1H), 5,17 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H), 5,10 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,52 – 4,45 (m, 2H), 4,43 (d, $J = 5,6$ Hz, 3H), 3,89 (dd, $J = 8,5, 7,1$ Hz, 1H), 1,98 (dq, $J = 13,5, 6,7$ Hz, 1H), 1,28 (t, $J = 11,8$ Hz, 3H), 0,88 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 0,84 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H).

[0508] Paso 2: (S)-2-amino-N-((S)-1-((4-(hidroximetil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metilbutanamida (**2-1d**)

[0509] Se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (76,6 mg, 0,066 mmol) a una solución de **2-1c** (500 mg, 1,33 mmol) en CH_2Cl_2 (10 mL) y pirrolidina (270,8 μL , 3,31 mmol) a temperatura ambiente bajo N_2 . La mezcla de reacción se dejó agitar durante 0,5 h a r.t. La reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 90:10$) para dar el producto **2-1d** (370 mg, rendimiento del 95%) como un sólido blanco.

[0510] MS (ESI) m/z : 294,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0511] ^1H NMR (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 9,99 (s, 1H), 8,20 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,24 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 5,10 (s, 1H), 4,53 – 4,45 (m, 1H), 4,43 (s, 2H), 3,05 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H), 1,93 (dd, $J = 12,0, 6,8$ Hz, 1H), 1,30 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 0,89 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,80 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

[0512] Paso 3: (9H-fluoren-9-il)metilo ((17S,20S)-21-((4-(hidroximetil)fenil)amino)-17-isopropil-20-metil-15,18,21-trioxo-3,6,9,12-tetraoxa-16,19-diazahenicosil)carbamato (**2-1f**)

[0513] Se añadió DIPEA (326 mg, 2,52 mmol) a una solución de **2-1e** (370 mg, 1,26 mmol) y HATU (575,8 mg, 1,51 mmol) en 4 mL de DMF seco. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. A continuación, se añadió una solución de **2-1d** (645 mg, 1,33 mmol) en DMF. La reacción se agitó durante 1 h. Una vez completada la reacción, según lo determinado por LCMS/TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 20:1$), la mezcla se concentró y se

purificó por cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 95:5$) para dar el producto **2-1e** (680 mg, rendimiento del 71 %) como un sólido marrón claro. MS (ESI) m/z : 763,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0514] Paso 4: (5-((5-(5-(((4-((21S,24S)-1-(9H-fluoren-9-il)-21-isopropil-24-metil-
3,19,22-trioxa-2,7,10,13,16-pentaoxa-4,20,23-triazapentacosan-25-
amido)bencil)oxi)carbonil)amino)-4-((S)-2-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-
metilenpirrolidina-1-carbonil)-2-metoxifenoxi)pentil)oxi)-2-((S)-2-(((terc-
butildimetilsilil)oxi)metil)-4-metilenpirrolidina-1-carbonil)-4-metoxifenil)carbamato de terc-
butilo (**2-1h**)

[0515] A una solución de **2-1 g** (200 mg, 0,121 mmol) y 200 mg de 4Å MS en THF (2,5 mL) se añadió trifosgeno (24,9 mg, 0,084 mmol) y, a continuación, se añadió TEA (64 µL, 0,462 mmol) a 0 °C bajo N_2 . La mezcla se agitó a 0 °C durante 10 min en N_2 . La formación del isocianato se controló mediante análisis LCMS mediante inactivación con metanol. Se añadió a la mezcla una solución de **2-1f** (176 mg, 0,231 mmol), dilaurato de dibutilestaño (13,3 mg, 0,021 mmol), TEA (43,7 µL, 0,315 mmol) en THF (2,5 mL). Se agitó la mezcla durante 3 h a r.t. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 96/4$) para dar el producto **2-1h** (302 mg, rendimiento del 83%) como un sólido blanco. MS (ESI) m/z : 1472,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0516] Paso 5: (5-((5-(5-(((4-((21S,24S)-1-(9H-fluoren-9-il)-21-isopropil-24-metil-
3,19,22-trioxa-2,7,10,13,16-pentaoxa-4,20,23-triazapentacosan-25-
amido)bencil)oxi)carbonil)amino)-4-((S)-2-(hidroximetil)-4-metilenopirrolidina-1-carbonil)-2-
metoxifenoxi)pentil)oxi)-2-((S)-2-(hidroximetil)-4-metilenopirrolidina-1-carbonil)-4-
metoxifenil)carbamato de terc-butilo (**2-1i**)

[0517] Se añadió hidrato de ácido para-toluenosulfónico (40 mg, 0,21 mmol) a una solución de **2-1h** (304 mg, 0,17 mmol) en THF (3 mL) y agua (0,15 mL). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 4 h a 22 °C. Una vez completada la reacción, según lo determinado por TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 20:1$), la mezcla se diluyó con EtOAc (20 mL), se lavó con agua, NaHCO_3 sat. y salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 95:5$) para dar el producto **2-1i** (213 mg, rendimiento del 81 %). MS (ESI) m/z : 1514,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0518] Paso 6: (11S,11aS)-8-((5-(((11S,11aS)-10-(terc-butoxicarbonil)-11-hidroxi-7-metoxi-2-metilen-5-oxo-2,3,5,10,11,11a-hexahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-

8-il)oxi)pentil)oxi)-11-hidroxi-7-metoxi-2-metilen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-10(5H)-carboxilato de 4-((21S,24S)-1-(9H-fluoren-9-il)-21-isopropil-24-metil-3,19,22-trioxo-2,7,10,13,16-pentaoxa-4,20,23-triazapentacosan-25-amido)bencilo (**2-1j**)

5 [0519] Se añadió lentamente, en porciones, DMP (58,9 mg, 0,139 mmol) a una solución de **2-1i** (100 mg) en CH₂Cl₂ seco (2 mL) a 0 °C. Luego, la reacción se calentó hasta r.t. y se agitó durante la noche. La reacción se inactivó con Na₂S₂O₃, seguido de la adición de NaHCO₃ sat. y agua. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con Na₂S₂O₃ sat., NaHCO₃ sat. y salmuera, se secó en Na₂SO₄. El producto bruto se purificó mediante
10 cromatografía en columna de gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH = 95/5) para dar el producto **2-1j** (80 mg, rendimiento del 80 %). MS (ESI) m/z: 1510,3 [M+H]⁺.

[0520] Paso 7: (11S,11aS)-11-hidroxi-7-metoxi-8-((5-(((S)-7-metoxi-2-metileno-5-oxo-2,3,5,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metileno-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-10(5H)-carboxilato de 4-
15 ((21S,24S)-1-(9H-fluoren-9-il)-21-isopropil-24-metil-3,19,22-trioxo-2,7,10,13,16-pentaoxa-4,20,23-triazapentacosan-25-amido)bencilo(**2-1k**)

[0521] Se enfrió **2-1j** (60 mg, 0,040 mmol) a -3 °C. Por separado, se enfrió una solución de TFA al 95 % en H₂O (1,5 mL) a -3 °C antes de agregarla al **2-1j**. La mezcla de reacción se agitó a -3 °C durante 40 min antes de verterla en una solución 1:1 de CHCl₃/NaHCO₃ (40
20 mL) a 0 °C. La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y el disolvente se eliminó al vacío. El material bruto **2-1k** se utilizó directamente en el paso siguiente.

[0522] MS (ESI) m/z: 1392,6 [M+H]⁺.

[0523] Paso 8: (11S,11As)-11-hidroxi-7-metoxi-8-((5-(((S)-7-metoxi-2-metileno-5-oxo-2,3,5,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metileno-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-10(5H)-carboxilato de 4-
25 ((17S,20S)-1-amino-17-isopropil-20-metil-15,18-dioxo-3,6,9,12-tetraoxa-16,19-diazahenicosan-21-amido)bencilo (**2-1l**)

[0524] A una solución de **2-1k** bruto en 0,5 mL de DMF se añadió Et₂NH (61 µL, 0,593 mmol). Se agitó la mezcla a r.t. durante 0,5 h. Una vez completada la reacción, la mezcla
30 se purificó por HPLC preparativa (0,1 % FA en H₂O) para dar el producto **2-1 l** (14,3 mg, rendimiento del 31 %, dos pasos).

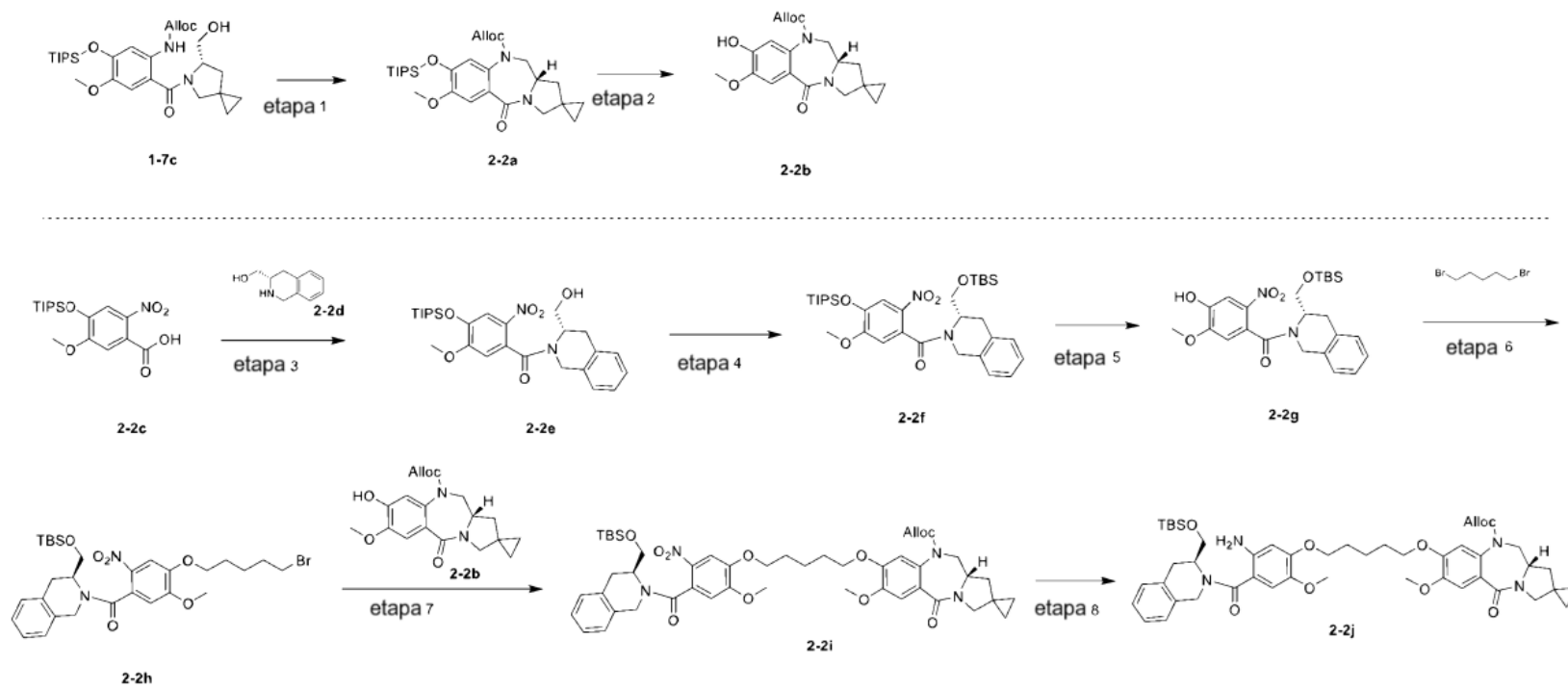
[0525] MS (ESI) m/z: 1170,3 [M+H]⁺.

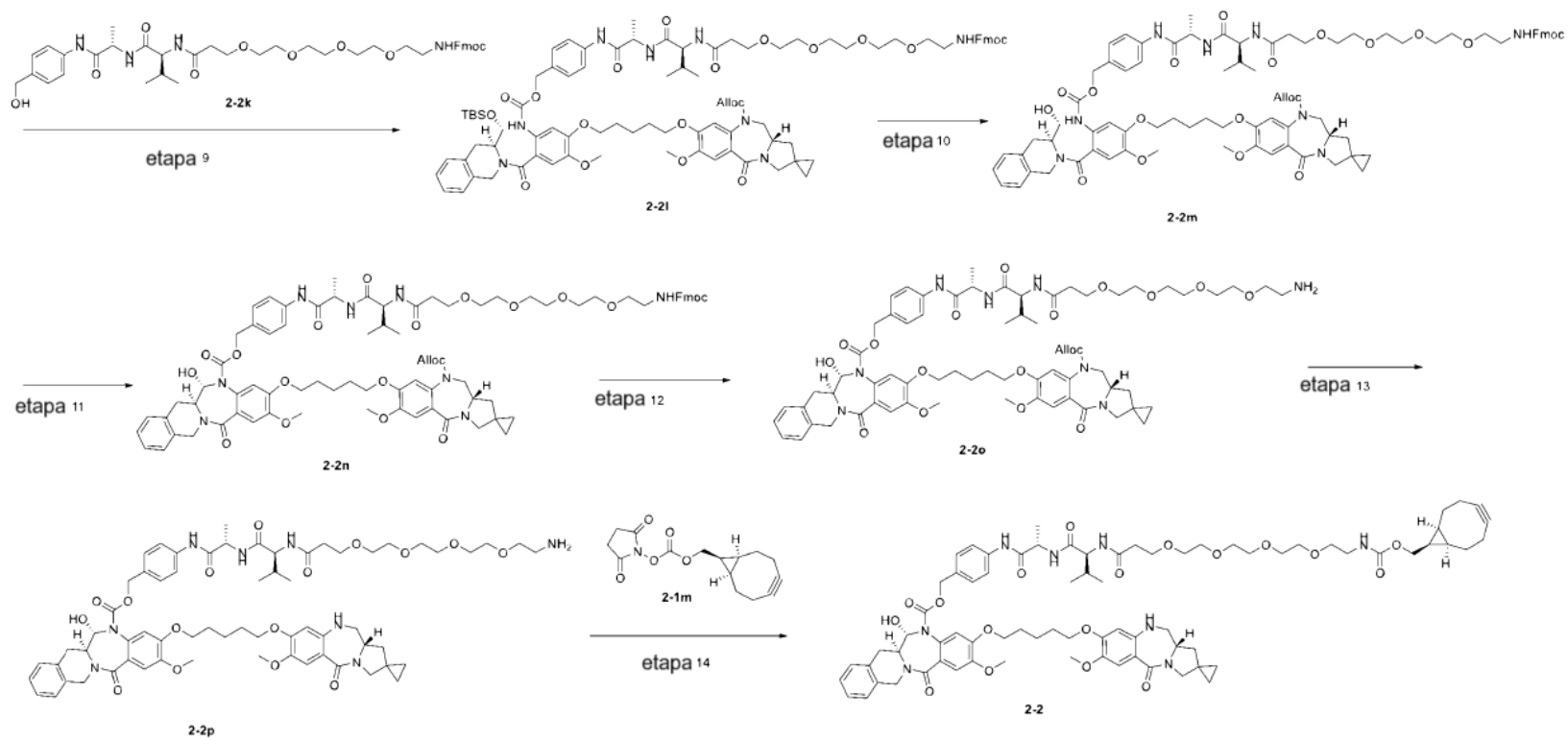
[0526] Paso 9: (11S,11As)-11-hidroxi-7-metoxi-8-((5-(((S)-7-metoxi-2-metileno-5-oxo-2,3,5,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metileno-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-10(5H)-carboxilato de 4-((21S,24S)-1-((1R,8S,9s)-biciclo[6.1.0]non-4-in-9-il)-21-isopropil-24-metil-3,19,22-trioxo-2,7,10,13,16-pentaoxa-4,20,23-triazapentacosan-25-amido)bencilo (**2-1**)

[0527] Se añadió DIPEA (8,6 µL, 0,05 mmol) a una solución de **2-1** (14,5 mg, 0,012 mmol) y **2-1m** (10,8 mg, 0,037 mmol) en 1 mL de DMF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Se purificó mediante HPLC preparativa (sin aditivo en la fase móvil) para obtener el producto **2-1** (7,7 mg, rendimiento del 46 %) como un sólido gris claro.

[0528] MS (ESI) m/z: 1346,4 [M+H]⁺.

[0529] Después de la escisión del enlazador, la carga útil liberada de enlazador-carga útil 2-1 sufre una reacción de deshidratación y forma un compuesto, SG-2057, que tiene una potencia similar a la carga útil Ref-1-1 (también conocida como SG-3199).

Ejemplo 2-2



[0530] Paso 1: (S)-7-metoxi-5-oxo-8-((triisopropilsilil)oxi)-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**2-2a**)

[0531] Se añadió DIAD (1,14 mL, 5,75 mmol) a una solución de **1-7c** (1,53 g, 2,87 mmol) y PPh₃ (2,26 g, 8,62 mmol) en THF (30 mL). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 1 h a 40 °C en N₂. Después de finalizada la reacción mediante TLC (éter de petróleo/EtOAc = 1:2), el disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el producto (éter de petróleo/EtOAc = 40:60) **2-2a** (940 mg, rendimiento del 64%). MS (ESI) m/z: 515,5 [M+H]⁺.

[0532] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,19 (s, 1H), 6,70 (s, 1H), 5,84-5,68 (m, 1H), 5,12 (t, J = 12,7 Hz, 2H), 4,58 (dd, J = 12,9, 5,3 Hz, 1H), 4,45 (t, J = 12,5 Hz, 2H), 3,89-3,86 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,74 (d, J = 11,8 Hz, 1H), 3,48 (dd, J = 12,2, 4,2 Hz, 1H), 3,37 (d, J = 11,8 Hz, 1H), 2,37 (dd, J = 12,8, 8,4 Hz, 1H), 1,42 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 1,25 (ddd, J = 19,0, 9,0, 4,5 Hz, 3H), 1,08 (dd, J = 7,3, 3,7 Hz, 18H), 0,86-0,57 (m, 4H).

[0533] Paso 2: (S)-8-hidroxi-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**2-2b**)

[0534] Se añadió acetato de litio (121 mg, 1,83 mmol) a una solución de **2-2a** (940 mg, 1,83 mmol) en DMF húmedo (15 mL 49/1 DMF/agua). Se dejó que la reacción continuara durante 2 horas a 25 °C. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O y salmuera dos veces. La fase orgánica se secó en Na₂SO₄, se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar el producto **2-2b** (605 mg, rendimiento del 92%). MS (ESI) m/z: 359,4 [M+H]⁺.

[0535] Paso 3: (S)-(3-(hidroximetil)-3,4-dihidroisoquinolin-2(1H)-il)(5-metoxi-2-nitro-4-((triisopropilsilil)oxi)fenil)metanona (**2-2e**)

[0536] Se añadió EDCI (935 mg, 4,88 mmol) a una solución de **2-2c** (1,5 g, 4,06 mmol) y 1-óxido de 2-piridinol (HOPO, 497 mg, 4,47 mmol) en CH₂Cl₂ (15 mL) a 0 °C. Se dejó que la reacción continuara durante 1 h a 15 °C, momento en el que se añadió una solución de **2-2d** (729 mg, 4,47 mmol) y trietilamina (0,71 mL, 5,08 mmol) en CH₂Cl₂ (15 mL) a -10 °C. La mezcla de reacción se dejó agitar a r.t durante 3 h. La mezcla de reacción se lavó con agua (~30 mL), seguido de HCl acuoso frío (0,5 M) hasta que el pH se ajustó a 4-5. Luego, la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (~30 mL) y luego con agua (~30 mL).

Los disolventes se eliminaron al vacío para obtener un producto bruto que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para obtener el producto **2-2e** (1,34 g, rendimiento del 57%). MS (ESI) m/z: 515,4 [M+H]⁺.

[0537] Paso 4: (S)-(3-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-3,4-dihidroisoquinolin-2(1H)-il)(5-metoxi-2-nitro-4-((triisopropilsilil)oxi)fenil)metanona (**2-2f**)

[0538] Se añadió imidazol (355 mg, 5,21 mmol) a una solución de **2-2e** (1,34 g, 2,61 mmol) en 25 mL de CH₂Cl₂. Luego se añadió TBSCI (589 mg, 3,91 mmol) a la mezcla a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a r.t. durante la noche. La reacción se filtró y el filtrado se concentró. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar el producto **2-2f** (1,38 g, rendimiento del 84 %). MS (ESI) m/z: 629,5 [M+H]⁺.

[0539] Paso 5: (S)-(3-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-3,4-dihidroisoquinolin-2(1H)-il)(4-hidroxi-5-metoxi-2-nitrofenil)metanona (**2-2g**)

[0540] Se añadió acetato de litio (145 mg, 2,2 mmol) a una solución de **2-2f** (1,38 g, 2,2 mmol) en DMF húmedo (15 mL 49/1 DMF/agua). Se dejó que la reacción continuara durante 2 horas a 25 °C. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O y salmuera dos veces. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar el producto **2-2g** (930 mg, rendimiento del 90%). MS (ESI) m/z: 473,3 [M+H]⁺.

[0541] Paso 6: (S)-(4-((5-bromopentil)oxi)-5-metoxi-2-nitrofenil)(3-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-3,4-dihidroisoquinolin-2(1H)-il)metanona (**2-2h**)

[0542] A una solución de **2-2g** (930 mg, 1,97 mmol) y 1,5-dibromopentano (4,0 mL, 29,5 mmol) en 18 mL de DMF se añadió K₂CO₃ (330 mg, 2,36 mmol) a r.t. Se agitó la mezcla a r.t. durante 2 h. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O y salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc=75/25) para dar el producto **2-2h** (818 mg, rendimiento del 67%). MS (ESI) m/z: 621,4 [M+H]⁺.

[0543] Paso 7: (S)-8-((5-(4-((S)-3-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-2-carbonil)-2-metoxi-5-nitrofenoxi)pentil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**2-2i**)

[0544] Se añadió **2-2b** (450 mg, 1,26 mmol) y K₂CO₃ (226 mg, 1,63 mmol) a una solución de **2-2h** (818 mg, 1,32 mmol) en DMF (1 mL). Se agitó la mezcla a t.a. durante 24 horas. El

producto (éter de petróleo/EtOAc = 1:2) se detectó por LCMS. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc= 33:67) para dar el producto **2-2i** (930 mg, rendimiento del 82%). MS (ESI) m/z: 899,6 [M+H]⁺.

5 [0545] Paso 8: (S)-8-((5-(5-amino-4-((S)-3-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-2-carbonil)-2-metoxifenoxi)pentil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**2-2j**)

[0546] Se añadió polvo de zinc (2,65 g, 38,3 mmol) a una mezcla de etanol (10 mL), agua
10 (0,625 mL) y AcOH (0,625 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 5 °C durante 30 min. Se añadió gota a gota una solución de **2-2i** (930 mg, 1,04 mmol) en etanol (6 mL) a 5 °C. La reacción se dejó transcurrir a 5 °C durante 50 min. Los sólidos se eliminaron por filtración. El filtrado se diluyó con EtOAc y se lavó con agua, solución acuosa saturada de NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se filtró, el solvente
15 se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para obtener el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 33:67) para dar el producto **2-2j** (806 mg, rendimiento del 90 %) como un sólido amarillo. MS (ESI) m/z: 868,7 [M+H]⁺.

[0547] Paso 9: (S)-8-((5-(5-(((4-((21S,24S)-1-(9H-fluoren-9-il)-21-isopropil-24-metil-
20 3,19,22-trioxo-2,7,10,13,16-pentaoxa-4,20,23-triazapentacosan-25-amido)bencil)oxi)carbonil)amino)-4-((S)-3-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-2-carbonil)-2-metoxifenoxi)pentil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**2-2l**)

25 [0548] **2-2l** se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Paso 4 del Ejemplo **2-1** para obtener un sólido blanco (260 mg, rendimiento del 91%). MS (ESI) m/z: 1658,4 [M+H]⁺.

[0549] Paso 10: (S)-8-((5-(5-(((4-((21S,24S)-1-(9H-fluoren-9-il)-21-isopropil-24-metil-
3,19,22-trioxo-2,7,10,13,16-pentaoxa-4,20,23-triazapentacosan-25-
30 amido)bencil)oxi)carbonil)amino)-4-((S)-3-(hidroximetil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-2-carbonil)-2-metoxifenoxi)pentil)oxi)-7-metoxi-5-oxo-11,11a-dihidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropano]-10(5H)-carboxilato de alilo (**2-**

2m)

[0550] Se añadió hidrato de ácido para-toluenosulfónico (29,8 mg, 0,16 mmol) a una solución de **2-2l** (260 mg, 0,16 mmol) en THF (6 mL) y agua (0,3 mL). La mezcla de reacción se dejó agitar durante la noche a 22 °C. La mezcla se diluyó con EtOAc (20 mL), se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar el producto **2-2m** (172 mg, rendimiento del 71%). MS (ESI) m/z: 1544,3 [M+H]⁺.

[0551] Paso 11: (6S,6As)-3-((5-(((S)-10-((aliloxi)carbonil)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-yl)oxi)pentil)oxi)-6-hidroxi-2-metoxi-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de 4-((21S,24S)-1-(9H-fluoren-9-il)-21-isopropil-24-metil-3,19,22-trioxo-2,7,10,13,16-pentaoxa-4,20,23-triazapentacosan-25-amido)bencilo (**2-2n**)

[0552] Se añadió lentamente, en porciones, DMP (52 mg, 0,123 mmol) a una solución de **2-2m** (172 mg) en CH₂Cl₂ seco (2,5 mL) a 0 °C. Luego, la reacción se calentó hasta r.t. y se agitó durante 9 h. Después de 9 h, la reacción se inactivó con Na₂S₂O₃, seguido de la adición de NaHCO₃ sat. y agua. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con Na₂S₂O₃ sat., NaHCO₃ sat. y salmuera, se secó en Na₂SO₄. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH = 95/5) para dar el producto **2-2n** (130 mg, rendimiento del 76 %). MS (ESI) m/z: 1542,1 [M+H]⁺.

[0553] Paso 12: (6S,6As)-3-((5-(((S)-10-((aliloxi)carbonil)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-yl)oxi)pentil)oxi)-6-hidroxi-2-metoxi-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de 4-((17S,20S)-1-amino-17-isopropil-20-metil-15,18-dioxo-3,6,9,12-tetraoxa-16,19-diazahenicosan-21-amido)bencilo (**2-2o**)

[0554] A una solución de **2-2n** (50 mg, 0,04 mmol) en DMF (2 mL) se añadió Et₂NH (38 µL, 0,37 mmol). Se agitó la mezcla a r.t. durante 1 h. Una vez finalizada la reacción, la mezcla se concentró para dar el producto bruto **2-2o** que se usó directamente para el siguiente paso. MS (ESI) m/z: 1320,2 [M+H]⁺.

[0555] Paso 13: (6S,6aS)-6-hidroxi-2-metoxi-3-((5-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-

il)oxi)pentil)oxi)-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de 4-((17S,20S)-1-amino-17-isopropil-20-metil-15,18-dioxo-3,6,9,12-tetraoxa-16,19-diazahenicosan-21-amido)bencilo (**2-2p**)

[0556] Se añadió Pd(PPh₃)₄ (2,15 mg, 0,002 mmol) a una solución de **2-2o** bruto en THF/MeOH (2 mL/0,2 mL) y dimedona (10,42 mg, 0,074 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se dejó agitar durante 1 h a r.t. La reacción se concentró. El residuo se purificó por HPLC preparativa (0,1 % FA en H₂O) para dar el producto **2-2p** (16 mg, rendimiento del 61 %) como un sólido blanco. MS (ESI) m/z: 1236,1 [M+H]⁺.

[0557] Paso 14: (6S,6As)-6-hidroxi-2-metoxi-3-(((S)-7-metoxi-5-oxo-5,10,11,11a-tetrahidro-1H,3H-espiro[benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepina-2,1'-ciclopropan]-8-il)oxi)pentil)oxi)-14-oxo-6,6a,7,12-tetrahidrobenzo[5,6][1,4]diazepino[1,2-b]isoquinolina-5(14H)-carboxilato de 4-((21S,24S)-1-((1R,8S,9s)-biciclo[6.1.0]non-4-in-9-il)-21-isopropil-24-metil-3,19,22-trioxo-2,7,10,13,16-pentaoxa-4,20,23-triazapentacosan-25-amido)bencilo (**2-2**)

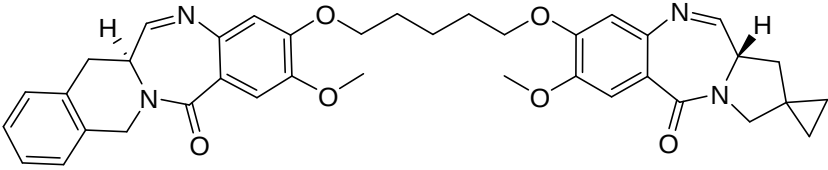
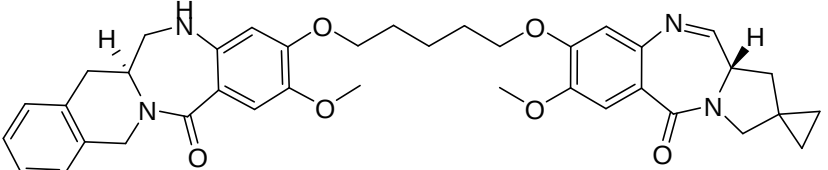
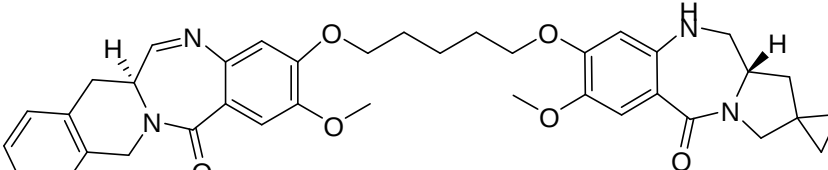
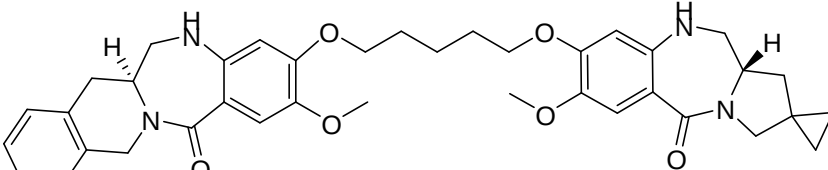
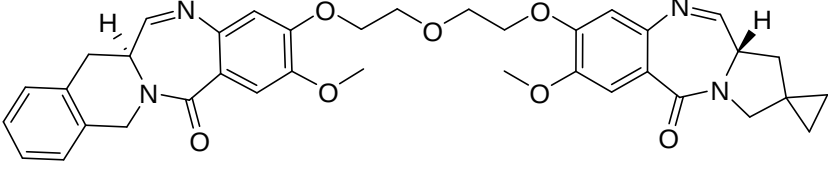
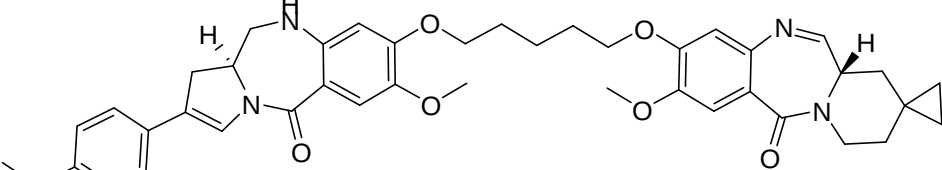
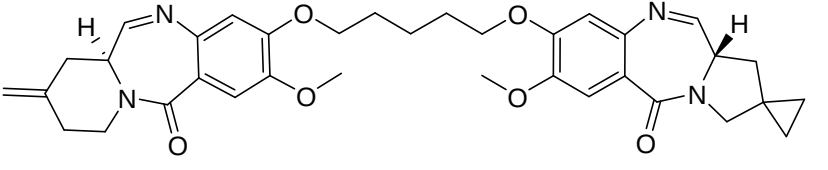
[0558] Se añadió DIPEA (10,9 µL, 0,063 mmol) a una solución de **2-2p** (19,3 mg, 0,016 mmol) y **2-1m** (13,6 mg, 0,047 mmol) en DMF (1 mL). La mezcla se agitó a r.t. durante 20 min. La mezcla se purificó mediante HPLC preparativa (FA al 0,1% en H₂O) para dar el producto **2-2** (9,8 mg, rendimiento del 44 %) como un sólido blanco. MS (ESI) m/z: 1412,4 [M+H]⁺.

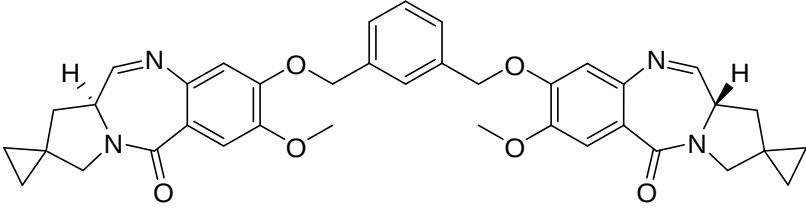
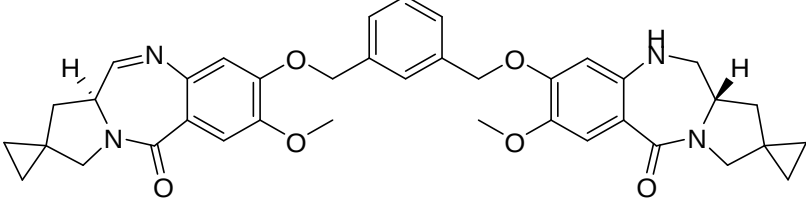
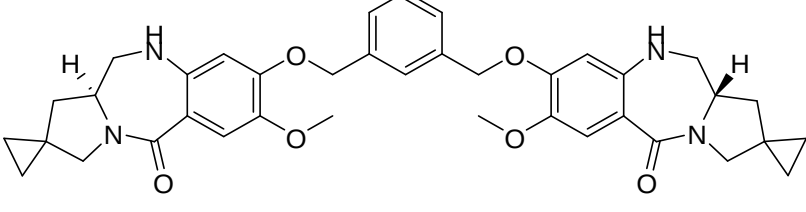
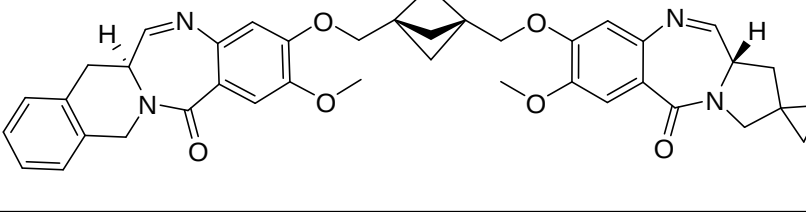
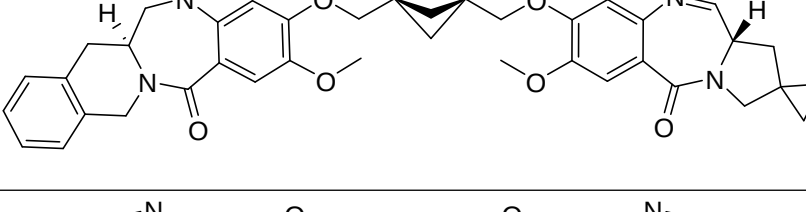
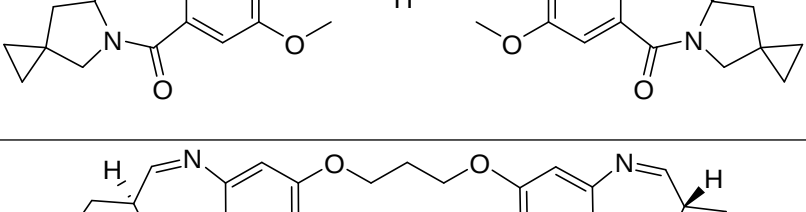
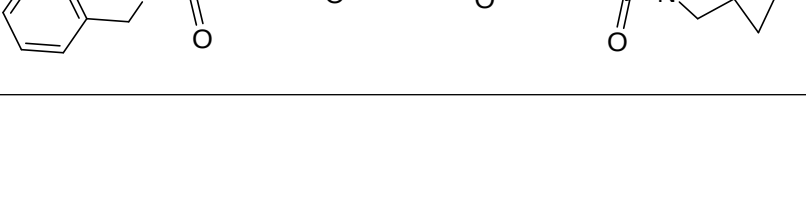
[0559] Después de la escisión del enlazador, la carga útil liberada del enlazador-carga útil 2-2 sufre una reacción de deshidratación y forma el compuesto del Ejemplo 1-3.

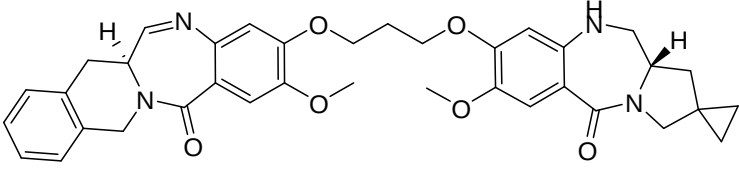
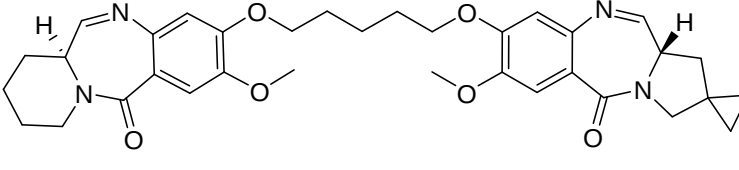
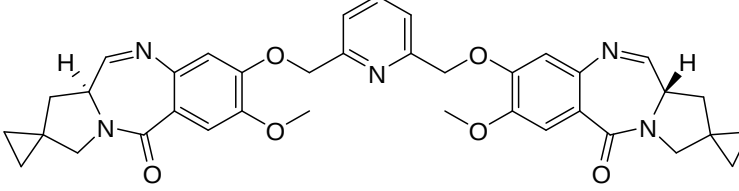
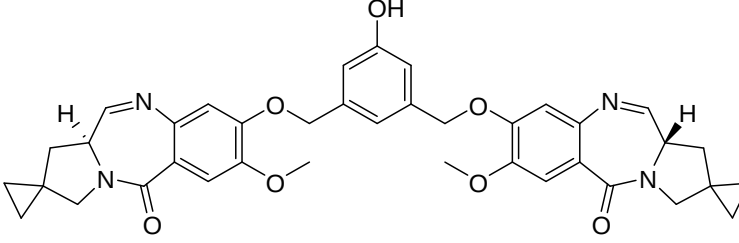
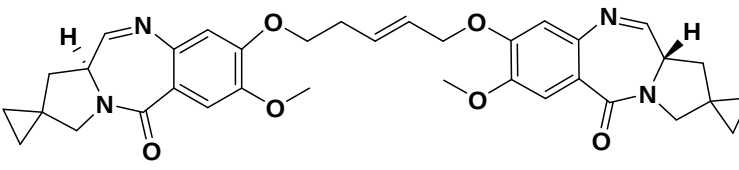
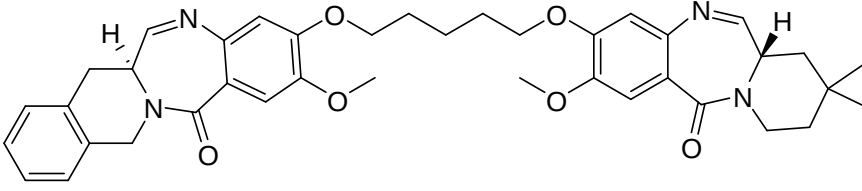
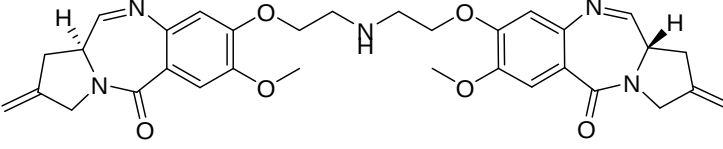
[0560] Los compuestos aquí descritos también pueden sintetizarse basándose en los métodos sintéticos proporcionados en la presente en combinación con el conocimiento común en la técnica.

Tabla 1: Estructuras de carga activa

| N.º ejemplo | Estructura de carga activa |
|-------------|----------------------------|
| Ref-1-1 | |

| N.º
ejemplo | Estructura de carga activa |
|----------------|--|
| 1-1 |  |
| 1-2 |  |
| 1-3 |  |
| 1-4 |  |
| 1-5 |  |
| 1-6 |  |
| 1-7 |  |

| N.º
ejemplo | Estructura de carga activa |
|----------------|--|
| 1-8 |  |
| 1-9 |  |
| 1-10 |  |
| 1-11 |  |
| 1-12 |  |
| 1-13 |  |
| 1-14 |  |

| N.º
ejemplo | Estructura de carga activa |
|----------------|--|
| 1-15 |  |
| 1-16 |  |
| 1-17 |  |
| 1-18 |  |
| 1-19 |  |
| 1-20 |  |
| 1-21 |  |

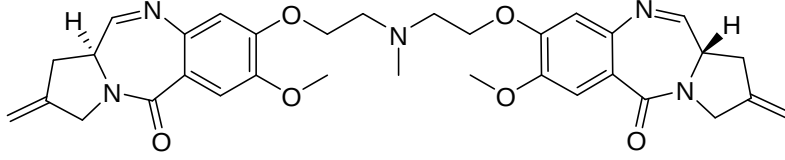
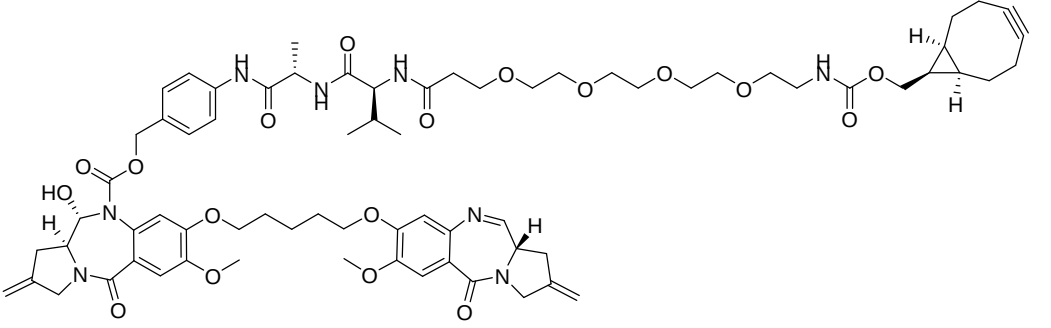
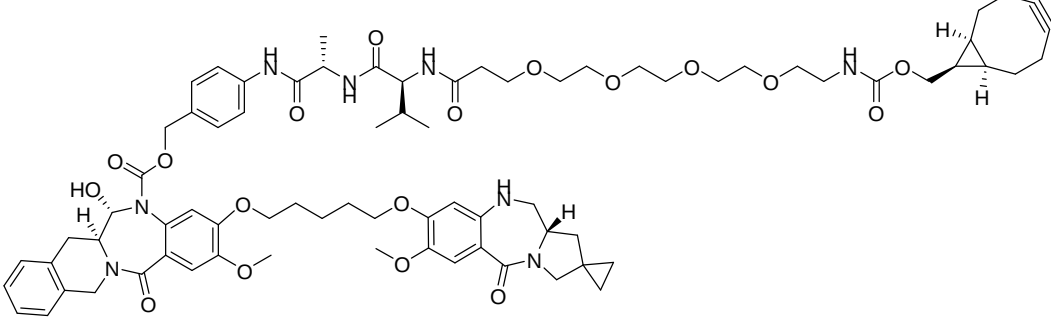
| N.º
ejemplo | Estructura de carga activa |
|----------------|--|
| 1-22 |  |

Tabla 2: Estructuras de enlazador-carga activa

| N.º
ejemplo | Estructura de enlazador-carga activa |
|----------------|--|
| 2-1 |  |
| 2-2 |  |

Preparación y caracterización de ADC

[0561] **Preparación de conjugado de anticuerpo y fármaco DAR2** El anticuerpo anti-

- 5 CD74 mAb1 en amortiguador de reacción (con concentración de 0,5-25 mg/mL, amortiguador Tris-HCl 50 mM pH 7,0-8,5) se incubó con 1/2000-1/500 p/p (relación en peso EndoS2/mAb) de endoS2 a temperatura de reacción (0-40 °C) durante 1-24 h. 2-40 eq. Se agregaron UDP-GalNAz (20 mM) y 0,1 p/p%-10 p/p% (relación en peso GalT/mAb) de β1,4-GalT a la mezcla de reacción y se incubaron en un amortiguador de reacción (amortiguador
- 10 Tris-HCl 50 mM pH 7,0-8,5, MnCl₂ 20 mM) durante 8-24 horas a temperatura de reacción (0-

40 °C). La mezcla de reacción se purificó con resina de proteína A para obtener el mAb1-GalNAz.

[0562] Se agregaron paso a paso el disolvente orgánico (por ejemplo, DMSO, DMF, DMA, PG, acetonitrilo, 0-25 % v/v) y la solución de enlazador-carga activa (10-25 eq, 10 mM de solución madre en disolvente orgánico) en amortiguador de reacción (amortiguador PBS pH 7,0-8,5) con mAb1-GalNAz (1-20 mg/mL) a 0-25 °C durante 0,5-24 h. La solución se sometió a intercambio de amortiguador (columna de desalinización por rotación, ultrafiltración y diálisis) en amortiguador de almacenamiento (por ejemplo, amortiguador de acetato de histidina con pH 5,5-6,5, con aditivos opcionales tales como sacarosa, trehalosa, tween 20, 60, 80).

[0563] **Caracterización del ADC.** Los ADC se caracterizaron mediante el uso de los siguientes métodos analíticos. La pureza SEC de todos los ADC son > 95% de pureza.

[0564] *Determinación de la relación de fármaco a anticuerpo (DAR) mediante métodos de LCMS o HIC*

Método LCMS: El análisis LC-MS se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones de medición:

Sistema LC-MS: Vanquish Flex UHPLC y espectrómetro de masas Orbitrap Exploris 240

Columna: MAbPac™ RP, 2,1*50 mm, 4 µm, 1500 Å, Thermo Scientific™

Temperatura de columna: 80 °C

Fase móvil A: solución acuosa de ácido fórmico (FA) al 0,1 %

Fase móvil B: solución de acetonitrilo que contiene ácido fórmico (FA) al 0,1 %

Programa de gradiente: 25 % de B-25 % de B (0 min-2 min), 25 % de B-50 % de B (2 min-18 min), 50 % de B-90 % de B (18 min-18,1 min), 90 % de B-90 % de B (18,1 min-20 min), 90 % de B-25 % de B (20 min-20,1 min), 25 % de B-25 % de B (20,1 min-25 min)

Cantidad de muestra inyectada: 1 µg

Parámetros de MS: los datos de MS intactos y desnaturizantes se adquirieron en modo HMR con una configuración de R = 15k y se desconvolucionaron mediante el uso del algoritmo ReSpect™ y la integración de ventana deslizante en el software Thermo Scientific™ BioPharma Finder™ 4.0.

Métodos HIC: El análisis HPLC se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones de medición:

Sistema de HPLC: Sistema de HPLC Waters ACQUITY ARC

Detector: longitud de onda de medición: 280 nm

Columna: Tosoh Bioscience 4,6 μm ID $\times$ 3,5 cm, columna de resina butílica no porosa de 2,5 μm

Temperatura de columna: 25 °C

Fase móvil A: sulfato de amonio 1,5 M, amortiguador de fosfato 50 mM, pH 7,0

5 Fase móvil B: amortiguador fosfato 50 mM, isopropanol al 25 % (V/V), pH 7,0

Programa de gradiente: 0 % de B-0 % de B (0 min-2 min), 0 % de B-100 % de B (2 min-15 min), 100 % de B-100 % de B (15 min-16 min), 100 % de B-0 % de B (16 min-17 min), 0 % de B-0 % de B (17 min-20 min)

Cantidad de muestra inyectada: 20 μg

10 [0565] *Método SEC para determinar la pureza del ADC*

[0566] Se llevó a cabo un análisis de HPLC con las condiciones de medición siguientes:

Sistema de HPLC: Sistema Waters H-Class UPLC

Detector: longitud de onda de medición: 280 nm

Columna: ACQUITY UPLC BEH200 SEC 1,7 μm 4,6 $\times$ 150mm, Waters

15 Temperatura de columna: temperatura ambiente

Fase móvil A: 200 mM de amortiguador de fosfato, 250 mM de cloruro de potasio, alcohol isopropílico al 15 %, PH 7,0

Programa de gradiente: eluciones isocráticas de menos de 10 minutos con una velocidad de flujo de 0,3 mL/min

20 Cantidad de muestra inyectada: 20 μg

[0567] *Evaluación de hidrofobicidad de ADC mediante método HIC*: Un ADC con una propiedad más hidrofóbica aparece con un tiempo de retención posterior en la cromatografía HIC (columna de interacción de hidrofobicidad). Se utilizó el pico DAR2 como referencia.

[0568] Se llevó a cabo un análisis de HPLC con las condiciones de medición siguientes:

25 *Método 1*

Systema HPLC: Sistema de HPLC ACQUITY ARC de Waters

Detector: longitud de onda de medición: 280 nm

Columna: Tosoh Bioscience 4,6 μm ID $\times$ 3,5 cm, columna de resina butílica no porosa de 2,5 μm

30 Temperatura de columna: 25 °C

Fase móvil A: sulfato de amonio 1,5 M, amortiguador de fosfato 50 mM, pH 7,0

Fase móvil B: amortiguador fosfato 50 mM, isopropanol al 25 % (V/V), pH 7,0

Programa de gradiente: 0 % de B-0 % de B (0 min-2 min), 0 % de B-100 % de B (2 min-15 min), 100 % de B-100 % de B (15 min-16 min), 100 % de B-0 % de B (16 min-17 min), 0 % de B-0 % de B (17 min-20 min)

Cantidad de muestra inyectada: 20 µg

5 Método 2

Systema HPLC: Sistema de HPLC ACQUITY ARC de Waters

Detector: longitud de onda de medición: 280 nm

Columna: MABPac HIC-10, 5 µm, 4,6×10 mm (Thermo)

Temperatura de columna: 25 °C

10 Fase móvil A: sulfato de amonio 1,5 M, fosfato de sodio 50 mM, pH 7,0

Fase móvil B: fosfato de sodio 50 mM, pH 7,0

Programa de gradiente: 20 % B- 20 % B (0 min-1 min), 0 % B-0 % B (1 min-35 min), 20 % B-20 % B (35 min-40 min)

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

15 Preparación de la muestra: La muestra se diluyó con fase móvil inicial a 0,5 mg/mL.

Tabla 3: Estructuras ADC

| N.º ADC | Anticuerpo (mAb) | Estructura de ADC |
|---------|---------------------------|-------------------|
| ADC3-1 | Anticuerpo anti-CD74 mAb1 | |
| ADC3-2 | Anticuerpo anti-CD74 mAb1 | |

Anticuerpo anti-CD74 mAb1

[0569] Secuencia de cadena ligera (SEQ ID NO: 1)

[0570] DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGIGSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAADR
LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYHTYPLTFGGGKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
5 SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0571] Secuencia de cadena pesada (SEQ ID NO: 2)

[0572] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFNFSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVI
WYDGSISYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGTVEHGAVYGT
DVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
10 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

15 **Líneas celulares**

[0573] A375 (ATCC, CRL-1619) A-375 es una línea celular que exhibe morfología epitelial que se aisló de la piel de una paciente femenina de 54 años con melanoma maligno, y A375 se adquirió de ATCC. El medio base para A375 es DMEM, alta glucosa, suplemento GlutaMAX™ (Gibco, 10566024). Para elaborar el medio de cultivo completo, se agregó
20 suero fetal bovino al medio base a una concentración final del 10 % (Gibco, 10099-141C). La línea celular se cultivó en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% a 37 °C y se analizó periódicamente para detectar la presencia de micoplasma con el kit de detección de micoplasma MycoAlert™PLUS (Lonza, LT07-710).

[0574] Calu-6 (ATCC, HTB-56) Calu-6 es una línea celular que exhibe morfología epitelial
25 que se aisló de paciente femenino blanco con carcinoma anaplásico, y Calu-6 se adquirió de ATCC. El medio base para Calu-6 es el medio esencial mínimo de Eagle (ATCC, 30-2003). Para elaborar el medio de cultivo completo, se agregó suero fetal bovino al medio base a una concentración final del 10 % (Gibco, 10099-141C). La línea celular se cultivó en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% a 37 °C y se analizó periódicamente para detectar
30 la presencia de micoplasma con el kit de detección de micoplasma MycoAlert™PLUS (Lonza, LT07-710).

Destrucción celular de compuestos en líneas cancerosas A375 y Calu-6

[0575] Destrucción directa de carga activa con compuestos 1-1 a 1-22 se evaluó en las líneas celulares de cáncer A375 y Calu-6. Las células se sembraron a 1E3/pocillo (A375) 2E3/pocillo (Calu-6) en placas de 96 pocillos (Greiner: 655090), a 100 µl/pocillo y se incubaron a 37 °C, CO₂ al 5 %, durante la noche. Se agregó medio de cultivo nuevo que contenía diversas concentraciones de compuestos, 50 µl/pocillo, y se incubaron a 37 °C, CO₂ al 5 %, durante 6 días. La viabilidad celular se detectó mediante Cell Titer-Glo (Promega, G7573) 70 µl/pocillo. Las placas se dejaron incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos para estabilizar la señal luminiscente. Las placas se analizaron con un lector de microplacas.

10 [0576] Los datos de muerte celular de los compuestos 1-1 a 1-5 se presentan en las Figuras 1 y 2 y en la siguiente tabla:

| Núm. de compuesto | A375 | | Calu-6 | |
|-------------------|----------|-----------|----------|-----------|
| | Emáx (%) | EC50 (nM) | Emáx (%) | EC50 (nM) |
| Ref-1-1 | 99,8 | 0,009 | 99,5 | 0,004 |
| 1-1 | 99,8 | 0,005 | 99,5 | 0,002 |
| 1-2 | 98,0 | 0,118 | 97,6 | 0,052 |
| 1-3 | 99,9 | 0,002 | 99,3 | 0,001 |
| 1-4 | 90,6 | 0,140 | 94,9 | 0,077 |
| 1-5 | 39,2 | > 1nM | 90,8 | 0,165 |

[0577] Los datos de muerte celular de los compuestos 1-6 a 1-10 se presentan en las Figuras 3 y 4 y en la siguiente tabla:

| Núm. de | A375 | Calu-6 |
|---------|------|--------|
|---------|------|--------|

| compuesto | Emáx (%) | EC50 (nM) | Emáx (%) | EC50 (nM) |
|-----------|----------|-----------|----------|-----------|
| Ref-1-1 | 99,8 | 0,009 | 99,5 | 0,004 |
| 1-6 | 97,5 | 0,067 | 97,6 | 0,033 |
| 1-7 | 89,0 | 0,102 | 97,7 | 0,017 |
| 1-8 | 99,2 | 0,029 | 98,4 | 0,005 |
| 1-9 | 99,9 | 0,010 | 99,7 | 0,002 |
| 1-10 | 42,0 | > 1nM | 84,7 | 0,358 |

[0578] Los datos de muerte celular de los compuestos 1-11 a 1-13 se presentan en las Figuras 5 y 6 y en la siguiente tabla:

| Núm. de compuesto | A375 | | Calu-6 | |
|-------------------|----------|-----------|----------|-----------|
| | Emáx (%) | EC50 (nM) | Emáx (%) | EC50 (nM) |
| Ref-1-1 | 99,8 | 0,009 | 99,5 | 0,004 |
| 1-11 | 99,9 | 6,112 | 99,4 | 0,340 |
| 1-12 | 97,5 | 297,253 | 99,4 | 107,930 |
| 1-13 | 100,0 | 9,115 | 99,7 | 1,622 |

[0579] Los datos de muerte celular de los compuestos 1-14, 1-15, 1-17 y 1-20 se presentan en las Figuras 7 y 8 y en la siguiente tabla:

| Núm.
compuesto | de | A375 | | Calu-6 | |
|-------------------|----|----------|-----------|----------|-----------|
| | | Emáx (%) | EC50 (nM) | Emáx (%) | EC50 (nM) |
| Ref-1-1 | | 99,9 | 0,016 | 99,8 | 0,006 |
| 1-14 | | 98,9 | 0,033 | 99,2 | 0,010 |
| 1-15 | | 99,5 | 0,134 | 99,667 | 0,045 |
| 1-17 | | 99,9 | 0,017 | 99,7 | 0,005 |
| 1-20 | | 95,9 | 0,064 | 98,3 | 0,016 |

[0580] Los datos de muerte celular de los compuestos 1-16 y 1-19 se presentan en las Figuras 9 y 10 y en la siguiente tabla:

| Núm.
compuesto | de | A375 | | Calu-6 | |
|-------------------|----|----------|-----------|----------|-----------|
| | | Emáx (%) | EC50 (nM) | Emáx (%) | EC50 (nM) |
| Ref-1-1 | | 99,9 | 0,009 | 99,3 | 0,002 |
| 1-16 | | 89,6 | 0,146 | 92,3 | 0,038 |
| 1-19 | | 88,7 | 0,165 | 90,570 | 0,052 |

[0581] Los datos de muerte celular del compuesto 1-18 se presentan en las Figuras 11 y 12 y en la siguiente tabla:

| Núm.
compuesto | de | A375 | | Calu-6 | |
|-------------------|----|----------|-----------|----------|-----------|
| | | Emáx (%) | EC50 (nM) | Emáx (%) | EC50 (nM) |
| | | | | | |

| | | | | |
|---------|------|-------|------|-------|
| Ref-1-1 | 99,6 | 0,019 | 99,3 | 0,002 |
| 1-18 | 80,3 | 0,398 | 89,8 | 0,126 |

[0582] Los datos de muerte celular de los compuestos 1-21 y 1-22 se presentan en las Figuras 13 y 14 y en la siguiente tabla:

| Núm. de compuesto | A375 | | Calu-6 | |
|-------------------|----------|-----------|----------|-----------|
| | Emáx (%) | EC50 (nM) | Emáx (%) | EC50 (nM) |
| Ref-1-1 | 99,9 | 0,014 | 93,1 | 0,008 |
| 1-21 | 97,8 | 4,200 | 99,3 | 1,200 |
| 1-22 | 97,3 | 5,500 | 99,200 | 1,300 |

[0583] Si bien la descripción que antecede se presentó con determinados detalles a modo de ejemplo e ilustración para una mayor comprensión, los expertos en la técnica entenderán que pueden realizarse determinados cambios y modificaciones menores. Por lo tanto, la descripción que antecede no deben interpretarse como taxativa.

[0584] Debe entenderse que, si en la presente se hace referencia a cualquier publicación del estado de la técnica, dicha referencia no constituye una admisión de que la publicación forma parte del conocimiento general común en la técnica en cualquier país.

[0585] Se incorporan a la presente mediante esta referencia en su totalidad las descripciones de todas las publicaciones que no son patentes, patentes, solicitudes de patente y solicitudes de patente publicadas a las que se hace referencia en la presente a través de una cita que las identifica.